



**ASSOCIATION
DES ANCIENS ÉLÈVES
DE L'INSTITUT PASTEUR**

2003 - 45^{ème} année - 3^{ème} Trim. - N° 176

SOMMAIRE

LE MOT DU PRESIDENT	p. 54	HISTOIRE DES SCIENCES	
TOXI-INFECTIONS PAR L'EAU ET LES ALIMENTS		1 LES BREVETS DE LOUIS PASTEUR SUR LES FERMENTATIONS	p. 77
1 INFECTIONS D'ORIGINE		<i>Jean-Paul SALEUN</i>	
<i>Philippe BOUVET</i>	p. 55	1 NOUVELLES DE L'INSTITUT PASTEUR	
1 SURVEILLANCE DE LA LISTERIOSE EN FRANCE	p. 60	• ENSEIGNEMENT : Résultat des cours	p. 80
<i>Paul MARTIN, Christine JACQUET et Véronique GOULET</i>		• RECHERCHE	p. 88
1 BIFIDOBACTERIES, MARQUEURS SENSIBLES ET SPECIFIQUES DE LA CONTAMINATION FÉCALE BACTÉRIENNE	p. 68	• SANTÉ PUBLIQUE	p. 89
<i>Henri BEERENS</i>		INFORMATIONS	
INTOXICATIONS APRES INGESTION DE POISSONS		LIVRES	
1 LA CIGUATERA : de l'origine des intoxications aux méthodes de détection préventive	p. 76	1 Nos lectures	p. 97
<i>Serge PAUILLAC, Taiana DARIUS et Mireille CHINAIN</i>		1 Parutions récentes	p. 97
		VIE DE L'ASSOCIATION	
		1 Rencontre régionale à Angers	p. 99
		1 Voyage en Pologne	p. 99
		<i>François et Jacqueline POTY</i>	
		CONSEIL D'ADMINISTRATION BIENFAITEURS ET SECRETARIAT	p. 105

COTISATION ET ABONNEMENT :

Cotisation annuelle (2003)	25,00 euros
Abonnement (2003) au tarif préférentiel pour les membres de l'Association*	38,00 euros
Abonnement d'un an : 2003 (4 numéros) pour les non membres	49,00 euros
Prix du numéro	13,00 euros

* tarifs dégressifs pour les couples adhérents, les retraités et les étudiants.

Bulletin publié par **L'ASSOCIATION DES ANCIENS ELEVES DE L'INSTITUT PASTEUR**

Directeur de la Publication : Docteur Michel DUBOS

La revue comprend ... pages avec les publicités

ISSN 0183-8849 - Inscription à la Commission paritaire N° 61684 - Dépôt légal 2^{ème} trimestre 2003

Conception-Edition : **OPAS** RCS Paris B 333 953 123
41, rue Saint-Sébastien - 75011 PARIS - Tél. 01 49 29 11 20
Editeur Conseil : J.P. **KALFON** - Impression en CEE.



LE MOT DU PRÉSIDENT

La 17^{ème} **Journée scientifique régionale de l'AAEIP** qui s'est tenue à Angers le 27 juin dernier s'est déroulée avec succès grâce au dynamisme du Professeur Françoise LUNEL-FABIANI, du CHU d'Angers, et de collègues de la région. Les organisateurs ont su proposer un programme scientifique très riche et *a priori* fortement mobilisateur, complété par un programme touristique et culturel capable de satisfaire les plus exigeants.

Néanmoins, la participation du corps médical d'Angers et des Pays de la Loire aurait gagné à mieux récompenser les efforts déployés et ceci me conduit à rappeler l'esprit, la finalité et l'enjeu de ces manifestations.

C'est sur la suggestion du Professeur Jacques MONOD, alors Directeur général de l'Institut Pasteur, que l'AAEIP s'attache à promouvoir des réunions scientifiques régionales dont l'organisation est entièrement confiée au groupe des Anciens élèves et stagiaires de la région concernée avec le soutien logistique de notre Association.

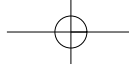
Ces rencontres sont largement ouvertes aux biologistes et praticiens, tant hospitalo-universitaires que libéraux, pastoriens ou non. Il s'agit le plus souvent d'une demi-journée consacrée à des conférences, éventuellement assortie d'un programme culturel et touristique pour les participants et les accompagnants. Il revient aux organisateurs de décider des modalités pratiques, de la date, du choix des sujets et donc de s'assurer du concours des conférenciers, les uns parmi les spécialistes locaux, les autres appelés d'horizons divers et notamment de l'Institut Pasteur. Sur ce dernier point, l'AAEIP peut orienter le choix des organisateurs et assurer les contacts préliminaires. Par cette démarche, notre Association s'emploie à renforcer les liens entre tous ses membres, tout en contribuant à la diffusion de l'état des recherches conduites à l'Institut Pasteur.

Ces journées scientifiques régionales représentent donc l'occasion pour un groupe d'anciens élèves, de se mobiliser autour d'un projet commun et de nouer (voire renouer) des contacts professionnels ou personnels ; mais elles représentent aussi l'occasion d'afficher la vitalité, la force et la notoriété de notre Association.

Certains collègues demeurant hors de France ont manifesté leur intérêt pour de telles rencontres et nous adressons nos plus vifs encouragements à l'Ancien élève résidant en Italie qui nous écrivait il y a quelques mois « *depuis longtemps, je caresse l'idée de travailler à un événement pasteurien dans ma ville* ».

Il incombe à chacun d'entre nous la responsabilité de confirmer, par le succès de ces manifestations, son attachement aux liens qui nous unissent et au rayonnement de l'Ecole pastorienne.

Docteur Michel DUBOS



INFECTIONS D'ORIGINE ALIMENTAIRE

Philippe BOUVET¹
Institut Pasteur, Paris

Par son approche rigoureuse et d'une remarquable clarté, Philippe BOUVET fait le point sur un sujet très actuel et très préoccupant : la recrudescence des infections d'origine alimentaire. Sa contribution, non seulement rappelle les données fondamentales bactériologiques et cliniques, mais aussi met en lumière les aspects socio-économiques du problème et propose des pistes de réflexion et des moyens très concrets pour le développement de méthodes de prévention.

RÉSUMÉ

Les infections d'origine alimentaire représentent un coût social et économique des infections d'origine alimentaire est considérable dans les pays industrialisés. Malgré l'amélioration des conditions d'hygiène et l'existence de circuits d'alimentation en eau potable sûrs, de nombreux pays développés ont subi, durant les deux dernières décennies, une augmentation des infections d'origine alimentaire. Cette augmentation est liée aux changements profonds intervenus dans le mode de vie des populations ainsi qu'à l'augmentation de la population « susceptible ». Dans cet article, nous ferons le point sur les pathogènes « classiques » (*Salmonella*, *Staphylococcus aureus*...) et sur d'autres pathogènes ayant émergé depuis une vingtaine d'années (*Campylobacter*, *Yersinia*, *Listeria*, *E. coli* producteurs de shiga-toxins) en rappelant les caractéristiques bactériologiques, épidémiologiques et la pathogénicité de ces bactéries. Pour ces différents agents, les données récentes d'incidence en France et aux Etats-Unis seront présentées.

I. INTRODUCTION

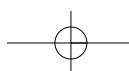
Le terme d'infection d'origine alimentaire a progressivement supplanté celui de toxi-infection alimentaire (TIA), classiquement limité aux gastro-entérites. En effet, nos connaissances épidémiologiques ont considérablement évolué sur le sujet depuis une quinzaine d'années et des maladies dont le mode de transmission était peu clair ou incertain sont considérées comme principalement d'origine alimentaire. Certains de ces pathogènes qui posent problèmes actuellement (*Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*) n'étaient pas reconnus comme étant la cause d'infections d'origine alimentaire il y a seulement une vingtaine d'années. Dans les pays à faible niveau d'hygiène, l'apparition de diarrhées bactériennes est favorisée par l'absence d'équipements collectifs nécessaires à l'élimination des eaux usées et à la distribution d'eau potable, mais l'échange de germes entériques résulte surtout de contacts inter-humains directs et d'une pollution fréquente de l'eau de boisson [11].

Dans les pays à faible niveau d'hygiène, l'apparition de diarrhées bactériennes est favorisée par l'absence d'équipements collectifs nécessaires à l'élimination des eaux usées et à la distribution d'eaux potable, mais l'échange de germes entériques résulte surtout de contacts interhumains directs et d'une pollution fréquente de l'eau de boisson [11].

Au niveau mondial, l'Organisation mondiale de la Santé estime qu'à travers le monde, plusieurs centaines de millions de personnes souffrent d'infections provoquées par des aliments contaminés². **Les pays en voie de développement** sont confrontés à un grand nombre d'infections incluant choléra, campylobactériose, salmonellose, shigellose, brucellose, infections à *Escherichia coli*, hépatite A. L'incidence annuelle de près de 1,5 milliards d'épisodes de diarrhées chez des enfants de moins de 5 ans aboutissant au décès pour 3 millions d'entre eux montre bien l'échelle du problème puisque une proportion significative des cas de maladies diarrhéiques sont d'origine alimentaire. Paradoxalement, malgré l'amélioration des conditions d'hygiène et l'existence de circuits d'alimentation en eau potable sûrs, de **nombreux pays développés** ont subi, durant les deux dernières décennies, une augmentation des infections d'origine alimentaire. Cette recrudescence en France et en Europe est due aux changements intervenus dans le mode de vie des populations dans les pays industrialisés depuis une vingtaine d'années : modification des habitudes alimentaires, développement de la restauration collective (5 à 6 milliards de repas servis annuellement en France), mode de production (élevages intensifs), élargissement des circuits de production et de distribution, enfin modes de préparation, de conditionnement et de stockage des denrées alimentaires. Ces changements, accompagnés d'exigences nouvelles de la qualité des produits, de l'hy-

¹ Cours IP 1981 ; chef d'unité Bactériologie bovine et sécurité sanitaire des viandes, AFSSA-Lyon. Adresse actuelle : AFSSA - Site de Lyon, Unité Bactériologie bovine et sécurité sanitaire des viandes, 31 av. Tony Garnier, F69364 Lyon cedex 07- France. Tel : +33 (0)4 78 72 65 43 ; Fax : +33 (0)4 78 61 91 45 ; E-mail : p.bouvet@lyon.afssa.fr

² [Press release WHO/58 ; <http://www.who.int/archives/inf-pr-1997/en/pr97-58.html>]





giène de leur environnement et de la sécurité du consommateur, sont à l'origine du développement de la bactériologie alimentaire. Les progrès médicaux qui allongent la vie et permettent la survie de personnes au système immunitaire déficient contribuent également à augmenter l'incidence des infections d'origine alimentaire.

En Angleterre, les infections intestinales sont communes avec 9,4 millions de cas estimés chaque année [16]. Les estimations faites aux Etats-Unis d'Amérique par les « Centers for Disease Control and Prevention » indiquent que les infections d'origine alimentaire provoquent annuellement approximativement 76 millions de malades, 325.000 hospitalisations et 5.000 décès [14]. Nous nous limiterons ici aux infections d'origine bactérienne.

Dans le texte ci-dessous, pour chaque agent pathogène, dans le paragraphe consacré à l'épidémiologie, seront donnés les estimations récemment publiées sur les nombres de cas aux Etats-Unis [14]. Comme peu de systèmes de surveillance fournissent des données exhaustives, ces estimations permettent de mieux appréhender l'impact des infections d'origine alimentaire en santé publique dans un pays industrialisé.

II. PRINCIPAUX AGENTS RESPONSABLES DE TIA

Les agents responsables de TIA sont des bactéries dont l'activité pathogène est due soit à une action invasive (inflammation ou ulcération de la muqueuse digestive), soit à une action cytotoxique (production d'une toxine protéique entraînant une destruction cellulaire), soit à une action entérotoxino-gène entraînant une stimulation de la sécrétion.

a. BACTÉRIES AYANT UNE ACTIVITÉ INVASIVE

Salmonella

Les infections à *Salmonella* non typhiques représentent la cause la plus fréquente de diarrhée aiguë bactérienne d'origine alimentaire. Elles peuvent donner lieu à des foyers très importants, atteignant parfois une échelle nationale, voire internationale lorsqu'un aliment commercialisé à large échelle se trouve contaminé. A titre indicatif en 2001, parmi les 272 foyers de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) déclarés aux Directions départementales des affaires sanitaires et sociales (DDASS) et aux Directions des services vétérinaires (DSV) pour lesquels l'agent responsable avait pu être identifié, 174 foyers (64 %) sur étaient dus à des *Salmonella* dont 90 foyers pour le sérovar Enteritidis (52 % des foyers dus aux *Salmonella*) et 30 foyers pour le sérovar Typhimurium (17 %) (Tableau 1) [7].

La bactérie

Le genre *Salmonella* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* (« Entérobactéries»). Ce sont des bacilles à Gram négatif, souvent mobiles grâce à une ciliature péritriche ou immobiles, cultivant sur les milieux ordinaires, aéro-anaérobies facultatifs. Deux espèces sont reconnues : *Salmonella enterica*, la plus fréquente comportant six sous-espèces (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica*) et *Salmonella bongori*, plus rare. Plus de 2.500 sérovares sont actuellement reconnus en se basant sur la diversité des antigènes somatiques, flagellaires et d'enveloppe. Les salmonelles peuvent résister au cycle d'épuration des eaux usées. Elles sont détruites par un chauffage de 10-15 minutes à 65°C.

• **Tableau I. : Nombre de foyers annuels de TIAC déclarés aux DDASS et DSV pour lesquels l'agent responsable a été identifié (France 1997 – 2001).** Le nombre de foyers avec une bactérie identifiée est donné en caractères gras et le pourcentage de ces foyers par rapport au nombre total de foyers avec agents confirmés est mis entre parenthèses et en italiques.

Agent causal	1997	1998	1999 & 2000	2001
<i>Salmonella</i>	201 (75,6)	367 (71,2)	338 (63,8)	174 (64,0)
dont Enteritidis	118 (58,7)	142 (53,2)	200 (59,2)	90 (51,7)
Typhimurium	41 (20,4)	45 (16,8)	51 (15,1)	30 (17,2)
<i>Clostridium perfringens</i>	13 (4,9)	18 (4,8)	27 (5,1)	8 (2,9)
<i>Staphylococcus aureus</i>	32 (12,0)	48 (12,8)	85 (16,0)	43 (15,8)
<i>Bacillus cereus</i>	1 (0,4)	7 (1,9)	15 (2,8)	8 (2,9)
Autres agents	19	35	79	39
Nbre total de foyers avec agents confirmés	266 (0,4)	375 (56,6)	530 (41,3)	272 (48,6)
TOTAL (agents confirmés + agents suspectés + agents inconnus)	478	662	1267	559



Le réservoir

Le réservoir naturel des *Salmonella* est très large et s'étend à tout le monde animal. Ce sont essentiellement des parasites intestinaux des animaux vertébrés. L'isolement des *Salmonella* dans l'eau ou dans l'environnement n'est que la marque d'une contamination fécale. Dans la plupart des cas, les *Salmonella* isolées des animaux à sang chaud (pour lesquelles elles sont fréquemment pathogènes), appartiennent à la sous-espèce *enterica*. Au contraire, il est fréquent de trouver des souches des sous-espèces *salamae* (II), *arizonae* et *diarizonae* (IIIa et IIIb) chez les animaux à sang froid. Elles semblent dans ce cas, non seulement dépourvues de pouvoir pathogène, mais encore faire partie de la flore intestinale normale. Certains sérovars strictement adaptés à l'homme (sérovars Typhi, Paratyphi A et C, Sendai, certaines souches de Paratyphi B) sont responsables de fièvre typhoïdique avec diffusion septicémique. D'autres sérovars paraissent spécifiquement adaptés à différentes espèces animales, mais quelques-uns d'entre eux peuvent être également pathogènes pour l'homme (sérovars Dublin, Choleraesuis). La majorité des sérovars n'ont pas de spécificité d'hôte et infectent aussi bien l'homme que l'animal. Ils constituent le réservoir des principaux agents de salmonelloses rencontrés aujourd'hui. Les *Salmonella* possèdent deux caractéristiques qui expliquent probablement leur très large distribution : (i) l'ubiquité des animaux susceptibles d'héberger ces bactéries (hommes, mammifères, oiseaux, reptiles, insectes...), (ii) et les capacités de survie des *Salmonella* dans l'environnement (survie de plus d'un an dans le sol).

Les symptômes

Tous les sérovars de *Salmonella* (du moins ceux de la sous-espèce *enterica*) peuvent déterminer chez le consommateur un syndrome de gastro-entérite fébrile si la teneur en cellules viables dans l'aliment ingéré est suffisamment élevée. La dose infectieuse est habituellement assez élevée (estimée à 10^5 à 10^8 chez des volontaires humains dans les années 1950). Cette dose peut être fortement diminuée chez des patients gastrectomisés ou prenant des médicaments inhibiteurs de l'acidité gastrique. De même la nature de la matrice alimentaire contenant les *Salmonella* joue un rôle très important sur la protection des bactéries vis-à-vis de l'acidité gastrique lors du passage de l'estomac. Ainsi les corps gras (chocolat par exemple) les protégeraient efficacement.

Les signes cliniques d'une salmonellose sont ceux d'une gastro-entérite fébrile avec diarrhée, vomissements, crampes abdominales. La sévérité de la maladie est fonction du sérovar de *Salmonella* en cause, du nombre de bactéries ingérées et de facteurs propres à chaque individu. Les personnes les plus susceptibles (personnes dites « à risques » : nourrissons, femmes enceintes, vieillards, malades immuno-déprimés ou présentant des affections sous-jacentes) peuvent présenter une symptomatologie plus sérieuse aboutissant quelquefois au décès. La durée médiane d'incubation d'une gastro-entérite est de 17 heures (minimum 10 heures, voire moins si l'aliment est

très fortement contaminé, maximum 24 heures) ; l'intervalle de temps entre l'apparition du premier cas et du dernier cas lors d'une TIAC est également d'environ 17 heures. Cette gastro-entérite dure de 3 à 5 jours en moyenne chez des adultes en condition physique normale. Après guérison clinique, un certain pourcentage de patients peut continuer à excréter des *Salmonella* dans les selles de façon intermittente et pour une courte durée (8 à 20 semaines selon l'âge). Un traitement antibiotique ne se justifie que chez les personnes « à risques » ou lorsque la fièvre est trop élevée.

Les aliments incriminés

La contamination de l'homme par les *Salmonella* n'est que le reflet d'une contamination en amont des matières premières d'origine animale. La contamination de l'homme se fait, en premier lieu, par la consommation d'aliments d'origine animale contaminés et consommés crus ou peu cuits (viandes, œufs ou lait) et, plus rarement, par la consommation de fruits frais ou de légumes crus contaminés par des fèces animales. La contamination secondaire, lors de la préparation d'un aliment par une personne infectée ou porteuse, est plus rare. Une contamination croisée par contact entre un aliment sain et un aliment contaminé peut également avoir lieu dans les étals de magasins, dans les chambres froides, etc. De simples mesures d'hygiène peuvent rendre impossible la multiplication d'un faible *inoculum* bactérien éventuellement présent dans les denrées.

Une attention particulière doit être portée à deux catégories d'aliments utilisés en restauration : les œufs et les viandes bovines hâchées/hachées.

a) Les œufs et préparations à base d'œufs

L'association entre l'augmentation des infections à *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar **Enteritidis** (ou sous forme abrégée *Salmonella* sérovar Enteritidis ou plus simplement *Salmonella* Enteritidis) et la consommation d'œufs ou de préparations alimentaires à base d'œufs crus ou insuffisamment cuits est très clairement démontrée [1]. De 1993 à 1997, ces aliments ont été responsables de 63% % des 1.015 foyers de TIAC déclarés aux DDASS et aux DSV et 53% % des 3.746 foyers signalés au Centre National de Référence (CNR) des *Salmonella*, respectivement. Contrairement aux autres *Salmonella* qui ne sont retrouvées qu'en contamination de surface de la coquille de l'œuf, *Salmonella* Enteritidis peut être isolée dans le contenu d'un œuf intact (transmission verticale par voie trans-ovarienne). Les poules atteintes d'infections des ovaires ou des oviductes par *Salmonella* Enteritidis (souvent sans signes cliniques) vont contaminer un faible pourcentage (0,6% %) des œufs pondus [10]. Dans cette étude, les œufs renfermaient de 10 (dans la grande majorité des cas, même après 7 jours de stockage à température ambiante) à plus de 10.000 *Salmonella* par œuf. Il faut noter que tous les œufs fortement contaminés (> 100 *Salmonella* par œuf) étaient conservés depuis plus de 2 semaines. Les autorités sanitaires recommandent de conserver les œufs/œufs au réfrigérateur et de les consommer dans un délai de 2 semaines. Les préparations à base d'œufs crus doivent être réalisées le plus près possible du moment de leur consommation et maintenues au froid.



Le Département américain de l'Agriculture a publié récemment les données suivantes : sur les 50 milliards d'œufs produits en une année aux Etats-Unis, 2,3 millions d'œufs étaient contaminés par *Salmonella* Enteritidis. Les infections humaines résultant de la consommation de ces œufs contaminés étaient estimées à 883.000 cas avec 94% % des infections n'ayant pas nécessité de traitement et avec 0,05% % de décès.

Tous les pays étant confrontés au problème de la contamination des œufs par *Salmonella* Enteritidis, différentes approches se font jour pour tenter d'éliminer cet agent indésirable de la filière ou d'en atténuer les conséquences pour le consommateur : vaccination des volailles, introduction chez les poussins de flore intestinale de volaille adulte jouant le rôle de flore de barrière, pasteurisation des œufs intacts.

b) La viande hâchéhachée

Plusieurs épidémies, survenues en 1998 et 1999 notamment, ont permis d'en rappeler les règles de préparation hâché[6]. Pour certains sérovars de *Salmonella* (Typhimurium tout particulièrement), la viande hâchéhachée de bœuf insuffisamment cuite est une source bien documentée d'infection. La contamination a lieu lors de l'abattage de l'animal à partir du contenu intestinal. Alors que la cuisson élimine facilement les *Salmonella* présentes à la surface d'une viande non hâchéhachée e contaminée, le hachage d'une viande contaminée redistribue les germes à l'intérieur de la matière première. Des erreurs dans les pratiques de préparation et de conservation (chaîne du froid ou du chaud) facilitent par ailleurs la prolifération du germe et seule une cuisson à cœur pourra éliminer tout risque.

Lorsqu'il s'agit de viande hâchéhachée congelée, il est important de rappeler que la préparation de ce type d'aliment nécessite le respect strict de procédures destinées à éviter des conditions favorisant la prolifération bactérienne au sein de l'aliment. En effet, l'impact de la décongélation sur la survie et la revivification de *Salmonella* Typhimurium dans la viande hâchéhachée de bœuf a été établie et ce type de produit doit faire l'objet d'une cuisson « à cœur » sans processus de décongélation préalable. Le plus souvent, afin de conserver les propriétés organoleptiques, ces procédures ne sont pas appliquées *stricto sensu*. Dans ces conditions, la qualité microbiologique de la matière première est essentielle, de même que le respect des règles en matière de restauration collective [6].

Epidémiologie

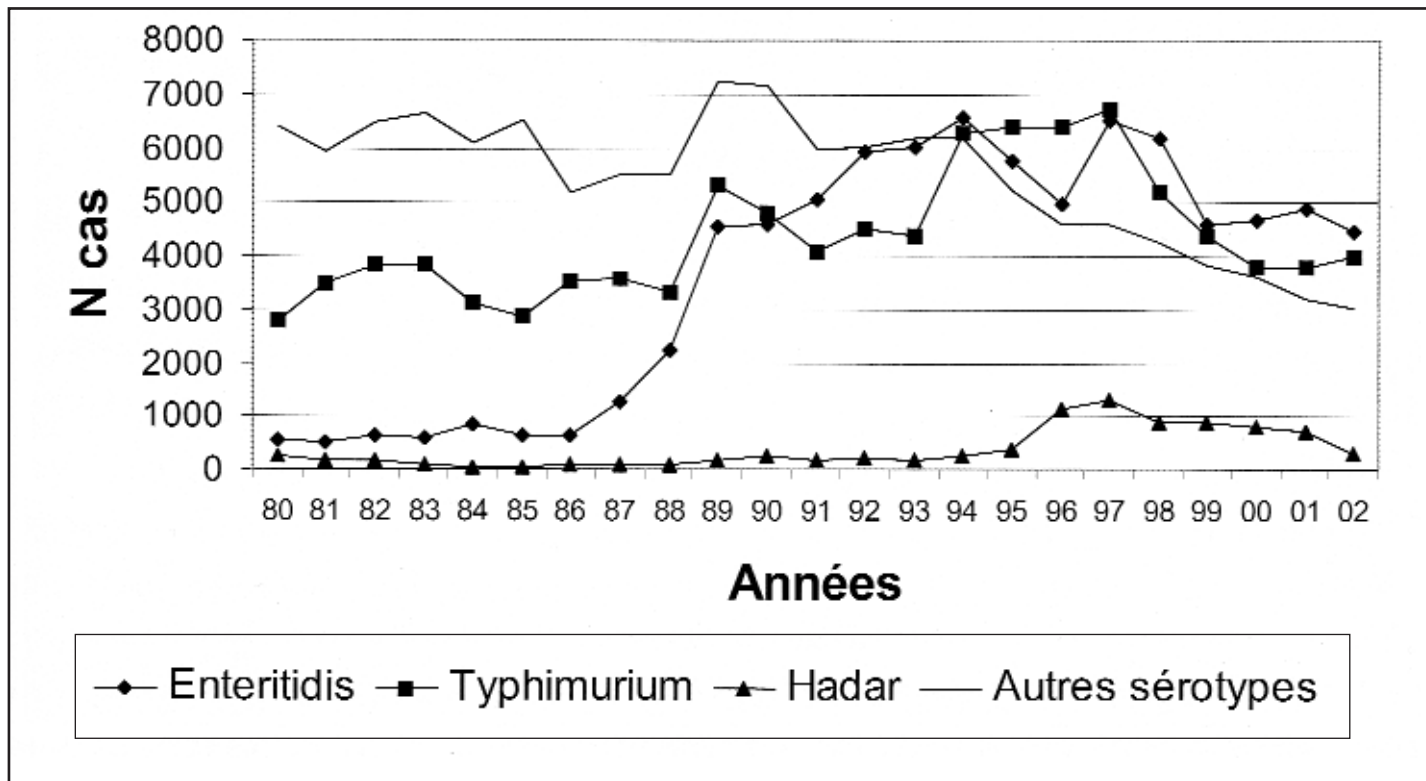
Le CNR des *Salmonella* participe à la surveillance des salmonelloses en France en sérotypant les souches de *Salmonella* isolées à partir de prélèvements cliniques (coproculture, hémoculture...) envoyées par les laboratoires d'analyses médicales collaborateurs et en collectant les informations sur les souches dont le sérovar a été déterminé. Ces envois au CNR sont effectués sur une base volontaire. La majeure partie des souches adressées au CNR-*Salmonella* concerne des cas isolés de salmonellose. Le nombre de cas de salmonelloses humaines signalés chaque année au CNR ne représente pas l'ensemble des infections à *Salmonella*. En effet, le CNR ne reçoit pas l'ensemble des souches isolées en France et, de plus, une recherche de *Salmonella* n'est pratiquée que dans une proportion faible d'infections. Les isolements de *Salmonella* chez l'homme présentent classiquement une variation saisonnière. Chaque année, une augmentation progressive des isolements est observée vers le mois de mai. Celle-ci est étroitement liée à l'augmentation de la température ambiante qui favorise la multiplication des *Salmonella* dans les aliments lorsque ceux-ci sont préparés et/ou conservés dans les cuisines dans des conditions inappropriées. Le nombre maximum d'isolements chez l'homme est observé au mois de septembre, toujours à cause d'une température élevée, mais également à la suite de voyages pendant les vacances d'été dans des pays où l'hygiène de l'eau et des aliments n'est pas assurée correctement.

Depuis 1988, et plus nettement 1989 (dates de début de l'épidémie à *Salmonella* Enteritidis), les nombres annuels de cas de salmonelloses humaines signalés au CNR étaient pratiquement toujours restés au dessus de 16.000. Deux années (1994 et 1997) avaient même vu les nombres de cas approcher de 20.000. Depuis 1999, les nombres annuels de souches de *Salmonella* d'origine humaine enregistrées au CNR (12.000-13.000), se rapprochent du nombre observé en 1988. Ces tendances sont retrouvées dans d'autres pays européens. En 2002, les 2 sérovars Typhimurium et Enteritidis représentaient 71,8 % des isolements chez l'homme enregistrés au CNR.

L'épidémie à *Salmonella* Enteritidis qui a débuté en France en 1987, a induit une augmentation très importante du nombre d'isolements chez l'homme jusqu'en 1994. Après une légère décroissance durant les années 1995 et 1996, ce sérovar était revenu en 1997 au niveau qu'il avait en 1994. Depuis 1999, la tendance est plutôt à la baisse (retour aux valeurs observées en 1989-1990). *Salmonella* sérovar Typhimurium dont le nombre annuel d'isolements était assez stable jusqu'en 1994 avait fortement progressé de 1994 à 1997. Les nombres de souches enregistrées chaque année depuis 1999 se rapprochent des valeurs d'avant 1994 (**Figure 1**).



Figure 1 : Evolution des principaux sérotypes de *Salmonella* isolés chez l'homme, en France de 1980 à 2002 (données CNR-Salmonella).



Aux Etats-Unis, le nombre d'infections humaines annuelles à *Salmonella* non typhiques a été estimé à plus de 1.400.000 cas, dont 95% % des cas d'origine alimentaire

(taux de patients hospitalisés : 22,1 % ; taux de décès : 0,78% %) [14].

Shigella

Les *Shigella* sont responsables de la dysenterie bacillaire (*Shigella dysenteriae* 1) et de gastro-entérites et diarrhées.

La bactérie

Shigella est une bactérie à Gram négatif, aéro-anaérobie facultative, appartenant à la famille des Entérobactéries. On est actuellement en droit de redéfinir les *Shigella* comme des variétés d'*Escherichia coli* (tous les sérovars de *Shigella* appartiennent à la même espèce génomique que *E. coli* à l'exception de *Shigella boydii* 13), toujours immobiles, habituellement auxotrophes, métaboliquement moins actives que les autres *E. coli*, et strictement adaptées au parasitisme du colon de l'homme (et autres primates). Les *Shigella* possèdent un plasmide responsable de leur capacité invasive pour les cellules de la muqueuse colique et produisent souvent (à un taux variable selon les sérovars) une toxine protéique.

Le réservoir

Le réservoir des *Shigella* est essentiellement représenté par l'homme et les primates. Cependant les *Shigella* peuvent être retrouvées dans l'environnement à la suite d'une contamination d'origine fécale. Elles survivent plusieurs semaines (> 7 semaines)

dans la couche superficielle du sol, dans l'eau douce pendant 5 à 11 jours, dans l'eau de mer 12 à 30 heures, dans le lait caillé pendant 4 semaines et dans les déchets de cuisine pendant 1 à 4 jours. La survie est prolongée à des températures inférieures à 25°C. La congélation n'élimine pas les bactéries, bien qu'une diminution des bactéries survivantes puisse être notée.

Modes de transmission

Les shigelles sont transmises par voie féco-orale. Elles sont extrêmement infectieuses puisque 10 à 100 bactéries suffisent à induire la maladie, favorisant ainsi la transmission de personne à personne par les mains sales. L'homme (et les primates : chimpanzé...) est le seul réservoir des shigelles et peut éliminer ces bactéries dans ses selles pendant des semaines après un épisode dysentérique. Le plus souvent, la transmission est directe du malade à son entourage. L'eau et les aliments souillés par des déjections contenant *Shigella* peuvent également transmettre la maladie. La multiplication de ces bactéries dans le milieu extérieur est favorisée par un climat chaud et humide. Leur dissémination est facilitée par l'absence d'hygiène, l'utilisation agricole des matières fécales humaines, la rareté de l'eau potable et la surpopulation. En 1995, une épidémie européenne à *Shigella sonnei* était liée à la distribution de laitues



(cultures maraîchères arrosées à l'aide d'eaux d'épandage). Plusieurs pays ont été touchés notamment en Europe du Nord. Les TIAC à *Shigella* témoignent toujours de manquements graves aux règles d'hygiène.

La clinique

La forme dysentérique aiguë typique de l'adulte débute brusquement, après une incubation brève de 12 à 96 heures (habituellement 1 à 3 jours). Elle se caractérise par des douleurs abdominales, souvent accompagnées de vomissements, des épreintes et l'émission permanente de selles innombrables (jusqu'à 100 par 24h), glairo-sanglantes et purulentes, voire parfois franchement hémorragiques. Dans la moitié des cas d'infections à *Shigella*, la diarrhée non sanglante, voire aqueuse, ne peut facilement être distinguée des diarrhées causées par d'autres entéropathogènes. La fièvre est élevée, avec altération de l'état général. Les bactériémies sont rares. Le malade guérit le plus souvent spontanément en 4 à 7 jours ou après administration d'antibiotiques. La sévérité de la maladie et le taux de décès dépendent de l'hôte (âge, existence de pathologie sous-jacente ou d'un état de mal-nutrition) et du sérovar. *Shigella dysenteriae* 1 est souvent associé à une maladie très sévère accompagnée de complications, alors qu'au contraire *Shigella sonnei* est responsable d'épisodes infectieux courts avec des taux de décès négligeables, excepté chez les personnes à risques. Des porteurs asymptomatiques peuvent transmettre l'infection. L'état de portage persiste rarement plus de quelques mois.

Epidémiologie

En France, parmi les 4 espèces de *Shigella*, deux espèces prédominent : *Shigella flexneri* (sérovars 1, 2 et 6) et *Shigella sonnei* (un sérovar). Les infections à *S. dysenteriae* et *S. boydii* correspondent généralement à des cas importés. La shigellose tend à être saisonnière, survenant durant la saison chaude ou estivale. Dans nos régions, ce pic pourrait correspondre également à des cas survenant chez des touristes de retour d'une zone d'endémie. Près de 1.000 cas bactériologiquement prouvés sont signalés chaque année au CNR des *Salmonella* et *Shigella*. Le pourcentage de cas de shigellose liés à la consommation d'aliments contaminés n'est pas connu.

Aux Etats-Unis, le nombre d'infections humaines annuelles à *Shigella* a été estimé à près de 450.000 cas, dont 20 % des cas d'origine alimentaire (taux de patients hospitalisés : 13,9 % ; taux de décès : 0,16% %) [14]

Campylobacter

La bactérie

Ce sont des bacilles à Gram négatif, de forme spiralée, en S ou incurvée. La plupart des espèces préfèrent pour cultiver une atmosphère micro-aérophile (3 à 10 % d'oxygène) ainsi que des milieux riches. Le genre *Campylobacter* comprend 17 espèces et neuf sous-espèces parmi lesquelles les plus fréquemment rencontrées en pathologie humaine sont *C. jejuni* (subspécies *jejuni*) et *C. coli*. D'autres espèces comme *C. lari* et *C.*

upsaliensis sont aussi considérées comme pathogènes, mais sont beaucoup moins fréquemment isolées de cas humains. L'espèce la plus importante en hygiène alimentaire est *Campylobacter jejuni*.

Le réservoir

Campylobacter jejuni est un hôte normal du tube digestif de nombreux animaux. Les ovins, bovins, oiseaux sauvages, rongeurs, chiens, chats, environ 70% des porcs et 30% des volailles (pourcentage variable selon les études) hébergent ces micro-organismes dans leur tube digestif. Il est alors normal que de nombreux aliments, viandes de porc et de volaille, mais également lait et eau, puissent être facilement contaminés. Il peut également être rencontré dans le tube digestif de l'homme sain. Heureusement les *Campylobacter* sont fragiles et il leur faut des conditions particulières d'atmosphère et de température pour se multiplier. A température ambiante et dans toutes sortes d'aliments, *Campylobacter jejuni* ne se multiplie pas et, au contraire, le nombre de bactéries vivantes diminue lentement. Au réfrigérateur, leur survie est correcte, mais leur nombre peut diminuer rapidement dès qu'une légère dessiccation apparaît. Au congélateur, à -18°C, les *Campylobacter* disparaissent assez rapidement.

La transmission

L'origine alimentaire de l'infection à *Campylobacter* est fréquente : les volailles, la viande rouge insuffisamment cuite, le lait cru non pasteurisé, l'eau. La campylobactériose est considérée comme une zoonose. Des cas de transmission directe d'animaux d'élevage vers l'homme ont été décrits chez des personnes en contact avec les animaux de même que des cas de transmission d'animaux domestiques vers l'homme et quelques cas de transmissions inter-humaines dans des crèches.

La clinique

Une campylobactériose peut être asymptomatique ou évoluer vers une forme digestive pure accompagnée ou non de manifestations extra-digestives. La durée d'incubation est habituellement de 2 à 5 jours (pouvant aller de 1 à 10 jours). *Campylobacter jejuni* provoque un tableau proche des salmonelloses avec, au début, de la fièvre associée à une faiblesse générale et à des céphalées, puis apparaissent des nausées et/ou des vomissements, des crampes abdominales (pouvant évoquer une appendicite aiguë) et une diarrhée, d'abord aqueuse et profuse, qui peut devenir muqueuse, sanglante et purulente. Les symptômes durent en moyenne de 3 à 6 jours. Un portage prolongé pendant plusieurs semaines est fréquemment observé après guérison clinique. Le décès est rare et survient habituellement chez de très jeunes enfants ou des patients âgés ou souffrant d'une autre maladie sous-jacente comme le SIDA.

Epidémiologie

Les *Campylobacter* (surtout *C. jejuni*) sont des bactéries qui sont généralement considérées comme la cause la plus fréquente de diarrhées d'origine bactérienne chez l'homme dans le



monde³. Dans les pays en développement aussi bien que dans les pays développés, ils sont vraisemblablement responsables d'un nombre de diarrhées aiguës nettement supérieur à celui de celles provoquées par les *Salmonella* d'origine alimentaire. En France, les données sur les infections à *Campylobacter* recueillies par le CNR sont loin d'être exhaustives et ne sont pas représentatives de la situation de l'infection à *Campylobacter* dans la communauté.

Aux Etats-Unis, le nombre d'infections humaines annuelles à *Campylobacter* a été estimé à près de 2.500.000 cas dont 80 % des cas d'origine alimentaire (taux de patients hospitalisés : 10,2 % ; taux de décès : 0,1% %) [14].

Yersinia enterocolitica

La bactérie

Le genre *Yersinia* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Il est composé de onze espèces (parmi lesquelles *Yersinia pestis*, agent de la peste) et quatre sous-espèces. *Yersinia enterocolitica* est la seule espèce qui intéresse la microbiologie alimentaire. Ce sont des bacilles à coloration de Gram négative, cultivant bien sur les milieux ordinaires, dans une gamme large de températures (4 à 42°C) avec un optimum de croissance de 25 à 29°C. C'est une bactérie psychrotrophe capable de se développer lentement au réfrigérateur. De ce fait, des aliments correctement conservés au réfrigérateur peuvent donc être à l'origine de toxi-infection alimentaire. Seules les souches de *Y. enterocolitica* hébergeant un plasmide dit de virulence sont pathogènes. Un système de biotypie permet de reconnaître les souches de biotype 1A qui ne contiennent que des souches non pathogènes isolées de l'environnement.

Le réservoir

Il est surtout animal et principalement représenté par les animaux d'élevage. Des souches potentiellement pathogènes ont pu être isolées chez les animaux domestiques (chiens, chats, singes), mais c'est surtout chez le porc que l'isolement se révèle le plus fréquent. *Yersinia* est retrouvée dans 5 à 20% % des matières fécales et, beaucoup plus fréquemment encore, dans la cavité pharyngée.

La clinique

La durée d'incubation est de 3 à 7 jours. Chez l'homme, l'entérocrite reste dominante : cependant les infections à *Y. enterocolitica* peuvent prendre des formes très diverses dépendant de la souche, de la dose, des facteurs génétiques, de l'âge et des conditions physiques de l'hôte. La symptomatologie varie avec l'âge : diarrhée fébrile chez le jeune enfant, elle peut être accompagnée chez l'adulte d'érythème noueux, d'arthrite ou de foyers localisés. Chez l'adolescent, une adénite mésentérique peut donner un tableau pseudo-appendiculaire. Devant une épidémie d'appendicites, il faut penser à une toxi-infection collective à *Yersinia*. Les troubles abdominaux, diarrhée et arthrite sont les manifestations les plus fréquentes chez l'adulte.

Epidémiologie

Yersinia est un germe ubiquiste, rarement mis en cause dans les toxi-infections alimentaires. En Belgique, *Yersinia* est isolée sur la quasi-totalité des échantillons de langue de porc prélevés en boucherie ; en France, son isolement semble moins fréquent.

Les viandes hachées de porc, souvent préparées à partir de viandes incluant les muscles masséters et contenant souvent des fragments d'amygdale, sont fréquemment contaminées par *Y. enterocolitica* sérotype O :3. Des enquêtes réalisées en Belgique ont maintenant clairement démontré que la consommation de ces viandes représentait le principal facteur de risque de survenue d'infection à *Yersinia enterocolitica*. Il est très fréquent d'isoler *Y. enterocolitica* dans de nombreux aliments : dans les crudités et également dans les viandes crues (porc, bœuf, volaille), le lait cru et l'eau. Dans la très grande majorité des cas, il s'agit de souches considérées comme non pathogènes. La situation des infections à *Y. enterocolitica* est mal connue en France.

Aux Etats-Unis, le nombre d'infections humaines annuelles à *Yersinia enterocolitica* a été estimé à près de 100.000 cas, dont 90% % des cas d'origine alimentaire (taux de patients hospitalisés : 24,2 % ; taux de décès : 0,05 %) [14] .

BACTÉRIES AYANT UNE ACTION CYTOTOXIQUE

Vibrio parahaemolyticus

Ce vibron est une cause fréquente de toxi-infection alimentaire au Japon et dans les régions intertropicales.

La bactérie

Il s'agit d'un *Vibrio* halophile qui nécessite un climat tempéré pour se développer. La dose infectieuse est de 10⁵ à 10⁷ bactéries. Les souches virulentes sont associées à la présence d'une hémolysine responsable de la production hydroélectrolytique au niveau de l'intestin.

Le réservoir

Son réservoir habituel est l'eau de mer tiède.

La clinique

La durée d'incubation est habituellement de 12 à 24 heures. L'infection se traduit par des douleurs abdominales et une diarrhée aqueuse.

Epidémiologie

La contamination se produit par la consommation de poissons ou de fruits de mer crus ou insuffisamment cuits. En France, le CNR des vibrions et du choléra a enregistré, de 1999 à 2001, trois cas de gastro-entérites à *Vibrio parahaemolyticus*.

³ Fact sheet N°255 ; http://www.who.int/inf-fs/en/fact_255.html



BACTÉRIES AYANT UNE ACTION ENTÉROTOXINOGENÈ

Staphylococcus aureus

La bactérie

Cocci à Gram positif, aérobie-anaérobie facultatif, à coagulase positive, *Staphylococcus aureus* est une cause fréquemment reconnue de toxi-infections sporadiques ou collectives, facilement diagnostiquées par leur brutalité d'installation et l'intensité de la symptomatologie. Les toxi-infections alimentaires collectives à *S. aureus* arrivent par fréquence en deuxième position après *Salmonella*.

Le réservoir

Il est habituellement humain et la contamination des aliments se fait lors de la préparation par un porteur sain (rhinopharyngé) ou présentant une plaie infectée. Les aliments peuvent également être contaminés à l'origine : lait de vache laitière atteinte de mammite, viande de porc, poisson). Il existe plusieurs types antigéniques d'entérotoxines, mais c'est le type A qui est le plus souvent trouvé lors des toxi-infections alimentaires collectives. L'entérotoxine est thermostable et résiste 30 minutes à 100°C. De nombreux aliments sont favorables à la croissance de *Staphylococcus aureus* et à la sécrétion de toxine. La toxinogénèse est liée aux conditions favorisant la multiplication des germes (pH de 6,5, température allant de 10°C à 45°C, avec une température optimale de 35-40°C, activité de l'eau a_w). Il est nécessaire d'avoir une quantité de germes importante pour obtenir une quantité de toxine pouvant provoquer la survenue de symptômes.

La clinique

Ce sont les entérotoxines produites par des souches se multipliant dans les aliments qui déclenchent les symptômes. La dose toxique chez l'homme n'est pas connue ; cependant, une quantité inférieure à 1 µg contenue dans 100 g d'aliments entraîne des signes cliniques ; certaines données font état d'une quantité aussi basse que 100 ng. La symptomatologie est caractéristique : incubation courte de 1 à 6 heures (habituellement < 3 heures) ; nausées, vomissements en fusée, douleurs abdominales parfois accompagnées de diarrhée, absence de fièvre ou hypothermie, prostration, quelquefois hypotension. L'évolution est le plus souvent spontanément favorable en 24h à 48h après le début des symptômes avec une asthénie résiduelle de brève durée. Le traitement est symptomatique ; les antibiotiques ne sont d'aucune utilité. En 2001, quarante-trois foyers de TIAC à *Staphylococcus aureus* ont été signalés aux DDASS et aux DSV, touchant 620 malades [7]. Le nombre de cas sporadiques n'est pas connu.

Aux Etats-Unis, le nombre d'infections humaines annuelles à *Staphylococcus* a été estimé à plus de 180.000 cas dont 100 % des cas d'origine alimentaire (taux de patients hospitalisés : 18 % ; taux de décès : 0,02% %) [14] .

Clostridium perfringens

La bactérie

Bacille anaérobie strict, sporulé, à coloration de Gram positive. Il se développe à partir de 10°C avec un optimum de développement à 46°C.

Le réservoir

Germe tellurique ubiquiste, *C. perfringens* peut être présent dans toutes les denrées alimentaires. Ce sont des bactéries sporulées thermorésistantes (30 minutes à 100°C et plusieurs minutes à 120°C) qui germent, et se multiplient lorsqu'il existe des conditions favorables suffisamment longues de température et d'anaérobiose. Les formes végétatives sont détruites à partir de 85°C.

Les aliments incriminés

Viandes et poissons en sauce et produits de charcuterie sont les aliments le plus souvent incriminés. Cette bactérie se développe dans les viandes cuites au court bouillon (gros blocs de viande, langue) sans refroidissement immédiat ; ces conditions favorisent la germination des spores qui donnent naissance aux formes végétatives à multiplication rapide.

La clinique

La durée d'incubation est de 9 à 15 heures. L'intoxication se manifeste par une diarrhée et des douleurs abdominales à type de coliques. Fièvre et vomissements sont rares. L'évolution est habituellement favorable en 24 h, mais les souches de type C peuvent provoquer des entérocolites nécrosantes. Huit foyers de TIAC touchant 208 personnes ont été signalés aux DDASS et aux DSV en 2001. Le nombre de cas sporadiques n'est pas connu.

Aux Etats-Unis, le nombre d'infections humaines annuelles à *Clostridium perfringens* a été estimé à plus de 240.000 cas dont 100% % des cas d'origine alimentaire (taux de patients hospitalisés : 0,3 % ; taux de décès : 0,05% %) [14] .

Bacillus cereus

Ce bacille provoque des toxi-infections dont la fréquence est mal connue en France. Aux Etats-Unis, les foyers ont surtout pour origine les restaurants asiatiques.

La bactérie

Bacille sporulé, à coloration de Gram positive. Les spores sont très résistantes aux températures élevées.

Le réservoir

Ce germe est ubiquiste. Les aliments incriminés sont souvent du riz, ou des végétaux, de la purée de pomme de terre (la concentration microbienne peut atteindre 10^7 à 10^9 germes/gramme) ou des légumes germés, viandes préparées, épices.



La clinique

Bacillus cereus est à l'origine de deux types d'intoxications transmises par les aliments, une intoxication émétique dont les symptômes sont caractérisés par des vomissements et une intoxication diarrhéique. L'intoxication émétique survient après une courte période d'incubation de 1 à 5 heures. Elle est caractérisée par des nausées, vomissements, des douleurs abdominales et, dans environ un tiers des cas, est accompagnée de diarrhées. Le céréulide, toxine responsable des vomissements, symptôme est un petit peptide cyclique extrêmement stable qui est produit dans l'aliment lors de la croissance bactérienne. La toxine est produite durant la phase stationnaire. L'intoxication diarrhéique est caractérisée par une diarrhée abondante, accompagnée de crampes intestinales, et survient 8 à 16 heures après ingestion de l'aliment contaminé. Trois entérotoxines responsables de ce syndrome diarrhéique ont été identifiées à ce jour, deux complexes triprotéiques Hbl, Nhe et la protéine CytK. Ces toxines étant relativement labiles et sensibles aux protéases du tube digestif, il est probable que les toxines responsables de la diarrhée ne sont pas celles présentes dans l'aliment mais sont plutôt celles produites dans le tube digestif après multiplication de la bactérie.

Les toxi-infections alimentaires à *Bacillus cereus* ne sont pas à déclaration obligatoire (DO), à moins qu'il n'existe un foyer de cas groupés. La plupart des cas étant bénins, il est vraisemblable que l'incidence des TIA soit sous-estimée. En 2001, *B. cereus* représentait, aux côtés de *Clostridium perfringens* et des intoxications à l'histamine, la troisième cause de TIAC en France avec 3% des foyers dont la cause avait été identifiée (8 foyers touchant 139 personnes) [7]. Le nombre de cas sporadiques survenant en dehors d'un contexte de cas groupés n'est pas connu.

Aux Etats-Unis, le nombre d'infections humaines annuelles à *Bacillus cereus* a été estimé à plus de 27.000 cas, dont 95% des cas d'origine alimentaire (taux de patients hospitalisés : 0,6 % ; aucun décès) [14] .

Clostridium botulinum

La bactérie

Ce sont des bacilles à coloration de Gram positive, anaérobies stricts, sporulés, d'origine tellurique. Les spores sont résistantes aux conditions extrêmes : chaleur, sécheresse, radiation, oxygène, agents chimiques. Les responsables du botulisme sont les neurotoxines botuliques qui sont produites par les bactéries du genre *Clostridium* désignées A, B, C, D, E, F, G selon leurs propriétés antigéniques. Les types A, B, et E et exceptionnellement C et F sont responsables du botulisme humain. En France, c'est surtout le type B qui est représenté, alors qu'aux Etats-Unis, c'est le type A, dont la neurotoxine est plus agressive (la dose létale chez l'adulte par voie orale est de 100 ng à 1 µg). Les neurotoxines sont dénaturées par la chaleur : 10 minutes à 100°C, 50°C pendant 20 minutes à 50°C. Les spores sont thermorésistantes : 20 minutes à 110°C. Les types A et B peuvent se développer à partir de températures de +10°C. Le type E est psychrotrophe et se développe à partir de

+3°C. Le botulisme animal est associé au type A (bovins, équins), B (porcins, bovins, équins), C (oiseaux d'élevages et sauvages, visons et occasionnellement ovins et bovins), D (bovins, oiseaux d'élevage et sauvages), E (poissons, oiseaux d'élevage et sauvages). L'espèce *C. botulinum* est génétiquement très hétérogène et actuellement il est possible de distinguer 4 groupes sur la base de propriétés physiologiques, biochimiques et génétiques. Ces groupes correspondent à des espèces distinctes.

Groupe I : *C. botulinum* A et les souches protéolytiques de *C. botulinum* B et F

Groupe II : *C. botulinum* E et souches glucidolytiques de *C. botulinum* B et F

Groupe III : *C. botulinum* C et D

Groupe IV : *C. botulinum* G ou *C. argentinense*

Il faut noter que ces 4 groupes renferment des souches non toxigènes. Mais des souches appartenant à d'autres espèces de *Clostridium* sont également capables de produire une toxine botulique. C'est le cas de *C. butyricum* qui synthétise une neurotoxine botulique E et de certaines souches de *C. barattii* qui produisent une neurotoxine F.

Aliments incriminés

Ils étaient représentés classiquement par le jambon salé mal cuit et les conserves familiales (cuisson insuffisante). Actuellement, il s'agit plutôt de produits commerciaux : certaines conserves industrielles de légumes, des soupes de poisson, poissons fumés en emballage sous vide.

Les symptômes

L'« intoxication » est l'ingestion de toxine préformée dans l'aliment alors que la toxi-infection est consécutive à l'ingestion de spores ou de formes végétatives d'un *Clostridium* neurotoxino-gène qui s'est multiplié et a synthétisé de la toxine dans la lumière intestinale. Habituellement, la flore digestive prévient la colonisation, sauf chez le jeune enfant (une dizaine de spores sont suffisantes pour déclencher le botulisme infantile). Chez l'adulte, des facteurs prédisposants peuvent faciliter la colonisation : chirurgie, traitement par les antibiotiques. Après ingestion d'un aliment contaminé, la phase d'incubation (habituellement 12-36 heures, mais pouvant atteindre 8 jours) est inversement proportionnelle à la gravité de l'évolution. Il s'agit d'une atteinte neurologique se manifestant par des paralysies motrices sans aucun trouble sensitif. Les premiers signes sont d'ordre visuel : diplopie, défaut d'accommodation puis maux de tête, sécheresse des muqueuses, défaut de déglutition, constipation, fatigue. Dans les formes avancées, il y a atteinte des muscles respiratoires, puis des muscles des membres inférieurs.

Epidémiologie

En France, 10 à 20 cas annuels sont répertoriés chaque année depuis un quart de siècle. C'est une maladie rare, mais très grave. Le botulisme appartient à la liste des maladies à déclaration obligatoire. Aux Etats-Unis, le nombre de cas de botulisme humain a été estimé à 58 dont 100 % des cas d'origine alimentaire (taux de patients hospitalisés : 80 % ; taux de décès : 7,7% %) [14].



Escherichia coli entérotoxigènes

Ils sont incriminés de façon rare dans des TIAC en France. Ils représentent la première cause des diarrhées infantiles dans les pays en voie de développement et des diarrhées des voyageurs. Ils peuvent produire deux types de toxines : l'une, thermolabile (toxine LT), voisine de la toxine sécrétée par *Vibrio cholerae* codée par un gène plasmidique et provoquant une augmentation de la concentration intracellulaire d'AMPc et l'autre thermostable (toxine ST), entraînant une augmentation de guanosine monophosphate (GMP) cyclique. Ils sont transmis par l'ingestion d'eaux et d'aliments contaminés par l'homme (porteurs aux mains sales), par l'animal (rongeurs, mouches), ou l'eau (fruits ou légumes lavés sous l'eau).

Aeromonas hydrophila

Cette bactérie appartient à la famille des *Aeromonadaceae*. A l'origine de diarrhées liquides de brève durée, *Aeromonas hydrophila* est plus fréquemment isolé chez les enfants âgés de moins de 2 ans. Son pouvoir pathogène est lié à l'action de plusieurs entérotoxines, dont l'une à l'activité « cholera-like ». Il a été incriminé lors d'épisodes diarrhéiques consécutifs à la consommation de crevettes.

III. INFECTIONS « EMERGENTES » D'ORIGINE ALIMENTAIRE

ESCHERICHIA COLI O157 : H7 ET AUTRES ESCHERICHIA COLI PRODUCTEURS DE SHIGA-TOXINS (STEC)

La bactérie^{4,5}

[WHO Fact sheet N°125 ;

125.html]Ce sont des bacilles à Gram négatif, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Généralement, les *Escherichia coli* sont des bactéries commensales du tube digestif de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud. Cependant, certaines souches sont pathogènes pour l'homme ; plusieurs pathotypes ont été individualisés en fonction des signes cliniques engendrés et des facteurs de pathogénicité exprimés. Parmi ceux-ci, figurent les *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC). Les souches dites STEC (ou anciennement VTEC), c'est-à-dire produisant des Shiga-toxines STX (ou anciennement Vero-toxines VT), sont toutes les souches ayant le gène *stx* codant pour les shiga-toxines (nom donné à ces toxines à cause de leur similitude avec la toxine produite par *Shigella dysenteriae* 1). Les souches isolées chez des malades sont appelées EHEC (EnteroHémorragic *E. coli*). *E. coli* peut croître de 7-10°C jusqu'à 50°C avec une température optimale voisine de 37°C. Certains EHEC peuvent survivre dans des aliments acides, à des pH voisins de 4,4, et dans des aliments ayant une activité de l'eau a_w égale à 0,95. Il est détruit par une cuisson soigneuse des aliments, à condition qu'une température de 70°C soit atteinte dans tout l'aliment.

⁴ [WHO Fact sheet N°125 ; <http://www.who.int/inf-fs/en/fact125.html>]

⁵ [WHO Fact sheet N°124 ; <http://www.who.int/inf-fs/en/fact124.html>]

Le réservoir

Les ruminants, et notamment les bovins, sont considérés à l'heure actuelle comme le réservoir principal d'EHEC. Cependant, ces bactéries ont été retrouvées dans l'intestin de nombreuses autres espèces animales (porcs, chevaux, volailles, chiens, chats, moutons...). Cette bactérie semble bien adaptée pour survivre dans les fèces animales car celle-ci peut y persister pendant de nombreuses semaines, voire plusieurs mois. La Grande-Bretagne, fortement touchée par le sérovar O157 : H7 annonce des taux de portage dans les fèces chez les bovins de 4,7% et de 1,7% chez les moutons [15]. Quarante-quatre pour cent des troupeaux de bovins ont au moins un individu hébergeant *E. coli* O157 : H7 durant les mois d'été [5]. Des chiffres encore plus élevés ont été trouvés aux Etats-Unis où 28% des bovins excrétaient dans leur fèces *E. coli* O157 : H7 durant les mois d'été [5]. Des STEC, mais appartenant à d'autres sérogroupes que O157, sont régulièrement trouvés responsables d'infections chez l'homme (O26, O111, O103, O145...).

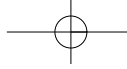
Les trois voies principales de contamination par les STEC sont l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés (produits d'origine animale, mais aussi légumes crus, et produits laitiers au lait cru), la transmission oro-fécale de personne à personne et le contact direct avec les animaux et leurs déjections. Les souches de STEC émises dans les selles sont directement infectantes. La dose infectieuse semble être basse (10—100 bactéries).

La clinique

La période d'incubation est de 1 à 8 jours (moyenne 3-4 jours) suivant l'âge des malades, la virulence des souches et la dose ingérée. Les manifestations cliniques des infections à STEC sont variées : les symptômes incluent des crampes abdominales et une diarrhée aqueuse, qui peut devenir sanglante dans 50% des cas (colite hémorragique). De la fièvre et des vomissements peuvent survenir, et la plupart des patients guérissent en une dizaine de jours. Dans 5 à 10% des cas, le tableau se complique (surtout chez les jeunes enfants et les personnes âgées) en syndrome hémolytique et urémique (SHU) ou en purpura thrombotique et thrombocytopenique (PTT). Le SHU est caractérisé par une anémie hémolytique microangiopathique, thrombopénie et insuffisance rénale aiguë. Le SHU est la principale cause d'insuffisance rénale aiguë chez l'enfant âgé de 1 mois à 3 ans [13].

Epidémiologie

Les STEC posent un problème de sécurité alimentaire dans les pays industrialisés et ont été à l'origine de plusieurs épidémies de grande ampleur avec une létalité importante aux Etats-Unis, au Japon et en Ecosse. En France, un système de surveillance du SHU pédiatrique a été mis en place en 1996 en collaboration avec la Société de Néphrologie pédiatrique. Les objectifs de cette surveillance sont de suivre les tendances spatio-temporelles du SHU chez les enfants de moins de quinze ans, de connaître les caractéristiques épidémiologiques des cas, d'identifier les agents responsables et de détecter les phénomènes épidémiques. En 2001, l'incidence annuelle du SHU en France était de



0,67/10⁵ enfants de moins de 15 ans [8]. En 1999, le sérotype O157 était à l'origine de 50% % des cas de SHU déclarés. Une étude cas—témoins, réalisée en 2000 et 2001 en France [3], a désigné comme principaux facteurs de risque de survenue des SHU liés à une infection à STEC, chez les enfants de moins de 15 ans, la consommation de steak haché peu cuit et la transmission inter-humaine dans la famille ou la collectivité.

Aux Etats-Unis, le nombre d'infections humaines annuelles à *Escherichia coli* O157 : H7 a été estimé à plus de 73.000 cas, dont 85% % des cas d'origine alimentaire (taux de patients hospitalisés : 29,5 % ; taux de décès : 0,83% %) [14]. Pour les *E. coli* STEC non-O157, le nombre de cas a été estimé à près de 37.000 dont 85% % d'origine alimentaire (taux de patients hospitalisés : 29,5% % ; taux de décès : 0,83% %)[14].

LISTÉRIOSE

Listeria monocytogenes est considérée comme émergente car le rôle des aliments dans sa transmission n'a été qu'assez récemment reconnu (en 1983, lors d'une épidémie). La listériose est devenue un véritable problème de santé publique. L'apparition de de plus en plus fréquente de *Listeria monocytogenes* comme agent d'infection d'origine alimentaire s'explique par un certain nombre de facteurs. *Listeria* est une bactérie ubiquiste, largement répandue dans l'environnement et capable d'une très grande persistance dans l'environnement industriel. Le développement de de la production industrielle des aliments a considérablement augmenté les risques de contamination en créant des étapes supplémentaires. De plus, la distribution de denrées en très grandes quantités sur de très vastes zones géographiques fait qu'un grand nombre de personnes vont être simultanément infectées si l'aliment est contaminé, générant de ce fait des épidémies.

La bactérie

Listeria est une bactérie à coloration de Gram positive, aérobie-anaérobie facultative, non sporulée, mobile par quelques flagelles (2-3) péritriches si la culture est réalisée à 20-25°C. Sa température optimale de croissance se situe entre 20 et 37°C et elle peut se multiplier à des températures aussi basses que +3°C. La température optimale de croissance est de 30-37°C, les températures limites de croissance étant de 1 et 45°C. Ubiquiste, elle est très largement répandue dans l'environnement (eau, sol, végétaux), ce qui explique sa capacité à coloniser les sites de fabrication des aliments. Sa température optimale de croissance se situe entre 20 et 37°C et elle peut se multiplier à des températures aussi basses que +3°C. Ces capacités de résistance dans le milieu extérieur sont remarquables. Elle peut survivre de 1 à 2 ans dans le sol. *Listeria* est sensible à la chaleur : la pasteurisation traditionnelle (15 ec.secondes à 72°C) est un traitement satisfaisant pour inactiver les *Listeria* dans les viandes. Une température de 80°C à cœur garantit la sécurité.

Les personnes sensibles et la maladie

La listériose est diagnostiquée principalement dans les pays développés. Elle se rencontre préférentiellement chez les

sujets dont le système immunitaire est affaibli ou immature : nouveaux-nés, femmes enceintes, personnes âgées et patients immunodéprimés suite à une maladie ou un traitement immunosuppresseur. L'infection se traduit par des formes invasives : bactériémie ou septicémie, et infection du système nerveux central chez le nouveau-né et l'adulte, avortement chez la femme enceinte. Pour les formes invasives, la période d'incubation peut s'étendre de quelques jours à plus de 2 mois. Chez la femme enceinte, la maladie peut passer inaperçue ou se réduire à un pic fébrile, ou syndrome pseudo-grippal. Le nouveau-né, quand il est infecté, peut présenter des signes cutanés, une détresse respiratoire ou des signes neurologiques. Un traitement antibiotique est efficace à condition qu'il soit donné le plus tôt possible. L'association ampicilline-gentamicine ou le co-trimoxazol en cas d'allergie aux bêta-lactamines sont habituellement prescrits.

Les aliments incriminés

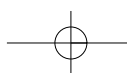
Tous les aliments, qu'il s'agisse du lait ou des produits laitiers, de la viande crue et des produits carnés, des végétaux, des poissons ou crustacés, des plats préparés, peuvent être contaminés par cette bactérie avec des fréquences et des taux de contaminations variables. Le développement de la chaîne du froid est un des éléments essentiels qui explique la contamination assez fréquente des aliments et l'augmentation du nombre de cas de listériose depuis une vingtaine d'années.

Epidémiologie

Depuis 1996, le CNR des *Listeria* répertorie en France 200 à 250 cas sporadiques annuels de listériose. Aux Etats-Unis, le nombre d'infections humaines annuelles à *Listeria monocytogenes* a été estimé à plus de 2.500 cas dont 99% % des cas d'origine alimentaire (taux de patients hospitalisés : 92,2 % % ; taux de décès : 20 %) [14].

IV. TOXI-INFECTIONS ALIMENTAIRES COLLECTIVES (TIAC)

L'article L19 du code de la santé publique définit un foyer de toxi-infection alimentaire collective (TIAC) comme la survenue d'au moins 2 cas groupés ayant des symptômes similaires, le plus souvent digestifs, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire. Les TIAC doivent être déclarées aux DDASS ou DSV par toute personne (médecin, chef de famille ou chef d'établissement) qui en a constaté l'existence, le plus rapidement après la survenue des premiers cas. Les CNR peuvent également être avertis de la survenue de foyers de TIAC. Les foyers de TIAC appartiennent à la liste des maladies à déclaration obligatoire (DO). L'importance réelle de ces TIAC est très sous-estimée en France à cause d'une sous-déclaration importante [4]. Une estimation de l'exhaustivité de la DO et du signalement au CNR pour les TIAC à salmonelles confirmées avait été réalisée en croisant les foyers notifiés en 1995 aux DDASS, aux DSV et au

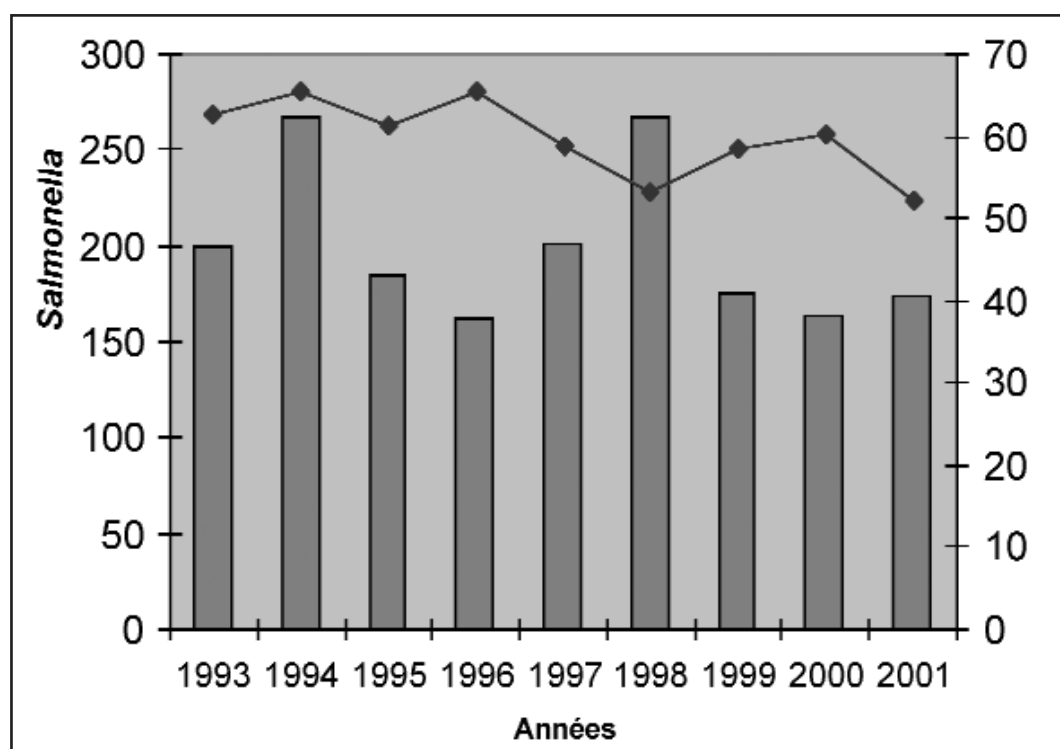




CNR-*Salmonella*. Pour les TIAC confirmées par un isolement de *Salmonella*, l'exhaustivité de la déclaration obligatoire (DDASS + DSV) avait été estimée à 21% et celle du CNR à 46%. Une augmentation de l'exhaustivité entre 1995 et 2000 a été notée pour certains sérovars (sérovar Enteritidis : 32% en 2000 versus 20% en 1995) [9]. L'évolution des foyers de TIAC dus aux principaux agents est présentée dans le Tableau 1.

En 2001, les *Salmonella* représentaient toujours la cause principale de foyers de TIAC en France (64 % des 272 foyers pour lesquels un agent a été confirmé) et le sérovar Enteritidis était prédominant (52% des TIAC à *Salmonella*) [7]. Depuis de nombreuses années, cette proportion (prédominance du sérovar Enteritidis) a peu changé (Figure 2).

Figure 2 : Evolution du nombre de foyers de TIAC à *Salmonella* (barres) et évolution de la proportion du seul sérotype Enteritidis (points), en France de 1993 à 2001.



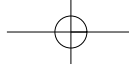
En 2001, l'agent responsable de la TIAC a été isolé dans les aliments dans 31% (123/398) des foyers pour lesquels un aliment était suspecté. Pour les TIAC à *Salmonella*, les aliments les plus fréquemment en cause étaient les œufs et les pré-

parations à base d'œufs crus ou peu cuits (57%) [7]. Les produits laitiers et les plats ayant nécessité des manipulations étaient plus fréquemment incriminés pour les TIAC à *S. aureus* et les plats en sauce pour *C. perfringens* [7].

V. CONCLUSION

Comme nous venons de le voir, les infections d'origine alimentaire représentent un coût social et économique considérable dans les pays industrialisés. Elles représenteraient 60 à 70% des infections humaines (toutes maladies infectieuses d'origine microbienne confondues). Toute action visant à diminuer l'incidence des toxi-infections alimentaires (TIA) (il est illusoire à l'heure actuelle d'envisager une éradication) devra agir sur les facteurs suivants : qualité des matières premières, condition de stockage des aliments, mode de préparation, mode de liaison (chaude ou froide), délais entre préparation et consommation.

La qualité de la matière première est, bien sûr, primordiale. Cependant, comme nous l'avons vu, il est quelquefois difficile de pouvoir garantir l'innocuité de certains aliments (cas des œufs avec *Salmonella* Enteritidis par exemple). Même si toutes les précautions ont été prises en amont (dans le cas de la viande : hygiène de l'élevage, qualité de l'alimentation animale, transport, abattoir, industrie de transformation...), l'aliment destiné à être consommé peut héberger des bactéries pathogènes. Quand ils sont présents dans les aliments, ces micro-organismes le sont généralement en petit nombre. Un grand nombre de maladies microbiennes d'origine alimentaire sont la conséquence, non seulement de la présence de ces micro-organismes, mais de leur multiplication en raison de différents facteurs, notamment par rupture de la chaîne du froid. Avant cela, un agent pathogène dans un aliment va se multiplier ou voir sa



croissance inhibée en raison des conditions environnementales (pH, température, pO₂, activité de l'eau a_w), facteurs nutritionnels, facteurs inhibiteurs. Le devenir d'un même agent pathogène dans différents aliments ou dans le même aliment exposé à des conditions environnementales différentes pourra donc être très divers. L'idée d'admettre implicitement la présence de certains micro-organismes pathogènes dans les aliments soulève le problème de la dose minimale infectieuse (voir ci-dessous).

L'entreprise agro-alimentaire : dans ces établissements, le respect des règles d'hygiène est souvent intégré dans un système appelé HACCP⁶. Il s'agit d'identifier et d'analyser les dangers associés aux différents stades du processus de production d'une denrée alimentaire, de définir les moyens nécessaires à leur maîtrise et de s'assurer que ces moyens sont mis en œuvre de façon active et efficace. Cette démarche permet aux industriels de diminuer les risques.

L'individu qui consomme l'aliment : l'état physiologique de l'individu est également un facteur primordial. L'âge, la gestation, l'état nutritionnel (consommation d'alcool), les maladies concomitantes, l'état immunitaire, l'état physiologique (flore intestinale, acidité gastrique), la prise de médicaments (antibiotiques, médicaments inhibiteurs de l'acidité gastrique...) ou le stress sont autant d'éléments qui vont déterminer la susceptibilité d'un individu à un risque alimentaire déterminé. Si on relie la complexité du micro-organisme à la multiplicité des individus par lesquels ils risquent d'être ingéré, il devient très difficile de définir une dose minimale infectieuse. On privilégie plutôt maintenant **l'analyse de risque** qui va prendre en compte la nature des souches, la nature des aliments vecteurs, la dynamique de croissance et la survie des micro-organismes. Dans tous les cas, il faudra quantifier le micro-organisme dans l'aliment.

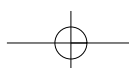
La restauration collective et la restauration familiale : la prévention des TIA doit également passer par un meilleur respect des recommandations sur l'hygiène, la préparation et la conservation des aliments. Il est essentiel que des actions de sensibilisation soient régulièrement menées auprès des professionnels de l'alimentation et des particuliers pour rappeler l'importance du respect de simples mesures d'hygiène alimentaire destinées à rendre impossible la multiplication d'un faible *inoculum* bactérien, éventuellement présent dans les denrées [12]. En effet, la méconnaissance ou le non-respect de ces règles sont généralement trouvés responsables (aussi bien dans les cuisines familiales que dans la restauration collective) de la survenue de TIAC.

Surveillance et alerte : des réseaux de surveillance nationaux ou internationaux existent pour de nombreux pathogènes. Citons le réseau européen de surveillance des salmonelloses humaines et des infections à *E. coli* entérohémorragiques « Enternet » qui regroupe des microbiologistes et des épidémiologistes de 14 pays européens. Cette surveillance permet de détecter l'émergence de phénomènes nouveaux et d'analyser des épidémies affectant plusieurs pays.

Les TIAC sont notoirement sous-déclarées en France [4]. Des incitations à mieux déclarer les TIAC (qui appartiennent à la liste des maladies à déclaration obligatoire) aux autorités sanitaires ont été faites auprès des médecins [2]. En effet, quand une TIAC est détectée, il est alors possible de rechercher l'aliment responsable et de mettre en place des mesures de contrôle et de prévention. Rappelons qu'en 2001, sur les 559 foyers de TIAC déclarés aux DDASS et DSV, un agent a été confirmé pour 272 d'entre eux (48.6% %).

Mots-clés : *toxi-infection alimentaire; épidémiologie; Salmonella; Campylobacter; STEC; toxi-infection alimentaire collective; TIAC; Listeria; gastro-entérite.*

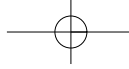
⁶ HACCP pour « Hazard analysis critical control point » (= analyse des dangers – points critiques pour leur maîtrise).





BIBLIOGRAPHIE

- [1] DELAROCQUE-ASTAGNEAU E, DESENCLOS JC, BOUVET P, GRIMONT PAD. Risk factors for the occurrence of sporadic *Salmonella enterica* serotype *enteritidis* infection in children in France :: a national case-control study. *Epidemiol Infect* ,, 1998, **121**, 561-567.
- [2] ESPIÉ E, AUBRY-DAMON H, DE VALK H, VAILLANT V, et al. Salmonellose collective : les enjeux d'une déclaration immédiate. *Rev Prat* ,, 2002, **16**, 873-876.
- [3] ESPIÉ E, VAILLANT V, DURR U, BARATAUD D, et al. Facteurs de risque des syndromes hémolytiques et urémiques sporadiques chez des enfants de moins de 15 ans en France : étude cas-témoins 2001-2001. *BEH* ,, 2003, **20**, 91-92.
- [4] GALLAY A, VAILLANT V, BOUVET P, GRIMONT P, et al. How many foodborne outbreaks of *Salmonella* infection occurred in France in 1995 ? Application of the capture-recapture method to three surveillance systems. *Am J Epidemiol* ,, 2000, **152**, 171-177.
- [5] GANSHEROFF LJ, O'BRIEN AD. *Escherichia coli* O157:H7 in beef cattle presented for slaughter in the U.S. :: higher prevalence rates than previously estimated. *Proc Nat Acad Sci USA* ,, 2000, **97**, 2959-2961.
- [6] HAEGHEBAERT S, DUCHÉ L, GILLES C, MASINI B, et al. Viande hâchéhachée de boeuf et salmonelloses humaines : synthèse des investigations de trois épidémies en France. *Eurosurv* ,, 2001, **6**, 21-26.
- [7] HAEGHEBAERT S, LE QUERREC F, BOUVET P, GALLAY A, et al. Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001. *BEH* ,, 2002, **50**, 249-253.
- [8] HAEGHEBAERT S, VAILLANT V, ESPIÉ E, BOUVET P, et al. Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France, 2001. *BEH* ,, 2003, **20**, 89-91.
- [9] HAEGHEBAERT S, LE QUERREC F, GALLAY A, BOUVET P, et al. Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 1999 et 2000. In : Sanitaire Institut de Veille Sanitaire, ed. *Surveillance nationale des maladies infectieuses, 1998-2000*, Saint-Maurice 2003, pp. 161-169 .
- [10] HUMPHREY TJ, WHITEHEAD A, GAWLER AHL, HENLEY A, et al. Numbers of *Salmonella enteritidis* in the contents of naturally contaminated hens' eggs. *Epidem Infect* ,, 1991, **106**, 489-496.
- [11] HUTTLY SRA, MORRIS SRA, PISANI V. Prevention of diarrhoea in young children in developing countries. *Bull. WHO* ,, 1997, **75**, 163-174.
- [12] LE MINOR L. Comment lutter contre les toxi-infections alimentaires causées par les *Salmonella* ? *Lettre de l'Infectiologie* ,, 1989, **4**, 727-734.
- [13] LOIRAT C, BAUDOIN V, SONSINO E, MARIANI-KURKDJIAN P, et al. Syndrome hémolytique et urémique de l'enfant : aspects cliniques, épidémiologiques, éléments du pronostic et résultats thérapeutiques. In : *Actualités néphrologiques Jean Hamburger*, Flammarion Médecine Sciences, Paris 1992, pp. 133-158.
- [14] MEAD PS, SLUSKER L, DIETZ V, MCCAIG LF, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect. Dis* ,, 1999, **5**, 607-625.
- [15] PAIBA GA, GIBBENS JC, PASCOE SJS, WILESMITH JW, et al. Faecal carriage of verotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in cattle and sheep at slaughter in Great Britain. *Vet Rec*, 2002, **150**, 593-598.
- [16] WHEELER JG, SETHI D, COWDEN JM, WALL PG, et al. Study of infectious intestinal diseases in England :: rates in the community, presenting to general practice, and reported to national surveillance. *Brit Med J* ,, 1999, **318**, 1046-1050.



LA SURVEILLANCE DE LA LISTERIOSE EN FRANCE

Paul MARTIN*, Christine JACQUET**,** Véronique GOULET***

*Centre National de Référence des *Listeria*, Institut Pasteur, Paris

** Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice

Le rôle pathogène d'Helicobacter pylori fait l'objet d'une vive attention depuis plusieurs années chez les médecins, tant cliniciens que biologistes. Aussi nous sommes particulièrement reconnaissants au Professeur MÉGRAUD (cours IP 1978), spécialiste de l'étude de cette bactérie, de faire le point ici sur son implication dans un processus morbide grave et encore très répandu : le carcinome gastrique et sur les espoirs qu'on peut attendre de l'éradication de cette bactérie, dans la prévention de ce cancer. Cet article, rédigé pour la revue Oncologie (2003, Volume 5, numéro 2) est reproduit grâce à l'aimable autorisation de l'éditeur © Springer-Verlag.

I • LA LISTERIOSE

La listériose est une anthrozoonose, c'est-à-dire une maladie infectieuse commune aux hommes et aux animaux, causée par une bactérie à Gram positif, *Listeria monocytogenes*. La listériose humaine est une infection d'origine alimentaire se manifestant soit sur un mode épidémique, soit sur un mode endémique. Elle survient le plus souvent chez les femmes enceintes, les personnes immunodéprimées, ou aux âges extrêmes de la vie. La maladie est essentiellement limitée aux pays industrialisés, mais le nombre de cas rapportés augmente dans de nombreux pays, probablement en raison de l'expansion de l'industrie agroalimentaire et des systèmes de conservation réfrigérée, de l'amélioration du diagnostic clinique et bactériologique, et surtout d'une meilleure surveillance de la maladie. Nous verrons que dans certains pays, comme la France, le nombre de cas diminue.

A) CLINIQUE

La période d'incubation de la forme invasive de la maladie est très variable, pouvant aller de quelques jours à 2-3 mois. Cette incubation, parfois très longue, a des conséquences importantes pour la surveillance de la maladie. Chez l'homme, l'infection par *L. monocytogenes* se manifeste de différentes façons [21].

La listériose **non invasive** est une diarrhée fébrile survenant brutalement chez des personnes le plus souvent sans facteur de risque, ayant consommé des aliments généralement très fortement contaminés. L'incubation est alors courte (autour de 24 heures), et l'épisode diarrhéique assez sévère, fébrile, mais de courte durée : un à trois jours.

La listériose **invasive** survient de préférence chez les sujets dont le système immunitaire est perturbé naturellement (femmes enceintes, personnes âgées) ou à l'occasion d'une maladie (cancer, cirrhose, diabète) ou d'un traitement immunosuppresseur. Elle touche les femmes enceintes et les nouveau-

nés (formes péri-natales : FPN), ou les adultes (formes non péri-natales : FNPN). Aujourd'hui en France, plus de 90% des FNPN surviennent chez des adultes immunodéprimés ou des personnes très âgées. L'incubation peut être très longue. Il existe de nombreuses formes cliniques de la maladie : méningite subaiguë à liquide clair, formes pulmonaires (pneumonie diffuse, foyers broncho-pulmonaires), conjonctivites, pyérites et pyélocystites, sinusites chroniques, septicémies avec localisation hépatique...

Les formes péri-natales de listériose surviennent le plus souvent au cours du troisième trimestre de la grossesse. L'infection de la femme enceinte se manifeste par des signes cliniques peu évocateurs, le plus souvent un simple état grippal. La mère peut même rester asymptomatique. Le taux de létalité des FPN de listériose est de 20 à 30%. Suivant le mode de contamination, on observe deux formes cliniques de la listériose néonatale :

En cas de contamination *in utero*, la maladie se traduit par la naissance d'un enfant mort ou plus souvent d'un prématuré avec des signes de septicémie, plus rarement de méningite, au cours de la première semaine.

En cas de contamination au moment de l'accouchement, très rare, la maladie se déclare après le septième jour de la vie, plus fréquemment comme une méningite que comme une septicémie.

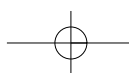
B) DIAGNOSTIC

Il ne peut être affirmé que s'il y a isolement de *L. monocytogenes*, compte tenu de la rareté de la maladie et des signes cliniques non pathognomoniques. A l'exception de cas de rhomboencéphalites infectieuses particulièrement évocatrices, pour lesquelles l'isolement de la bactérie est parfois difficile, il peut être complété par une PCR *Listeria*. Selon la forme clinique de la maladie, la bactérie pourra être isolée du prélèvement vaginal, du méconium ou du nouveau-né lui-même, du sang ou du liquide céphalorachidien.

* Cours IP 1977-1978, membre de notre Association, Laboratoire des *Listeria*, Centre National de Référence des *Listeria*, Institut Pasteur, 28, rue du Dr Roux, 75724 Paris

* Cours IP 1994 et 1996

*** Institut de Veille Sanitaire, Saint Maurice, France





ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA LISTÉRIOSE HUMAINE

A) FORMES SPORADIQUES OU ÉPIDÉMIQUES

Du point de vue épidémiologique, les infections humaines à *L. monocytogenes* se manifestent sous deux formes, sporadique ou épidémique [19]. Bien que le nombre de cas sporadiques soit nettement supérieur à celui des épidémies, l'impact médiatique de ces dernières est particulièrement important.

Les **cas sporadiques** surviennent, en France, partout et tout au long de l'année [9]. Il existe cependant de petites différences régionales, et une légère augmentation du nombre de cas pendant la période estivale. Dans les pays industrialisés, l'incidence de la listériose est de quelques cas par million d'habitants (en France, environ 4 cas par million d'habitants). Le nombre de cas sporadiques recensés en France par le Centre National de Référence (CNR) depuis 1987 a diminué de façon très significative, particulièrement depuis 1996. Alors qu'il était situé entre 350 et 450 cas bactériologiquement confirmés par an entre 1987 et 1995, il se situe aujourd'hui aux environs de 200 cas. Cette réduction touche essentiellement les formes périnatales qui représentaient 51% des cas en 1987 et n'en représentent plus que 22% en 2000¹.

Les **épidémies** peuvent se différencier, suivant la forme clinique des cas, en épidémie de formes cliniques invasives (septicémies, méningites, formes péri-natales), ou en formes non invasives (gastro-entérites). Les épidémies invasives peuvent toucher la population générale ou une population plus ciblée, susceptible, comme lors des épidémies d'origine nosocomiale. Une trentaine d'épidémies invasives touchant la population générale ont été décrites, et elles étaient quasiment toutes dues à des souches de *L. monocytogenes* du sérotype 4b. Le nombre de cas variait de quelques cas à près de 300, comme en France en 1975 (167 cas), en Suisse entre 1983 et 1987 (122 cas), en Californie en 1985 (142 cas), en Grande-Bretagne en 1987-89 (279 cas), et en France en 1992 (279 cas). Ces épidémies ont touché majoritairement la même population cible que les cas sporadiques, mais avec une proportion de malades non-immunodéprimés souvent plus élevée. Depuis 1989, au moins 7 épidémies de gastro-entérites à *L. monocytogenes* de divers sérotypes ont été publiées, dont une épidémie survenue en 1997 en Italie, et qui a touché 1.566 personnes. Lors de ces épidémies, la dose infectante était très élevée, chaque fois qu'elle a pu être mesurée.

B) TRANSMISSION ALIMENTAIRE

Les principales filières alimentaires impliquées dans les cas de listériose sont la filière viande de porc, la filière des fromages au lait cru, la filière des produits de la pêche (poissons fumés notamment) et la filière des produits frais prêts à consommer. Depuis le début des années 80, la transmission alimentaire de la listériose est très bien documentée pour les épi-

sodes épidémiques, et une source commune a été le plus souvent suspectée ou formellement incriminée : par exemple le fromage Vacherin Mont d'Or en Suisse, du fromage « mexicain » en Californie, du pâté en Grande-Bretagne et de la langue de porc en gelée en France. Il faut ajouter qu'une origine alimentaire a également été démontrée à l'occasion d'un certain nombre de cas sporadiques². Dans l'évaluation de la morbidité et la mortalité dues aux infections alimentaires aux Etats-Unis, le CDC (Center Disease Control) a considéré que 99% des listérioses étaient transmises par l'alimentation [11].

LISTERIA MONOCYTOGENES

Listeria a longtemps été considérée comme une bactérie corynéforme. Les travaux de taxonomie numérique et de séquençage partiel de l'ARN ribosomique 16S ont montré que ce genre appartient à la branche des bacilles à Gram positif à bas G+C%. Les *Listeria* se caractérisent par une morphologie de petits bacilles à Gram positif, aux extrémités arrondies, non sporulés. Ces bactéries ont un diamètre de 0.4 à 0.5 μm et une longueur de 0.5 à 2 μm . Elles sont mobiles à 20-25°C, grâce à 1-4 flagelles d'implantation péritriche, et immobiles à 37°C. Elles ont un métabolisme aéro-anaérobie.

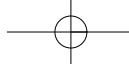
Les résultats de **séquençage de l'ARN ribosomique 16S**, d'hybridation ADN/ADN et de MEE (multilocus enzyme electrophoresis) ont montré que le genre *Listeria* était constitué de **deux branches distinctes** : l'une regroupe *L. monocytogenes* et les espèces génomiquement apparentées, *L. innocua*, *L. ivanovii* subsp. *ivanovii* et subsp. *londoniensis*, *L. seeligeri* et *L. welshimeri*, l'autre *L. grayi* [2, 14, 17]. Ces espèces se différencient par un petit nombre de caractères biochimiques : hémolyse, CAMP-test avec *Rhodococcus equi* et *Staphylococcus aureus*, production d'acide à partir du D-xylose, du D-ribose, du L-rhamnose, de l'alpha-méthyl-D-mannoside et du mannitol [15, 16].

Malgré l'absence de spores, les *Listeria* ont des **capacités de résistance** remarquables. Ces bactéries sont capables de se multiplier aux températures de réfrigération et jusqu'à 45°C, avec un optimum entre 30 et 37°C, et elles survivent à la congélation. Elles peuvent croître dans des milieux ayant des valeurs de pH comprises entre 4.4 et 9.6, avec un optimum à pH neutre ou légèrement alcalin. La multiplication de *L. monocytogenes* est possible pour des valeurs de $A_w = 0.90$ et en présence de plus de 12% de NaCl.

Les *Listeria* sont communément **isolées de prélèvements** de terre, d'eaux de diverses origines et de végétaux, où elles peuvent survivre pendant de longues périodes [22]. Les végétaux en décomposition, qui permettent très largement leur développement, sont la source de cas de listériose observés chez les animaux d'élevages, et cette contamination peut se retrouver tout au long de la chaîne alimentaire. De nombreuses espèces

¹ En France, de 1987 à 2000, le nombre total de cas sporadiques répertoriés par le CNR était supérieur à 4.500, alors que sur la même période, le nombre de cas épidémiques se situait entre 420 et 430 cas.

² Une enquête cas-témoins des cas sporadiques effectuée aux Etats-Unis a montré que la consommation d'aliments "ready-to-eat : prêts à consommer" était un facteur de risque. Dans une enquête similaire effectuée au Danemark, certains pâtés et fromages ont été identifiés comme facteurs de risque [10].



animales, mammifères, oiseaux, poissons peuvent excréter *L. monocytogenes*. Ce portage sain existe aussi chez l'homme ; il varie selon les études de 0 à 30%, mais des pourcentages plus élevés ont été observés pour du personnel de cuisine (62%) et des laborantins manipulant *L. monocytogenes* [77% (pour une revue, lire 21)].

Les *Listeria* peuvent se retrouver à tous les stades de la production des aliments et dans toutes les catégories d'aliments, avec des fréquences variables³. *Listeria monocytogenes* et *L. innocua* sont les espèces les plus fréquemment retrouvées, alors que *L. ivanovii* et *L. grayi* sont rarement isolées.

CARACTÉRISATION DE *L. MONOCYTOGENES*

Pour la surveillance microbiologique de la listériose comme pour les investigations épidémiologiques, la caractérisation fine des souches de *L. monocytogenes* est essentielle, afin de confirmer ou non l'appartenance à un même clone. Au CNR, cette caractérisation consiste en la détermination du sérovar et des profils de macrorestriction d'ADN de la souche.

La **sérotypie**⁴ est une réaction anticorps/antigène, avec des sérums polyclonaux absorbés. Les combinaisons de 10 antigènes somatiques, correspondant partiellement aux acides teichoïques de la paroi, et de 4 antigènes flagellaires, permettent de définir 13 sérovars parmi lesquels le sérovar 4b est prédominant, représentant, par exemple, 55% des souches d'origine humaine reçues au CNR en 2002 et à l'origine des épidémies majeures de listériose invasive.

L'**analyse des profils de macrorestriction d'ADN** permet, dans des conditions standardisées les comparaisons de souches intra- et inter-laboratoires [7]. Lors de l'épidémie française de 1992, elle a ainsi permis d'identifier 20 combinaisons de profils d'ADN avec 3 enzymes de restriction pour les 279 souches de *L. monocytogenes* appartenant aux mêmes sérovar et lysovar [8]. Au CNR, cette méthode est systématiquement utilisée depuis 1999 pour toutes les souches à l'origine de cas de listériose en France. Appliquée aux souches isolées d'aliments, cette méthode conduit à l'identification des aliments contaminés par la souche à l'origine des cas, et par là même, à l'identification de leur origine alimentaire. Cette méthode est actuellement la plus discriminante pour *L. monocytogenes*.

D'**autres méthodes de typage** ont été ou sont utilisées pour les investigations épidémiologiques : lysotypie, méthodes

basées sur l'ADN (microrestriction d'ADN, méthodes PCR, sondes nucléiques...) ou sur les protéines (MEE) [1]. Avec la génomique et le séquençage total ou partiel de plusieurs souches de *Listeria*, de nouvelles méthodes de typage, en particulier celle utilisant les puces à ADN, vont être développées.

LES OBJECTIFS, LES PRINCIPES ET LES ACTEURS DE LA SURVEILLANCE

La surveillance de la listériose en France repose sur un système à deux composantes : la surveillance épidémiologique [réalisée par l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) et les Directions Départementales d'Action Sanitaire et Sociale (DDASS)] et la surveillance microbiologique (réalisée par le CNR des *Listeria*). Ce système de surveillance a **deux objectifs** : suivre l'évolution à long terme de la maladie en France, détecter les épidémies, en identifier l'origine et prendre les mesures de Santé Publique qui en découlent.

La listériose étant une maladie relativement peu fréquente mais à peu près également répartie sur le territoire national, sans grande variation saisonnière, et les aliments contaminés étant très souvent à distribution nationale ou internationale, il est souhaitable d'obtenir des informations précises et détaillées sur chaque cas, et sur tous les cas, en tentant de s'approcher le plus possible de l'exhaustivité.

Aujourd'hui, plus de 75% des cas de listériose en France font l'objet d'une information auprès des autorités de santé. Deux **types d'outils** sont utilisés en routine pour la surveillance : la déclaration obligatoire (DO, depuis 1998) et l'interrogatoire alimentaire rétrospectif et détaillé de chaque patient ; la caractérisation des souches de *L. monocytogenes* isolées des malades.

En 2002, le CNR a reçu les isolats de plus de 95% des cas de listériose ayant fait l'objet d'une DO. Par ailleurs, il reçoit chaque année plusieurs centaines ou milliers de souches isolées de l'alimentation et de l'environnement agroalimentaire en France. À côté de la surveillance des tendances à long terme (évolution des sérovars, résistance aux antibiotiques, évolution des formes cliniques...), le rôle principal du CNR est de détecter les cas groupés de listériose⁵. Si les enquêtes épidémiologiques montrent que les cas groupés, ou « clusters », ont une source commune, alors le CNR cherche à identifier la source alimentaire responsable.

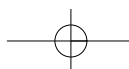
Ces investigations autour de cas groupés, sont d'ordre à la fois bactériologique, épidémiologique et commercial. Elles

³ D'après les plans de surveillance annuels de la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes, 5% des aliments dits sensibles sont contaminés par *L. monocytogenes*. Parmi ces aliments, les produits de saisserie sont les plus fréquemment contaminés (10% en 2001). En ce qui concerne le taux de contamination par *L. monocytogenes*, les résultats montrent que les fromages sont les plus fréquemment contaminés à plus de 100 *L. monocytogenes* par gramme de produit.

⁴ Méthode universellement utilisée, ancienne, décrite pour la première fois en 1940, et dont le schéma actuel a été établi en 1979 [20].

⁵ C'est-à-dire les cas dont les isolats de *L. monocytogenes* ne sont pas différenciables sur le plan microbiologique, et donc supposés être dus à une même source.

⁶ Elle est composée de représentants des ministères chargés de la santé (DGS), de l'agriculture (DGAI), chargé de la consommation (DGCCRF), ainsi que de l'InVS et du CNR des *Listeria*. La DGS assure son rôle d'information des autorités de santé, de respect de la réglementation et de communication auprès du grand public lorsque c'est nécessaire. Le rôle de l'InVS consiste en l'analyse des fiches d'interrogatoires alimentaires et leur comparaison avec leurs données et les fiches de témoins cas sporadiques, la réalisation d'enquêtes cas-témoins, et toute autre investigation épidémiologique complémentaire nécessaire.





sont coordonnées par la « Cellule *Listeria*⁶ », qui est l'organe permanent, animée par l'InVS, d'échanges et de décision en matière d'investigations. Ces investigations sont réalisées avec l'aide des médecins inspecteurs des DDASS. L'InVS propose le niveau de surveillance ou d'alerte à mettre en œuvre lors de la survenue de tout épisode de cas groupés. L'ensemble de ces investigations entraîne l'envoi au CNR de souches de *L. monocytogenes* d'origine agroalimentaire de façon à permettre leur comparaison avec l'isolat clinique suspecté. Lorsqu'une souche identique est retrouvée, seules des données épidémiologiques (consommation du produit par les malades) permettent d'incriminer celui-ci dans l'épisode de cas groupés.

FONCTIONNEMENT DE LA SURVEILLANCE

Dans ce paragraphe, sont appelés « cas groupés » des cas dont la souche est identique sur le plan microbiologique, et « épidémie » un ensemble de cas dus à la même souche et reliés entre eux ou à une source commune.

1 – Première étape : la surveillance au niveau périphérique. Dans la figure 1, les grandes lignes de la surveillance de la listériose en France, du diagnostic d'un cas à la détection de cas groupés sont schématisées. Le diagnostic d'un cas de listé-

riose est toujours clinique et microbiologique. Pour chaque cas de listériose, le médecin prescripteur et le biologiste remplissent une fiche de DO et la transmettent à la DDASS du département. Puis le médecin de la DDASS :

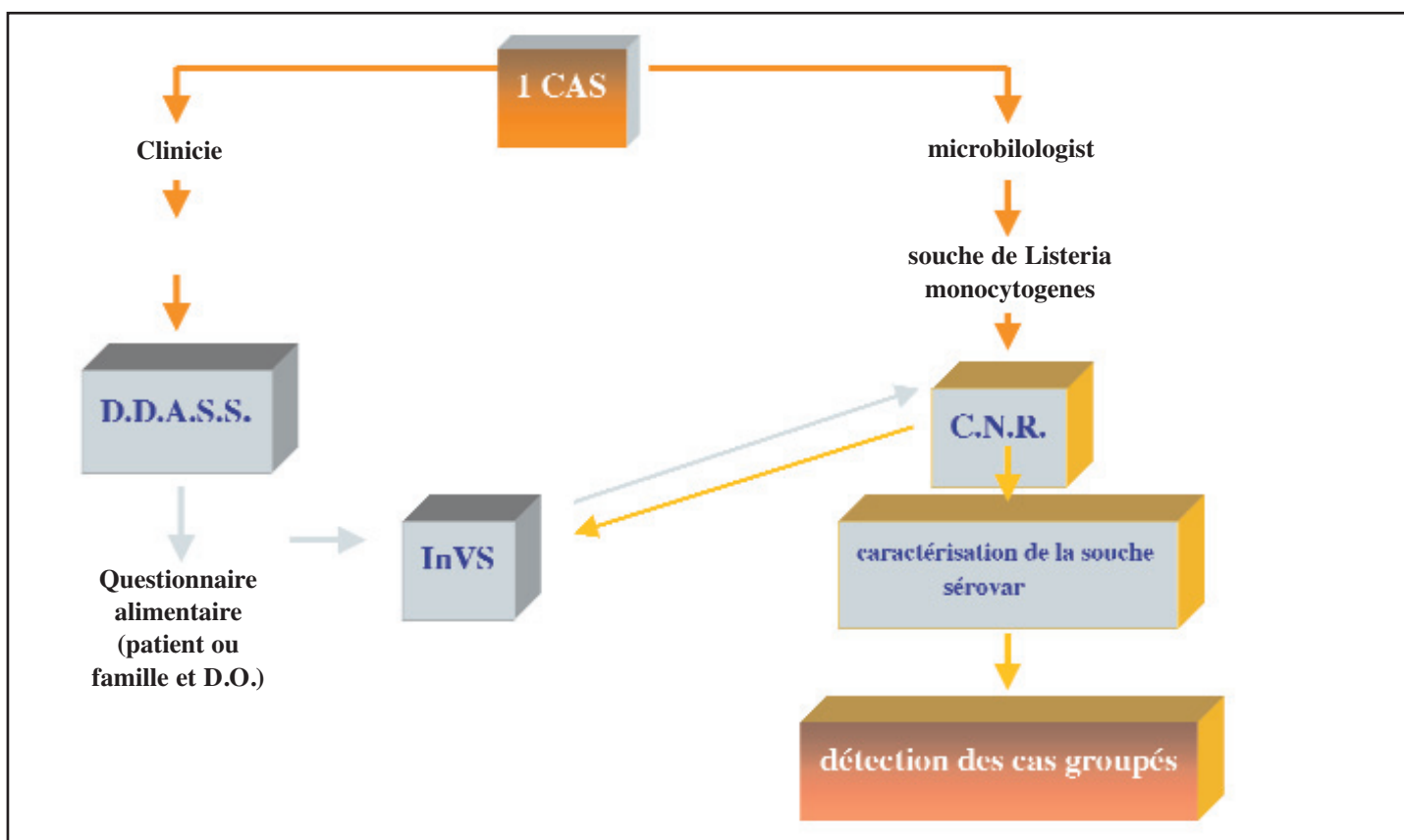
transmet la fiche de DO à l'InVS dans les plus brefs délais ;
remplit le questionnaire alimentaire auprès du malade, ou de sa famille si ce dernier ne peut répondre. Ce questionnaire porte sur les aliments consommés par le patient dans les 2 mois précédant le diagnostic.

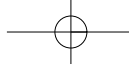
Parallèlement, le biologiste, qui a isolé la souche de *L. monocytogenes*, l'envoie au CNR des *Listeria* à l'Institut Pasteur. Cet envoi n'est pas obligatoire, mais il est indispensable à la surveillance. Figure 1

2 – Deuxième étape : la surveillance microbiologique.

Toutes les souches d'origine humaine reçues au CNR sont caractérisées en temps réel (aucun regroupement de souches n'est réalisé), et les résultats complets sont obtenus en 10 jours en moyenne. Pour chaque souche, le CNR confirme l'identification et caractérise les souches. Toutes les souches française d'origine alimentaire reçues au CNR sont caractérisées le plus rapidement possible, en général en 2 semaines (identification et détermination du sérovar). De plus, les souches d'origine alimentaire appartenant aux sérovars 4b et 1/2b, sérovars les plus

Figure 1. La surveillance de la listériose en France : du cas à la détection de cas groupés.





fréquemment à l'origine d'épidémies, sont caractérisées par macrorestriction d'ADN avec une seule enzyme, *AscI*. En cas d'alerte, cela permet de sélectionner rapidement les souches d'origine alimentaire dont le pulsovar *AscI* est identique à la souche des cas humains et de les caractériser avec la deuxième enzyme.

Chaque semaine, les profils de macrorestriction d'ADN de toutes les souches d'origine clinique, appartenant au même sérovar et isolées au cours des 14 semaines précédentes sont comparés entre eux. Cette période a été déterminée en raison du temps d'incubation, parfois assez long, de la maladie. Lorsqu'au moins 3 souches présentant mêmes sérovar et profils de macrorestriction d'ADN sont identifiées, le CNR fait un signalement à la « Cellule *Listeria*. »

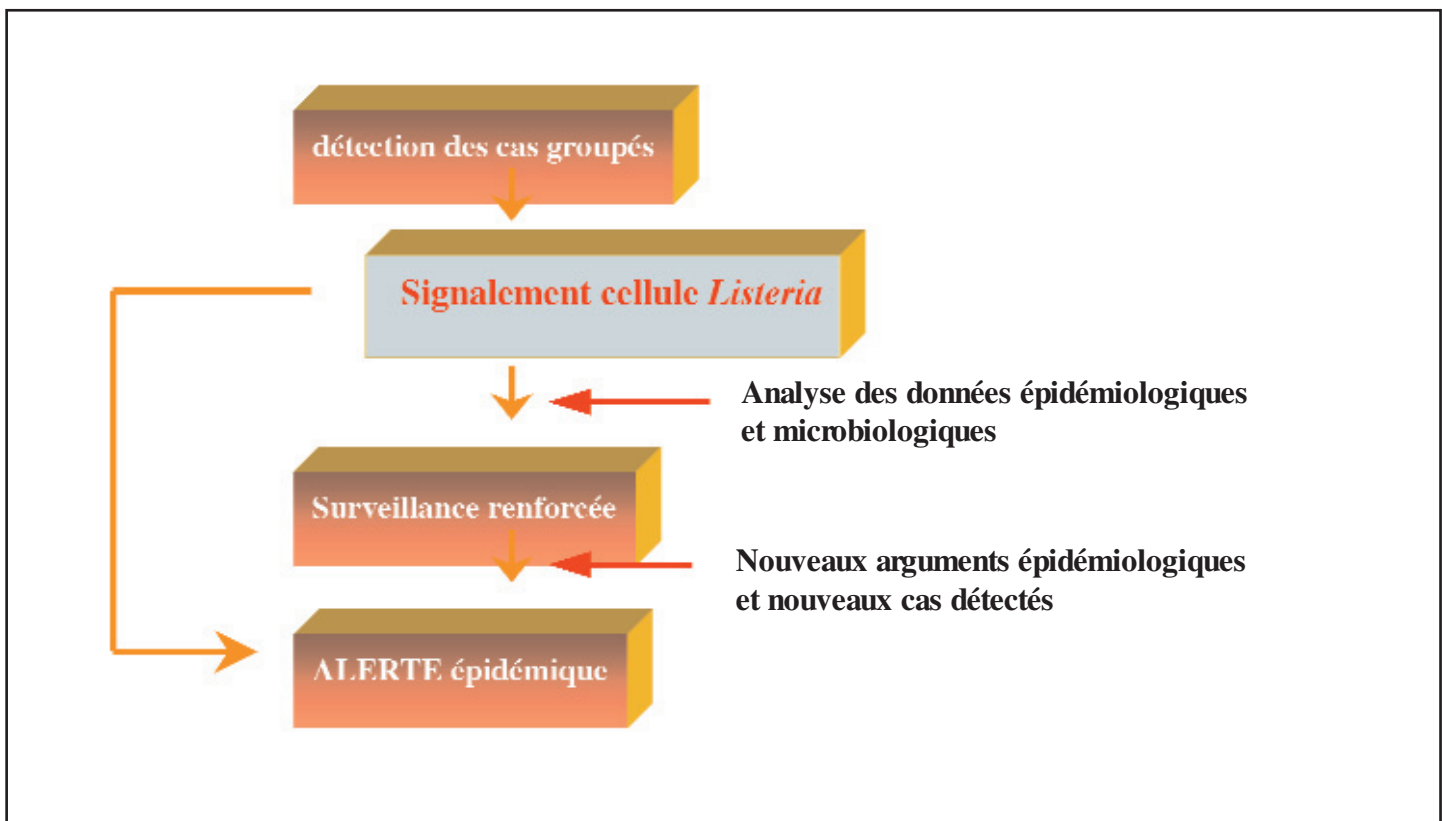
3 – Du signalement à l'alerte. Dans la figure 2, l'évolution possible d'un signalement vers une alerte est schématisée. Le signalement des cas groupés est analysé par l'InVS à partir des données épidémiologiques et microbiologiques dont il dispose⁷.

Le CNR a alors pour rôle de déterminer la fréquence de cette souche à l'origine des cas humains survenus en France au cours des 12 mois précédents et de rechercher parmi les souches d'origine alimentaire du même sérovar celles qui possèdent les mêmes profils de macrorestriction d'ADN. Pendant cette phase, le CNR recherche quotidiennement, la présence de nouvelle(s) souche(s) humaines ayant les mêmes caractéristiques.

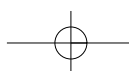
L'InVS détermine les « profils alimentaires » pour chaque nouveau cas que lui indique le CNR et effectue les premières comparaisons de consommations spécifiques entre les cas groupés et les cas sporadiques survenus pendant l'année en cours ou l'année précédente [4].

Les autres partenaires (DGS, DGAI, DGCCRF et les services déconcentrés de l'Etat) réalisent le plus rapidement possible les investigations ciblées spécifiques autour des cas (enquêtes et prélèvements dans les réfrigérateurs des patients) et en amont dans les magasins et les centres de distribution que fréquentait le patient. Si nécessaire, il est possible de passer directement du signalement en phase d'alerte, dès l'analyse de celui-ci. Figure 2

Figure 2. Du signalement de cas groupés de listériose à l'alerte épidémique.



⁷ Les indicateurs utilisés sont les suivants : la pathologie sous-jacente des cas, la forme clinique, l'âge des patients, un éventuel regroupement géographique, les « profils alimentaires » des patients établis à partir de l'interrogatoire alimentaire (un profil alimentaire « consommateur de fromages », profil « consommateur de charcuterie »...). Les données microbiologiques sont, elles aussi, analysées : sérovar, pouvoir « épidémiogène », fréquence au cours des mois précédents...





4 – La phase d'alerte. Lors de la phase d'alerte, la cellule *Listeria* fait le point sur l'avancée des investigations aussi souvent qu'il est nécessaire. Il est demandé aux Laboratoires Vétérinaires Départementaux (LVD) et aux laboratoires de la DGCCRF d'envoyer au CNR toutes les souches de *Listeria* isolées à partir de la filière alimentaire suspectée au cours des 3 à 6 derniers mois. Des investigations actives et spécifiques sont réalisées auprès des familles, des commerces, et de l'industrie agroalimentaire dès qu'une orientation précise est disponible.

L'InVS poursuit ses enquêtes épidémiologiques d'orientation alimentaire et, au fur et à mesure que le nombre de cas augmente, réalise si nécessaire une enquête cas-témoins⁸. Cette affirmation de l'origine alimentaire ne peut se faire qu'à l'aide des 3 critères suivants :

- une valeur élevée du Risque Relatif (RR) estimé obtenu par l'enquête cas-témoins ;
- la consommation réelle, déterminée par l'enquête auprès des patients, du produit suspecté, par la majorité des malades ;
- la preuve bactériologique, c'est-à-dire l'isolement de la même souche de *L. monocytogenes* à partir du produit suspecté avant son ouverture par le détaillant ou le client/patient. Ce dernier point est particulièrement important lorsqu'il est obtenu, car il permet de prendre de façon plus sûre des mesures de prévention auprès des producteurs, des détaillants et des consommateurs.

Lors de la phase de « rappel des souches », le CNR reçoit plusieurs centaines (750 en Juillet/Septembre 2002) à plusieurs milliers (13.500 en 1992) de souches, parmi lesquelles il doit identifier la souche de l'alerte. Un protocole d'alerte, permettant le raccourcissement des délais nécessaires à la caractérisation des souches et à l'envoi des résultats et surtout la caractérisation d'un grand nombre de souches en un temps minimum, est alors mis en place.

5 – Communication et Prévention. Lorsque l'aliment responsable est formellement identifié ou très fortement suspecté, sa production, sa distribution et sa vente sont arrêtées. Il appartient alors à chaque administration, de prendre les mesures d'application nécessaires, en fonction de ses domaines de compétences.

6 – Investigations complémentaires. Des investigations auprès de l'industrie agroalimentaire et des fournisseurs de matières premières sont parfois nécessaires pour éviter une possible ré-émergence épidémique dans les semaines ou les mois qui suivent l'alerte. Des enquêtes avec prélèvements sont alors

diligentes dans l'environnement (tuyauteries, machines à découper...) de l'unité de fabrication, mais aussi en amont, chez les fournisseurs de cette unité : abattoirs, fermes...

RÉSULTATS DE LA SURVEILLANCE

Les premières études permettant d'estimer l'incidence de la listériose en France⁹ datent de **1984**, avant l'instauration des mesures de contrôle au niveau de la filière agro-alimentaire. Le rôle de l'alimentation dans la transmission de la listériose considéré longtemps comme une hypothèse n'a été établi qu'en **1985**, à la suite de l'investigation d'une épidémie de plus de 100 cas survenue en Californie. L'implication de fromages frais comme véhicule de l'épidémie sur des arguments épidémiologiques avait été confirmée secondairement par la microbiologie. A la suite de cette épidémie, les autorités américaines ont instauré un contrôle *Listeria* à l'importation de fromages venant de l'étranger, ce qui a conduit les autorités françaises à mettre en place des contrôles concernant les entreprises exportatrices de fromages.

Après l'épidémie de listériose en Suisse en 1986, les autorités françaises ont étendu ces contrôles à l'ensemble des entreprises fromagères à production nationale (pendant cette période, la surveillance des listériose était réalisée par le **CNR des *Listeria* situé à Nantes** qui sérotypait les souches transmises par certains hôpitaux).

A partir de 1987 les souches étaient transmises par le CNR au **laboratoire de lysotypie de l'Institut Pasteur** qui disposait de la lysotypie, méthode de typage beaucoup plus discriminante. En 1989, le laboratoire de l'Institut Pasteur, repérant un groupement de 15 cas du même lysotype, avait alerté les autorités sanitaires. Aucun dispositif d'investigation n'existait au niveau national et l'enquête épidémiologique n'avait pas permis d'identifier un aliment commun.

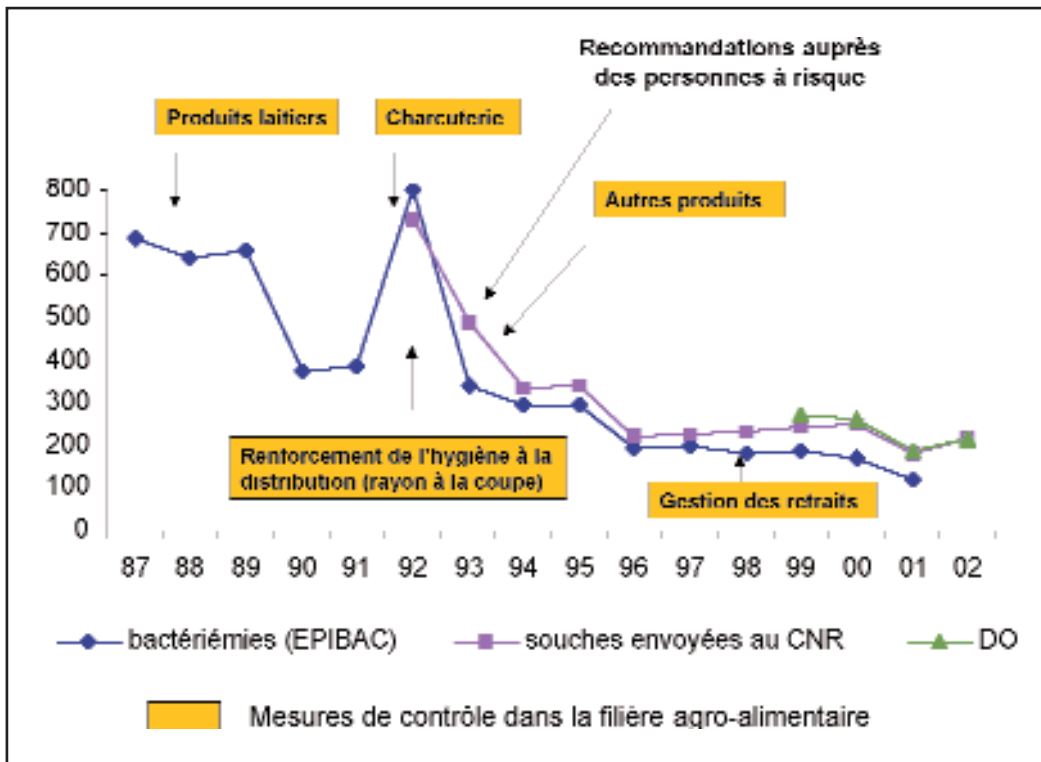
Ce n'est qu'à la suite d'une épidémie de 279 cas de listériose survenue en **1992** en France, qu'un dispositif de surveillance et d'intervention efficace s'est mis en place avec une collaboration avec d'autres ministères. Durant cette épidémie, un courrier émanant de la DGS avait été envoyé à tous les laboratoires hospitaliers pour les inciter à envoyer leurs souches de *Listeria* à l'Institut Pasteur. Le nombre de correspondants du CNR a alors fortement augmenté et les délais entre l'isolement des souches et le résultat de la lysotypie ont été raccourcis. En 1993, la nomination de **l'Institut Pasteur comme CNR** et la création du Réseau National de Santé Publique (transformé en

⁸ Le fait de disposer d'emblée des questionnaires alimentaires des cas sporadiques et des cas groupés permet de réaliser, presque au jour le jour, des enquêtes cas-témoins rapidement puissantes. Il est parfois utile de réaliser des enquêtes alimentaires complémentaires par téléphone. Il s'agit de voir si chaque cas a bien consommé le produit suspecté, ou s'est approvisionné dans un magasin où les produits de détails ont pu subir une contamination croisée, lorsqu'il s'agit d'un produit vendu à la coupe. Au bout de cette enquête très précise, si tous ou la majorité des cas ont effectivement pu être contaminés par le même produit alimentaire, on pourra affirmer qu'il s'agit d'une épidémie et prendre les mesures nécessaires de rappel d'un produit et d'information publique.

⁹ A cette époque, le nombre de cas estimé était de 808 cas, soit une incidence annuelle de 14,5 cas/10⁹ hab [5]. Cette incidence élevée n'était pas conjoncturelle puisque que des niveaux analogues d'incidence ont été rapportés en 1986 (19,8 cas/10⁹ hab.), 1987 (16,7 cas/10⁹ hab) et 1988 (14,9 cas/10⁹ hab) [6]. A cette époque, l'incidence relevée en France était bien supérieure à celle des autres pays, notamment à celle des Etats-Unis (1986 : 7 cas/10⁹ hab) [3].



Figure 2. Evolution de 1987 à 2002 de l'incidence de listériose en France selon 3 sources : EPIBAC, CNR et DO et de la mise en place des mesures de contrôles dans la filière agro-alimentaire..



Un autre critère d'efficacité du système de surveillance et d'intervention est le nombre de cas listériose concernés par les épisodes de cas groupés identifiés par le CNR et dont l'investigation a permis d'identifier la source (Tableau I). Depuis 1997, le nombre de cas concernés par ces épisodes a diminué. Grâce à l'amélioration du dispositif, la source de l'épidémie est identifiée plus rapidement et il est possible de prendre des mesures permettant d'éviter de nouveaux cas. Ainsi, les 2 épidémies liées à consommation de langue de porc en gelée ont été à l'origine de 279 cas en 1992 et de 32 cas en 2000.

1998 en InVS) a renforcé ce dispositif¹⁰ avec un meilleur repérage de cas groupés et des moyens humains permettant de réaliser rapidement une investigation épidémiologique.

Plusieurs indicateurs permettent d'évaluer l'efficacité de cette surveillance. Tout d'abord, l'évolution de l'incidence de la listériose depuis la mise en place de la surveillance (Figure 3). Le système permettant de suivre l'évolution de l'incidence sur une période la plus longue est le réseau de microbiologistes hospitaliers EPIBAC qui donne des estimations nationales du nombre de bactériémies à *Listeria* depuis 1987. La majorité des laboratoires de microbiologie, fortement sollicités depuis 1992 (courrier des autorités sanitaires, retombée médiatique des investigations d'épidémie) ne transmettent régulièrement leurs souches au CNR depuis 1992 (alors qu'en 1987, seul 1/3 des souches parvenaient au CNR). L'analyse des données du CNR comme indicateur d'évolution de l'incidence n'est donc possible que depuis 1992 (Fig. 3). Quant à la DO, les données sont disponibles seulement depuis 1999. On voit que les tendances observées par ces 3 sources sont superposables sauf en 2000 où contrairement, à EPIBAC et à la DO, on observe une augmentation légère du nombre de cas par le CNR, sans doute liée à la sollicitation des biologistes par la DDASS. L'incidence estimée par EPIBAC a été divisée par 4 par entre 1987 et 2000. (Figure 3).

Tableau 1. Episode épidémiques de listériose en France (1992 - 2002)

Année	Nombre de cas	Aliment incriminé
1992	279	langue de porc en gelée
1993	38	Rillettes
1995	36	Brie
1997	14	pont l'évêque
1999	4	Epoisse
2000	10	Rillettes
2000	32	langue de porc en gelée
2002	11	Tartinette

Le dispositif de gestion du risque *Listeria* dans la filière agro-alimentaire qui a eu pour conséquence une diminution importante du taux de contamination des aliments mis sur le marché (5 % en 2000 contre 13 % en 1992, (source plan de surveillance DGCCRF) est sans doute un élément déterminant dans la diminution du nombre de cas de listériose en France. L'incidence en France en 2000 (4,3 cas/10⁹ hab) n'est pas loin du niveau de celle observée aux Etats-Unis (3,4 cas/10⁹ hab) et

¹⁰ Ce dispositif s'est encore amélioré en 1998 lorsque la listériose a été mise à DO, grâce, notamment, à l'interrogatoire alimentaire proposé systématiquement à tous les cas durant leur hospitalisation. L'interaction entre les 2 systèmes (notification par le CNR à l'InVS de tous les cas recensés et sollicitation du biologiste par la DDASS) a permis d'avoir très rapidement une bonne exhaustivité pour la DO et d'améliorer la remontée de souches au CNR.

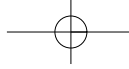


est même inférieure à celle rapportée par d'autres pays du nord de l'Europe. La difficulté actuelle est de maintenir cette vigilance dans une période d'incidence basse avec peu de cas épidémiques. L'exemple des Etats-Unis qui après plus de 10 ans de calme, ont connu à nouveau des épisodes épidémiques (2000 : >50 cas; 2002 : 46 cas), avec des répercussions économiques importantes, montre que la listériose reste un problème de santé publique que l'on ne peut négliger même en période d'incidence faible.

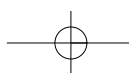
PERSPECTIVES

Nous avons vu que les épidémies de listériose se caractérisent souvent par la proportion élevée d'infection du SNC, surtout au début de l'épidémie. Le phénomène est probablement dû à un niveau élevé de la contamination du produit alimentaire responsable.

Nous avons vu aussi que la listériose est une maladie dont l'incidence est faible, mais dont la létalité est très élevée, comprise entre 20 et 30%. Le mode de contamination est essentiellement alimentaire. Or les aliments sont, de plus en plus, « européanisés », c'est-à-dire que les matières premières (poissons, lait, carcasses...) peuvent librement être collectées dans plusieurs pays de l'Union, être transformées dans un seul pays, avant que le produit fini ne soit redistribué à un ou plusieurs pays européens. Il est donc nécessaire de mettre en place une véritable surveillance européenne de la listériose. La surveillance européenne doit être microbiologique et épidémiologique [12]. Un système d'échange électronique d'images des profils de macrorestriction d'ADN est en cours d'évaluation et de mise en place, avec l'aide de l'Union Européenne, de façon à créer une base de données commune à tous les pays européens. Un système de surveillance épidémiologique commun, indispensable aux investigations des cas groupés dans les différents pays européens, a été proposé à l'Union européenne.

**BIBLIOGRAPHIE**

- 1 - BILLE J, ROCOURT J. WHO International multicenter *Listeria monocytogenes* subtyping study - Rationale and set-up of the study. *Int J Food Microbiol*, 1996, **32**, 251-262.
- 2 - BOERLIN P, ROCOURT J, PIFFARETTI, JC. Taxonomy of the genus *Listeria* by using multilocus enzyme electrophoresis. *Int J System Bacteriol*, 1991, **41**, 59-64.
- 3 - GELLIN BG, BROOME CV, BIBB WF, WEAVER RE, GAVENTA S, MASCOLA L. The epidemiology of listeriosis in the United States-1986. Listeriosis Study Group. *Am J Epidemiol*, 1991, **133**, 392-401.
- 4 - GOULET V. Investigation en cas d'épidémie de listériose. *Med Mal Infect*, 1995, **25S**, 184-190.
- 5 - GOULET V, LEONARD JL, CELERS J. Etude épidémiologique de la listériose humaine en France en 1984. *Rev Epidem Sante Publ*, 1986, **34** : 191-195
- 6 - GOULET V, DE VALK H, PIERRE O, STAINER F, ROCOURT J, VAILLANT V, JACQUET C, DESENCLO JC. Effect of prevention measures on incidence of human listeriosis, France, 1987-1997. *Emerg Infect Dis*, 2001, **7** : 983-9.
- 7 - GRAVES LM, SWAMINATHAN B. PulseNet standardized protocol for subtyping *Listeria monocytogenes* by macrorestriction and pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol*, 2001, **65**, 55-62.
- 8 - JACQUET CH., CATIMEL B, BROSCHE R, BUCHRIESER C, DEHAUMONT P, GOULET V, LEPOUTRE A, VEIT P, ROCOURT J. Investigations related to the epidemic strain involved in the French listeriosis outbreak in 1992. *Appl, Environ Microbiol*, 1995, **61**, 2242-2246.
- 9 - JACQUET CH, ROCOURT J. La listériose en France en 1999, données du Centre National de Référence des *Listeria*. *Feuillets Biol*, 2001, **42** : 19-21.
- 10 - JENSEN, A., P. GERNER-SMIDT, AND W. FREDERIKSEN. Risk factors of listeriosis in Denmark 1989-1990. *Ugeskr Laeger*, 1995, **157**, 1674-1678.
- 11 - MEAD PS, SLUTSKER L, DIETZ V, MCCAIG LF, BRESEE JS, SHAPIRO C, GRIFFIN PM, TAUXE RV. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis*, 1999, **5**, 607-25.
- 12 - PERRA A, MARTIN P, DE VALK H, JACQUET CH, GOULET V, VAILLANT V, DESENCLOS J-C. Etude de faisabilité d'une surveillance européenne des infections à *Listeria monocytogenes*. *Journées Scientifiques de l'InVS* (poster). Paris, 3-4 décembre 2002.
- 13 - PINNER RW, SCHUCHAT A, SWAMINATHAN B, HAYES PS, DEEVER KA, WEAVER RE, PLIKAYTIS BD, REEVES M, BROOME CV & WENGER JD. Role of foods in sporadic listeriosis.2. Microbiologic and epidemiologic investigation. *J Amer Med Assoc*, 1992, **267**, 2046-2050.
- 14 - ROCOURT J. Taxonomy of the genus *Listeria*. *Infect*. 1988, 16 suppl. 2, 89-91.
- 15 - ROCOURT J, CATIMEL B. Caractérisation biochimique des espèces du genre *Listeria*. *Zbl. Bakt. Hyg A*. 1985, **260**, 221-231.
- 16 - ROCOURT J, SCHRETTENBRUNNER A, SEELIGER HPR. Différenciation biochimique des groupes génomiques de *Listeria monocytogenes* (*sensu lato*). *Ann Microbiol (Inst. Pasteur)* 1983, **134A**, 65-71.
- 17 - SALLEN B, RAJOHARISON A, DESVARENNE S, QUINN F, MABILAT C. Comparative analysis of 16S and 23S rRNA sequences of *Listeria* species. *Int J Syst Bacteriol*, 1996, **46**, 669-674.
- 18 - SCHUCHAT, A, DEEVER KA, WENGER JD, PLIKAYTIS BD, MASCOLA L, PINNER RW, REINGOLD AL & BROOME CV. Role of foods in sporadic listeriosis. 1. Case-control study of dietary risk factors. *J Amer Med Assoc*, 1992, **267**, 2041-2045.
- 19 - SCHUCHAT A, SWAMINATHAN B, BROOME CV. Epidemiology of human listeriosis. *Clin Microbiol Rev*, 1991, **4**, 169-183.
- 20 - SEELIGER HPR, HÖHNE K. Serotyping of *Listeria monocytogenes* and related species. In "Methods in Microbiology", Bergan T and Norris J Eds, Academic Press, New York 1979, pp.33-48.
- 21 - SLUTSKER L, SCHUCHAT A. Listeriosis in humans. In "Listeria, listeriosis and food safety", Marcel Dekker Ed, New York 1999, pp.75-95.22 - WATKINS J, SLEATH KP. Isolation and enumeration of *L. monocytogenes* from sewage, sewage sludge, and river water. *J Appl Bacteriol*, 1981, **50**, 1-9.





BIFIDOBACTERIES, MARQUEURS SENSIBLES ET SPECIFIQUES DE LA CONTAMINATION FECALE BACTERIENNE

Henri BÉERENS¹

CERMIP, HELLEMES LILLE

La sécurité sanitaire est au premier plan de nos préoccupations actuelles. L'article écrit par le Professeur BEERENS apporte une possibilité d'optimisation des méthodes classiques de mise en évidence de pollution fécale.

RÉSUMÉ

Lors d'une recherche de contamination fécale, l'obtention de résultats exploitables oblige de passer en revue toutes les espèces microbiennes proposées pour la mettre en évidence : *E. coli*, enterococci, clostridia, lactobacilli, *Eubacteria*, *Bacteroides* et bifidobacteria. Les espèces du genre *Bifidobacterium* sont les plus répandues dans les matières fécales. Pour les identifier, il existe un milieu sélectif à l'acide propionique à pH 5.00 additionné de mupirocine ; de plus, certaines bifidobactéries sont rigoureusement spécifiques de l'homme et leur utilisation est donc hautement souhaitable pour mettre en évidence la contamination fécale. Une application aux produits carnés et au lait cru est envisagée.

La contamination fécale est impliquée dans de multiples problèmes de santé publique : épidémies mondiales sévères, intoxications alimentaires, infections hospitalières, présence de flores indésirables de l'alimentation. La dissémination de la flore s'opère par les chaussures (crottes de chien des trottoirs), les mains (en particulier dans les industries alimentaires de transformation), les vêtements (linge sale et mépris des règles d'hygiène), enfin, les bouses de vache qui contaminent inexorablement le lait cru.

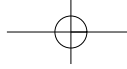
Parmi les quelques 400 espèces microbiennes présentes dans les matières fécales de l'homme réparties approximativement en 10^{12} bactéries par gramme, le nombre de genres dont le taux d'espèces est supérieur à $10^5/g$ est sensiblement de 7. Ce sont par ordre d'importance – en log de 10/g – ; *Bifidobacterium* : 9.9 ; *Bacteroides* : 9.8. *Eubacteria* : 9.3 ; *Enterobacteriaceae* : 7.7 ; lactobacilli : 6.5, enterococci : 5.5 ; clostridia : 5.5 (DRASAR, 1974) [5]. Chez l'animal, les chiffres donnés par BARNES (1986) [1] sont éloquentes : ce sont – en log de 10/g – : bifidobacteria : 9.8 chez le singe ; *Bacteroides* : 10.6 et *Eubacteria* : 10.2 chez le poulet ; *Enterobacteriaceae* : 8.1 chez le chien ; lactobacilli : 9.7 chez le hamster ; streptococci : 8.2 chez le rat ; clostridia : 8.2 chez le chat. Plus le nombre de bactéries est élevé, plus l'essaimage est important et plus la contamination fécale est grande. Si les genres représentés sont classés actuellement par ordre d'im-

portance, l'histoire de la bactériologie a fait que les « *Enterobacteriaceae* » furent les premières à être découvertes. En 1887, ESCHERICH [6] trouvait, le premier, dans les matières fécales du nourrisson un microbe qu'il dénomma « *Bacterium coli commune* ». Devant son universelle présence, SHARDINGER (1892) [17] suggérait d'utiliser ce microorganisme comme « index de pollution fécale ». La première édition de « Standard methods of water analysis » en 1905 est consacrée à cette bactérie. En 1914 le « Public Health Service » crée le « *Coliform group indicator* » et en 1919, CASTELLANI et CHALMERS [4] présentent le genre *Escherichia*, avec, comme espèce type, *Escherichia coli*.

Depuis ces propositions, aucune espèce ou genre bactérien ne s'est révélée utilisables pour affirmer une contamination fécale spécifique en bactériologie courante.

En 1960, SKOVGAARD [18] écrit : «... we need, to modernize our indicator principles in order to establish microbiological specifications ». Depuis lors, de multiples suggestions ont été proposées mais aucune ne s'est révélée satisfaisante. Plus récemment, LECLERC et MOSSEL (1989) [11] écrivent : « Les bifidobactéries auraient les caractéristiques d'un indicateur idéal de pollution fécale ».

¹ Centre d'enseignement et de recherche de microbiologie pharmaceutique, Lille (CERMIP), 39, rue Faidherbe, 59260 HELLEMES LILLE, téléphone & télécopie : 03 20 56 31 20, e-mail : hbeerens@free.fr



INDICATEURS POTENTIELS DE LA CONTAMINATION

Les genres ou espèces proposées (Tableau I) dans le contexte actuel sont les suivants :

A) *ESCHERICHIA COLI* – *ENTEROBACTERIACEAE*

Depuis la caractérisation du genre *Escherichia*, une cinquantaine d'espèces environ ont été décrites sous le nom d'*Enterobacteriaceae*. La plupart des genres se retrouvent dans l'intestin de l'homme et des animaux, d'où l'opportunité de les utiliser comme témoins de contamination fécale. Malheureusement, toutes les espèces décrites ne possèdent pas la spécificité intestinale absolue car nombreuses sont celles retrouvées dans l'environnement, par exemple, dans les milieux aquatiques ou sur les légumes, perdant ainsi toute leur valeur de témoin. Pour tenter de différencier les origines, le concept de « coliformes fécaux » a été proposé, relatif aux coliformes pouvant être cultivés à des températures élevées de l'ordre de 41°C à 44°C (LECLERC et MOSSEL 1989) [11]. Ces températures indicatrices sont discutables pour affirmer une contamination fécale absolue. JOUVE [10] (1996) écrit : « les coliformes cultivant à 44,5°C ne paraissent pas avoir de signification dans les produits végétaux. Cette propriété n'est pas une garantie d'origine fécale directe ». La plupart des normes, d'ailleurs, font mention, non pas de coliformes fécaux, mais d'*Escherichia coli*. A ce titre, aucun auteur n'ose affirmer l'authenticité de cette espèce en tant que contaminant fécal. JOUVE [10] écrit encore « *Escherichia coli* doit être considéré comme un indicateur permettant d'assurer le suivi de l'hygiène des manipulations du personnel de fabrication ». De ce fait d'autres germes ont été proposés tels que les *Enterobacteriaceae* totales (MOSEL, VISSIERR et CORNELISEN, 1963) [12] comme indicateurs d'une contamination entérique possible. Malgré ces incertitudes *Escherichia coli* est considéré comme traceur de la pollution des eaux conchyloles pour lesquelles un taux compris entre 230 et 2 600 *Escherichia coli* par 100 ml est toléré (POGGI R. (2001) [14].

B) ENTÉROCOQUES OU STREPTOCOQUES FÉCAUX.

Streptococcus faecalis, *Streptococcus faecium*, streptocoques du groupe D ; ils sont contenus dans les matières fécales humaines ou animales mais ne peuvent être considérées comme absolument spécifiques car ils peuvent se multiplier en dehors de l'intestin par exemple dans les eaux résiduaires, sur les végétaux, dans le sol non contaminé. Certes, ils sont résistants à la chaleur (à un chauffage de 30 minutes à 60°C) et au froid, au sel, à la bile, cultivent à 45°C, sont anaérobies facultatifs mais leur taux dans les matières fécales est relativement bas (10^4 - 10^5 /g). Ils sont considérés comme compléments de la contamination fécale, lorsqu'ils sont présents. Un manque de corrélation avec les coliformes fécaux les désavantage et néanmoins des déterminations de pollution fécale ont été récemment proposées par la recherche de streptocoques fécaux résistant

aux antibiotiques (HAGEDORN *et al.*, 1999) [8], PINTO, PIEROTTI, CANALE et REALI 1999) [13].

C) CLOSTRIDIA.

Cette espèce, en particulier *Clostridium perfringens* – se retrouve dans les matières fécales de l'homme et des animaux sous forme sporulée mais parfois à des taux n'excédant pas 10^2 /g. Ici encore cette espèce est présente partout aussi bien dans les sols du Pôle Nord, comme dans ceux du sommet du Mont-Blanc. PREVOT (1955) [15] écrit à son sujet : « C'est un élément obligatoire de la microflore de la terre ». De ce fait *C. perfringens* est éliminé des témoins de contamination fécale.

D) LACTOBACILLI.

En raison de leur diversification, donc de leur absence de spécificité, les lactobacilles ne peuvent être retenus comme indiquant une contamination fécale.

E) LES *EUBACTERIA*.

Elles sont considérées comme des anaérobies à Gram positif, non sporulées. Elles sont difficiles à mettre en évidence en raison de leur polyvalence ; de plus, elles sont peu résistantes. De multiples espèces sont représentées dans les matières fécales de l'homme et des animaux.

F) BACTÉROÏDES.

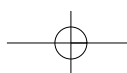
Ce sont des bactéries anaérobies, à Gram négatif, dont l'espèce type est *Bacteroides fragilis* dénommé BFG (*Bacteroides fragilis* Group). Les bactéries du genre *Bacteroides* ne se retrouvent que dans les matières fécales à un taux nettement supérieur à celui des autres espèces (10^{10} /g ou plus) ; ils sont d'une sensibilité et d'une spécificité exceptionnelles. Malheureusement, ce sont des bactéries « fragiles » qui, au moindre contact avec l'oxygène, sont tuées. La longévité fait aussi défaut : ils ne restent pas longtemps vivants, même en anaérobiose stricte. Ainsi tous les essais réalisés avec les espèces de ce genre sont restés infructueux (HACKNEY et PIERSON (1994) [7].

G) BIFIDOBACTERIA.

Les bactéries du genre *Bifidobacterium* sont les seules à répondre positivement aux critères définis pour le choix d'un témoin de contamination fécale : la sensibilité, la spécificité, la résistance aux agents extérieurs, la détermination de l'origine, la facilité de mise en évidence.

II - BIFIDOBACTÉRIES ET CRITÈRES D'EFFICACITÉ D'UN MARQUEUR DE CONTAMINATION

- Sensibilité (Tableau I). Elle dépend tout d'abord de la sensibilité du milieu utilisé pour la mise en évidence de la bactérie à rechercher. Les résultats obtenus avec les milieux sélectifs pour entérobactéries et bifidobactéries sont com-



**Tableau 1.** Appréciation de la valeur relative des contaminants fécaux proposés.

Bactéries proposées	Sensibilité	Spécificité	Identification de l'origine de la contamination	Résistance aux conditions extérieures
Entérobactéries 10 ⁶ /g	Bonne	Peu fiable	Impossible	Moyenne
Streptococci 10 ⁵ /g	Faible	Peu fiable	Impossible	Bonne
Clotridia 10 ³ -10 ⁶ /g	Faible	Nulle	Impossible	Bonne
Lactobacilli 10 ⁶ /g	Moyenne	Nulle	Impossible	Moyenne
Bifidobacterium 10 ⁸ /g	Très bonne	Peu fiable	Assurée	Bonne

parables : l'inoculation d'une seule bactérie sur les milieux préconisés suffit à obtenir une culture normale après incubation à la température optimale. Elle est ensuite fonction du taux de bactéries indicatrices présent dans le matériel contaminant. Ici, les bifidobactéries sont de loin, les espèces les plus nombreuses dans les matières fécales : 10⁹ à 10¹¹ /g contre 10⁶ pour les entérobactéries.

- Spécificité. Elle est absolue pour les bifidobactéries. Il existe actuellement 12 espèces humaines, 17 espèces animales. Jamais on ne trouve d'espèces animales chez l'homme et vice-versa ; l'origine de la contamination fécale est donc déterminée sans conteste.

- Résistance aux agents extérieurs. Il s'agit d'une condition importante pour que la survie des espèces recherchées soit conservée. On pourrait supposer qu'étant anaérobie, l'exposition à l'air les détruit rapidement. BÉÉRENS, GAVINI et NEUT [2] ont montré qu'après 4 jours de contact avec l'air (13 souches d'origine humaine sur 28 diminuaient de 1 log-1 et 45 souches animales sur 84 ne diminuaient que de 0.5 log-1). De plus, elles sont résistantes au froid : aucune diminution n'est observée après 1 mois de congélation à la température de - 18°C . L'absence de culture en-dessous de 20°C est aussi un paramètre sécurisant. Ce dernier paramètre permet d'avancer que la mise en évidence correspond à une contamination originelle : toute multiplication secondaire est écartée.

- Détermination de l'origine de la contamination. Aucune autre espèce microbienne impliquée dans la contamination fécale ne permet de conclure à une origine humaine ou animale de la transmission. En revanche, les *Bifidobacterium*

permettent de distinguer non seulement la provenance humaine (12 espèces) ou animale (17 espèces) mais mieux encore l'espèce animale en cause.

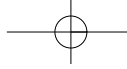
III - MÉTHODE D'ISOLEMENT ET D'IDENTIFICATION DES BIFIDOBACTÉRIES

Isolement : la méthode consiste soit à enrichir le prélèvement en inoculant le milieu sélectif liquide de BEERENS [3] contenant 5 g pour 1 000 d'acide propionique ajusté à pH 5.00 et 0.80 g pour 1 000 de mupirocine suivi d'un repiquage sur milieu Columbia gélosé soit à cultiver sur milieu cerveau-cœur à l'acide propionique à pH 5 . 0 0 additionné de 0.80 g pour 1 000 de mupirocine solidifié par de l'agar, en surface, en anaérobiose.

Formule des milieux :

Milieu d'enrichissement : bouillon cerveau-cœur déshydraté : 37 g ; glucose : 5 g ; citrate ferrique : 0.50 g ; chte de cystéine : 0.50 g ; eau distillée : 1 000 mL. Dissoudre les ingrédients par ébullition. Laisser refroidir. Ajouter 5 mL d'acide propionique, ajuster à pH 5.00, ajouter 0.80 g de mupirocine. Répartir soit en tubes à raison de 9 mL par tube, soit en flacons à raison de 90 mL par flacon. Ne se stérilise pas.

Milieu d'isolement : bacto-Columbia agar base (Difco) : 44 g ; glucose : 5 g ; chte de cystéine : 0.5 g ; eau distillée : 1 000 mL. Dissoudre les ingrédients par ébullition. Ajuster le pH à 7.2 Stériliser à 121°C pendant 15 minutes. Couler en boîtes de Petri. Le milieu est utilisé immédiate-



ment après sa préparation. Trois boîtes sont inoculées en vue de l'isolement des souches.

Identification :

1. Identification du genre *Bifidobacterium* par la mise en évidence de l'enzyme F_6PPK [Fructose 6-Phosphate Phospho-Kétolase] (SCARDOVI) [16]. Elle est effectuée à partir d'une suspension des cultures recueillies à la surface du milieu d'isolement, cette enzyme transforme le fructose 6-phosphate en acétyl phosphate.

La suspension dans le tampon phosphate (a) est obtenue à partir de la première boîte d'isolement. La densité des bactéries correspond à un culot de 10 mL de culture de 48 heures en bouillon du type Columbia. Soniquer à froid. Ajouter 0.25 mL de réactif (b) et de réactif (c). Ajouter 0.25 mL de solution de fructose-6-phosphate (d). Passer au Vortex. Incuber 30 minutes à 37°C. Ajouter 1.5 mL de réactif (e) pour arrêter la réaction. Passer au Vortex. Abandonner 10 minutes à la température ambiante et ajouter 1 mL de réactif (f) (TCA) et 1 mL de réactif (g). Ajouter 1 mL de réactif (h). Mélanger. Passer au Vortex. Une réaction positive se traduit par une coloration violette. Un tube contenant tous les réactifs, mais en l'absence de solution (d), sert de témoin.

Réactifs : a) Tampon phosphate PO_4H_2K : 0.05 M (pH : 6.5) + cystéine chte à 500 mg/L : 1 mL. b) Solution de fluorure de sodium (Na F) : 3 mg/mL d'eau distillée. c) Solution d'iodoacétate de K ou Na à : 5 mg/mL d'eau distillée. d) Solution de fructose 6-phosphate sel de sodium : 80 mg/mL d'eau distillée. e) Solution de chte d'hydroxylamine : 13 g pour 100 mL d'eau distillée fraîchement neutralisée à pH 6.5 avec de la soude. f) Solution d'acide trichloracétique (TCA) : 15 g pour 100 mL d'eau distillée. g) Solution d'acide chlorhydrique (4N). h) Chlorure ferrique ($FeCl_3, 6H_2O$) à 5 % dans l'acide chlorhydrique (ClH) à 0.1 N.

Lorsque la réaction est positive la présence de *Bifidobacterium* est imminente. L'isolement des souches peut être pratiqué à partir des colonies spécifiques.

2. Identification des espèces : technique classique utilisant les caractères décrits par SCARDOVI [16]. Dans ce cas la galerie API est utile pour établir le diagnostic d'espèces. A noter que la morphologie « bifide » ou bactérie ramifiée est loin d'être générale. L'aspect corynébactérie est fréquent. L'hybridation ADN-ADN : cette technique n'est commercialisée que pour les souches humaines sous le nom de « ribotechnologie ».

IV - RÉSULTATS : EXEMPLES D'APPLICATION PRATIQUE

A) VIANDE ET PRODUITS CARNÉS

L'échantillonnage a été effectué, d'une part au niveau d'un atelier de désossage mécanique et d'autre part de désossage manuel.

Désossage mécanique : porc : *B. thermophilum* : 7 +/10 ; *B. pseudolongum* : 2 +/10 ; *Bifidobacterium* sp. : 1+/10. Dinde : *B. pseudolongum* : 5 +/5 associé à *B. thermophilum* : 2 fois.

Désossage manuel : parmi sept porcs examinés, les espèces suivantes ont été identifiées : *B. thermophilum* 3 fois, *B. animalis* 2 fois, *B. pseudolongum*, *B. choerinum*, *Bifidobacterium*. sp. 1 fois. Sept mélanges de viande hachée pour saucisse ont été examinés : *B. thermophilum* a été trouvé 3 fois, *B. pseudolongum* 2 fois, *Bifidobacterium*. sp. 1 fois. Il ressort de ces examens qu'aucune contamination fécale humaine n'a été identifiée : toutes sont d'origine animale.

Devant de tels résultats 10 contaminations artificielles de steaks hachés ne contenant ni *Escherichia coli*, ni *Bifidobacterium* ont été réalisées manuellement par frottement avec divers instruments de nettoyage de la peau de bœuf ou de poils de porc. L'un d'entre eux révéla la présence de *Bifidobacterium longum*, donc de provenance humaine : les 9 autres hébergeaient des espèces animales : *B. thermophilum* : 7 fois, *B. pseudolongum* : 3 fois, *B. suis* : 1 fois, *B. pseudocatenulatum* : 1 fois.

B) LAIT CRU ET FROMAGE AU LAIT CRU

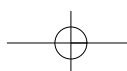
Cent échantillons de lait prélevés à la mamelle de vaches provenant de 10 fermes ont été examinés par la technique précitée. 98 (98 %) renfermaient *Bifidobacterium pseudolongum* var. *globosum* à des taux variant de 1 à 1 000 par mL. La même espèce a été systématiquement retrouvée dans les bouses des vaches ayant fourni le lait ($10^7 - 10^8$ /g). *Escherichia coli* recherché parallèlement aux bifidobactéries était présent à raison de 76 %.

CONCLUSION

L'ensemble des données rappelées ici suggère le bien fondé d'adopter les bifidobactéries comme marqueurs de la contamination fécale. Il faut souligner que le problème du lait cru n'est mentionné dans aucun texte fixant les normes françaises, européennes ou internationales. Il est cependant évident qu'une telle recherche s'impose car cette contamination se trouve à l'origine de certaines épidémies du type listériose ou salmonellose. Une modification des spécifications serait bénéfique pour la sécurité alimentaire.

Mots clés :

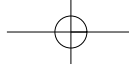
Contamination fécale – Bifidobactéries.





RÉFÉRENCES

- 1- BARNES EM. Anaerobic Bacteria of the Normal Intestinal Microflora of Animals. *In Anaerobic Bacteria in Habitats other than Man* 1986. Ed. By Barnes EM and Mead GC. Blackwell Scientific Publications ; **13**, 225-238
- 2 - BÉERENS H, GAVINI F and NEUT C, Effect of exposure to air on 84 strains of Bifidobacteria, *Anaerobe*, 2000, **6**, 65-67
- 3 - BÉERENS H, NEUT C, DUBREUIL L. Appréciation de la contamination fécale du lait cru et du fromage au lait cru par dénombrement des bifidobactéries. *Société Française de Microbiologie, Anaérobies*, 2003, Marseille, 1-5
- 4- CASTELLANI A et CHALMERS AJ. *Manual of Tropical medicine 3 rd Ed. Williams Wood and CO, New York.*
- 5 - DRASAR BS. Some Factors Associated with Geographical Variations in the Intestinal Microflora. *In The normal microbial flora of man 1974.* Ed. Skinner FA and Carr JG. Academic Press London New York, 1974 ; **3** : 187-196
- 6 - ESCHERICH TH. 1887. Central. Bacteriol. Parasitenk., **1**, p. 705
- 7 - HACNEY CR et PIERSON MD, *Environmental indicators and Shellfish Safety*, Chapman et Hall, New York, London, 1994
- 8 - HAGEDORN Ch, ROBINSON SL, FILTZ JR, GRUBBS SM, ANGIER TA and RENEAU R.B. Jr, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, **65**, 12, 5522-5531
- 9 - HOBBS BC et CHRISTIAN JHB. *The Microbiological Safety of Food*, 1973
- 10 - JOUVE JL, *La qualité microbiologique des aliments. Maîtrise et critères.* CNERNA-CNRS, 1996, p. 74, 83
- 11 - LECLERC H et MOSSEL DAA (1989), *Microbiologie, Ed. Doin Paris*, 1989, p. 365 et 371
- 12 - MOSSEL DAA, VISSER et Cornellsen M, 1963, The examination of foods for Enterobacteriaceae using a test of the type generally adopted for the detection of salmonellae. *J. Appl. Bacteriol.* **26**, 444-452
- 13 - PINTO B, PIEROTTI R., CANALE G and REALI D, The Society for Applied Microbiology. *Letters in Applied Microbiology*, 1999, **29**, 258-263
- 14 - POGGI R. Microbiologie des coquillages. Journée scientifique Institut Pasteur de Lille, mai 2001
- 15 - PREVOT AR, Biologie des maladies dues au anaérobies, Ed. *médicales Flammarion*, 1955
- 16 - SCARDOVI V, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* SNEATH PH et al. Eds. Williams & Wilkins, Baltimore, 1986, **2**, 1418
- 17 - SHARDINGER F. Ueber das vorkommen gahrung erregender spaltzpilze in trink-wasser und ihre bedeutung für die hygienische. *Wien. Klin. Wochschr.* 1892, **5**, 403
- 18 - SKOVGAARD N. Legislation and Non-Legal, *Specification in the Field of Food Microbiology and Hygiene* 1973, 347-351



LES LACTOBACILLES ET L'OPPORTUNISME

Patrick TAILLIEZ
INRA, Jouy-en-Josas¹

*Les lactobacilles sont connus pour leur action bénéfique sur la santé humaine et leur utilisation dans le domaine agro-alimentaire, comme la préparation des yaourts avec *Lactobacillus bulgaricus*. L'auteur² nous présente un aspect complémentaire du rôle de ces bacilles et nous explique comment un germe peut devenir opportuniste dans des conditions particulières : immunodépression, etc.*

RÉSUMÉ

Les lactobacilles appartiennent au groupe des bactéries lactiques défini par ORLA-JENSEN en 1919 comme un ensemble naturel de bactéries à Gram positif, immobiles, non sporulantes, en forme de coques ou de bâtonnets et qui fermentent les hydrates de carbone en acide lactique comme métabolite principal. Depuis, de nombreux travaux ont montré l'intérêt des lactobacilles en santé et en nutrition humaine. Cependant, les lactobacilles peuvent se trouver, dans certains cas, en conditions favorables pour coloniser un environnement qui ne leur est pas accessible en temps normal. Aucun exemple de virulence des lactobacilles n'est connu à ce jour mais plusieurs exemples d'opportunisme des lactobacilles existent : les caries dentaires, les infections cliniques comme conséquences de maladies graves, d'immuno-dépression ou d'actes chirurgicaux, l'altération de la bière et de produits alimentaires conservés sous vide. Ils montrent comment des modifications de l'environnement peuvent conduire certains groupes bactériens connus pour leurs effets bénéfiques à devenir opportunistes.

Les lactobacilles appartiennent au groupe des bactéries lactiques. Le concept de bactéries lactiques s'est développé au début des années 1900, suite aux travaux de Pasteur sur la fermentation lactique en 1857 et au premier isolement en culture pure de *Bacterium lactis* par LISTER en 1873. La première définition de ce groupe était basée sur l'aptitude de ces microbes à fermenter et coaguler le lait. Il incluait alors les coliformes. La description de lactobacilles par BEIJERINCK en 1901 et leur classement dans les bactéries à Gram positif permirent alors de les distinguer des coliformes. Enfin, selon la définition proposée par ORLA-JENSEN en 1919 [1], les bactéries lactiques forment un groupe naturel de bactéries à Gram positif, immobiles, non sporulantes, présentant un aspect de coques ou de bâtonnets et qui fermentent les hydrates de carbone en acide lactique comme métabolite principal. Cette définition pourrait inclure de nombreuses autres bactéries répondant à ces critères dont celles du genre *Listeria*. Or les bactéries lactiques ont plutôt une connotation positive pour la santé humaine. Au début du XX^{ème} siècle, Elie METCHNIKOFF avait développé une théorie selon laquelle la longévité des Bulgares était probablement liée au fait qu'ils consommaient de grandes quantités de yaourts contenant *Lactobacillus bulgaricus*. Il pensait que cette bactérie réprimait le développement de microbes putréfiants, présents dans le côlon, repoussant ainsi le vieillissement et allongeant, du même coup, la durée de vie des Bulgares. Cette proposition provoqua de vives réactions : la longévité est fonction de bien d'autres facteurs et les Bulgares ne vivent pas statistiquement plus longtemps que les peuples des autres pays. Par la suite, de nouveaux

travaux sont venus renforcer l'idée que les yaourts étaient d'excellents aliments bénéfiques pour la santé de l'homme et c'est sans doute encore aujourd'hui cette connotation positive qui caractérise le mieux ce groupe bactérien.

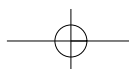
COLONISATION DE NICHES ANATOMIQUES

Dans la course pour la vie, les microorganismes ne cessent de développer différentes stratégies afin de coloniser de nouvelles niches écologiques leur permettant de vivre et de se perpétuer. A ce titre, les procaryotes et les *Archaea* en particulier, sont les champions de l'adaptation aux milieux extrêmes [2].

Les lactobacilles ne font pas exception et, bien que n'ayant pas acquis ou développé des facteurs de virulence connus, ils sont capables, dans certains cas, de coloniser un environnement qui ne leur est pas habituellement accessible. Par exemple, ces bactéries commensales du tube digestif de l'homme et des animaux [3, 4], sont présentes normalement en faible nombre dans les microflore buccales saines de l'homme où elles colonisent les muqueuses et la salive [5, 6]. Cependant, suite à la formation de lésions dentaires, les lactobacilles vont trouver dans les caries des lieux favorables pour se développer, acidifier localement l'environnement et produire des molécules inhibitrices (acides, H₂O₂, bactériocines) qui rendent ces lieux inhospitaliers pour les autres microorganismes commensaux [7, 8]. De ce fait, les lactobacilles sont considérés aujourd'hui comme des facteurs de prédisposition au développement des caries. De même, ces bactéries vont trouver dans les milieux hospitaliers,

¹ Unité d'Ecologie et de Physiologie du Système Digestif, Institut national de recherche agronomique, Domaine de Vilvert - 78352 Jouy-en-Josas cedex.
E-mail tailliez@diamant.jouy.inra.fr. Tél. 01-34-65-20-76. Fax 01-34-65-24-92

² Cours IP 1984.





des conditions favorables à la colonisation d'environnements auxquels ils n'ont pas accès en temps normal. En effet, les infections à lactobacilles sont extrêmement rares chez l'homme sain car ces bactéries ne sont pas capables d'y initier des infections [9]. Par contre, les patients affaiblis par la maladie, l'immuno-dépression ou une intervention chirurgicale, et bien souvent traités par des antibiotiques à large spectre (et des glycopeptides) vont constituer un terrain favorable à la colonisation par les lactobacilles, en particulier ceux présents dans leur tube digestif, pouvant conduire à des endocardites, des bactériémies, des péritonites et des abcès [10-17]. Cependant, comme dans le cas des caries dentaires, les infections à lactobacilles doivent être considérées comme des conséquences possibles d'états de santé préalablement dégradée. Les mécanismes conduisant à ces infections sont multifactoriels. Les traitements par antibiotiques utilisés dans certains cas de maladies graves, d'immuno-dépression et parfois de chirurgie vont détruire les groupes bactériens sensibles de la microflore digestive et permettre aux lactobacilles naturellement résistants à ces antibiotiques de se développer et d'occuper une place dominante alors qu'en situation normale, ils constituent une population sous-dominante [18]. La majorité des souches de lactobacilles est résistante au métronidazole et nombreuses sont celles qui résistent à la céfoxitine, la vancomycine et la ciprofloxacine. De plus, la résistance des lactobacilles à certains antibiotiques varie selon les souches [19]. La majorité est cependant sensible aux pénicillines, à l'ampicilline, la gentamicine, l'érythromycine et la tétracycline. Cependant, pour ces deux derniers, des plasmides porteurs de gènes de résistance ont été trouvés dans certaines souches [20]. Ces derniers antibiotiques sont plus particulièrement utilisés car efficaces pour traiter ces infections à lactobacilles [21-23]. En plus de cette sélection par antibiothérapie, d'autres caractères semblent être importants pour favoriser ces infections à lactobacilles comme l'aptitude de certaines souches à agréger les plaquettes sanguines [24-26], à exprimer certaines activités enzymatiques favorables à la croissance bactérienne *in vivo* (glycosidases et arylamidases) [27] et à adhérer à la muqueuse intestinale [26, 28]. Toutes les souches d'une même espèce ne possèdent pas l'ensemble des caractères favorisant

les infections opportunistes [16, 29, 30]. Il paraît donc important d'étudier la diversité des souches et des mécanismes mis en jeu au cours des infections afin de mieux définir les cribles de sélection de souches bénéfiques pour l'alimentation et la santé humaine [31, 32].

EFFETS NOCIFS OU BÉNÉFIQUES ?

Depuis des milliers d'années, les lactobacilles et les bactéries lactiques en général, jouent un rôle prépondérant dans la conservation et la transformation des matières premières alimentaires [33, 34]. Ces fermentations traditionnelles et industrielles augmentent la durée de vie des produits, leur qualité organoleptique et sanitaire, leur valeur nutritionnelle et leur digestibilité [35]. Elles réduisent aussi dans certains cas, la toxicité de leurs composants (élimination des glucosides cyanogènes du manioc par acidification [36]). Ainsi, la fermentation lactique des céréales, des tubercules, du lait, du poisson et de la viande assure-t-elle l'alimentation des populations dans de nombreux pays [37-39]. Dans le domaine alimentaire, les lactobacilles peuvent aussi jouer le rôle de flore d'altération. En effet, dans les produits à base de viande ou de poisson emballés sous vide, certaines espèces de lactobacilles vont trouver un environnement anaérobie favorable à leur développement alors qu'ils jouent rarement ce rôle de flore d'altération sur les produits frais. Dans cette situation, des métabolites indésirables comme les amines biogènes sont notamment induits [40, 41]. Enfin en brasserie, la résistance de certaines souches de lactobacilles aux substances inhibitrices naturelles du houblon leur permet de se développer dans la bière et d'en modifier les caractères organoleptiques [42].

Les effets bénéfiques des lactobacilles en santé et en nutrition humaine sont connus depuis des milliers d'années. A l'évidence, ce groupe de bactéries ne possède pas de caractères pathogènes affirmés. A travers les quelques exemples présentés dans cette revue, il faut retenir que, comme tout autre organisme vivant, les lactobacilles se montreront aptes à coloniser et envahir des environnements nouveaux dès que ces derniers présenteront des caractères qui rendent cette colonisation possible.

ABSTRACT

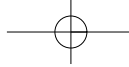
Lactobacilli belong to the group of lactic acid bacteria characterized by ORLA-JENSEN in 1919 as a natural group of Gram positive, non-motile, non-sporeforming, rod- or coccus-shaped organisms that ferment carbohydrates to form chiefly lactic acid. Since then, many studies have shown the potential of lactobacilli in human health and nutrition. Despite no virulent *Lactobacillus* has been described, several examples of opportunism including lactobacilli are known: dental caries, clinical infections as consequences of severe underlying diseases, immuno-depression or surgical interventions, and spoilage of food products. These examples show how modifications in the environment should lead groups of bacteria considered as safe to develop opportunistic behaviours.

Mots-clé :

lactobacille, opportuniste, infections cliniques, altération des aliments

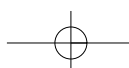
Remerciements

Les suggestions d'Alain CHOPIN, Directeur de Recherche au Laboratoire de Génétique microbienne, INRA Jouy-en-Josas, lors de la rédaction de ce manuscrit ont été vivement appréciées.

BIBLIOGRAPHIE³

- 1 - ORLA-JENSEN S. AF HØST and Son, Koeniglicher Hofboghhandel, Copenhagen; 1919.
- 2 - KASHEFI K, LOVLEY DR.. *Science*, 2003, **301**, 934.
- 3 - TANNOCK GW. In: Wood BJB (Ed), *The lactic acid bacteria, vol. 1: The lactic acid bacteria in health and disease*. Elsevier Applied Science, London, 1992, pp. 21-48.
- 4 - TANNOCK GW. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2002, **22**, 231-253.
- 5 - AHUMADA Mc, BRU E, COLLOCA Me et al. *J Oral Sci*, 2003, **45**, 1-9.
- 6 - AHRNÉ S, NOBAEK S, JEPSSON B et al. *J Appl Microbiol*, 1998, **85**, 88-94.
- 7 - HOGG SD. In: Wood BJB (Ed) *The lactic acid bacteria, vol. 1: The lactic acid bacteria in health and disease*. Elsevier Applied Science, London, 1992, pp. 115-148.
- 8 - SMITH SI, AWEH AJ, COKER AO et al. *Microbios*, 2001, **105**, 77-85.
- 9 - SAXELIN M, CHUANG NH, CHASSY B et al. *Clin Infect Dis*, 1996, **22**, 564-566.
- 10 - HUSNI RN, GORDON SM, WASHINGTON JA et al. *Clin Infect Dis*, 1997, **25**, 1048-1045.
- 11 - AGUIRRE M, COLLINS MD. *J Appl Bacteriol*, 1993, **75**, 95-107.
- 12 - FELTEN A, BARREAU C, BIZET C et al. *J Clin Microbiol*, 1999, **37**, 729-733.
- 13 - GASSER F.. *Bull Inst Pasteur*, 1994, **92**, 45-67.
- 14 - KLEIN G, ZILL E, SCHINDLER R et al. *J Clin Microbiol*, 1998, **36**, 1781-1783.
- 15 - LARVOL L, MONIER A, BESNIER P et al.. *Gastroenterol Clin Biol*, 1996, **20**, 193-195.
- 16 - RAUTIO M, JOUSIMIES-SOMER H, KAUMA H et al. *Clin Infect Dis*, 1999, **28**, 1159-1160.
- 17 - SCHLEGEL L, LEMERLE S, GESLIN P. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1998, **17**, 887-888.
- 18 - SGHIR A, GRAMET G, SUAU A et al. *Appl Environ Microbiol*, 2000, **66**, 2263-2266.
- 19 - MÄNDAR R, LOIVUKENE K, KARKI T et al. *Scand J Infect Dis*, 2001, **33**, 344-349.
- 20 - RINCKEL LA, SAVAGE DC. *Plasmid*, 1990, **23**, 119-125.
- 21 - FRUCHART C, SALAH A, GRAY C et al. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1997, **16**, 681-684.
- 22 - JONES SD, FULLERTON DA, ZAMORA MR et al. *Ann Thorac Surg*, 1994, **58**, 887-889.
- 23 - STURDEE S, BAINTON R, BARNHAM M. *J Infect*, 1998, **37**, 184-186.
- 24 - HARTY DW, PATRIKAKIS M, HUME EB et al. *J Gen Microbiol*, 1993, **139**, 2945-2951.
- 25 - HARTY DW, OAKEY HJ, PATRIKAKIS M et al. *Int J Food Microbiol*, 1994, **24**, 179-189.
- 26 - KIRJAVAINEN PV, TUOMOLA EN, CRITTENDEN RG et al. *Infect Immun*, 1999, **67**, 2653-2655.
- 27 - OAKEY HJ, HARTY DW, KNOX KW. *J Appl Bacteriol*, 1995, **78**, 142-148.
- 28 - APOSTOLOU E, KIRJAVAINEN PV, SAXELIN M et al. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2001, **31**, 35-39.
- 29 - KLEIN G, HACK B, HANSTEIN S et al. *Int J Food Microbiol*, 1995, **25**, 263-275.
- 30 - MOLIN G, JEPSSON B, JOHANSSON ML et al. *J Appl Bacteriol*, 1993, **74**, 314-323.
- 31 - CHARTERIS WP, KELLY PM, MORELLI L et al. *J Food Prot*, 1998, **61**, 1636-1643.
- 32 - DANIELSEN M, WIND A. *Int J Food Microbiol*, 2003, **82**, 1-11.
- 33 - CAPLICE E, FITZGERALD GF. *Int J Food Microbiol*, 1999, **50**, 131-149.
- 34 - ROSS RP, MORGAN S, HILL C.. *Int J Food Microbiol*, 2002, **79**, 3-16.
- 35 - CHAVAN JK, KADAM Ss. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1989, **28**, 349-400.
- 36 - IKEDIABI CO, ONYIKE E. *Agric Biol Chem* 1982, **46**, 1667-1669.
- 37 - KANBE M. In: Nakazawa Y, Hosono A (Eds) *Functions of fermented milks: Challenges for the health sciences*. Elsevier Applied Science, London, 1992, pp. 41-60.
- 38 - HOSONO A. In: Nakazawa Y, Hosono A (Eds) *Functions of fermented milks: Challenges for the health sciences*. Elsevier Applied Science, London, 1992, pp. 61-78.
- 39 - COOKE RD, TWIDDY DR, REILLY PJA. *FEMS Microbiol Rev*, 1987, **46**, 369-79.
- 40 - EDWARDS RA, DAINTY RH, HIBBARD CM et al. *J Appl Bacteriol*, 1987, **63**, 427-434.
- 41 - LEISNER JJ, MILLAN JC, HUSS HH et al. *J Appl Bacteriol*, 1994, **76**, 417-423.
- 52 - RICHARDS M, MACRAE RM. *J Inst Brew*, 1964, **70**, 484-488.

³ Une liste complète avec les noms de tous les auteurs et le titre des articles est disponible sur demande au secrétariat de l'AAEIP.





LA CIGUATERA : TOXINES ET DETECTION PREVENTIVE

Serge PAUILLAC¹, Taiana DARIUS^{2*} * et Mireille CHINAIN^{2,3**}

** Institut Pasteur, Paris

Institut Louis Malardé, Tahiti.

Les auteurs retracent l'histoire de la découverte des agents responsables de la ciguatera et décrivent l'étude des mécanismes de leur toxinogénèse, ce qui permet de comprendre comment les poissons de Polynésie peuvent être parasités et intoxiquer l'homme. Des tests de détection préventive sont en cours de développement.

RÉSUMÉ

La ciguatera est le terme qui désigne à la fois un phénomène d'écotoxicologie tropicale touchant les écosystèmes coralliens et le syndrome clinique polymorphe qui en résulte. Le point de départ du maillon ciguatérique est un dinoflagellé benthique du genre *Gambierdiscus* synthétisant des toxines très puissantes qui s'accumulent dans les muscles et les viscères de poissons herbivores et de leurs prédateurs. En raison de l'incidence sanitaire et surtout des répercussions économiques et sociales de la ciguatera dans les régions insulaires du globe, et en particulier de l'outre-mer français, plusieurs méthodes de détection préventive ont été proposées, basées sur des techniques de dosage physico-chimique, pharmacologique et immunologique des toxines. Alternativement la recherche d'une action en amont, c'est à dire au niveau des dinoflagellés toxinogènes est depuis peu envisagée. La combinaison de ces deux voies d'approche ouvre de nouvelles perspectives aux chercheurs impliqués dans ces programmes de recherche.

INTRODUCTION

La ciguatera fait partie d'un vaste ensemble de syndromes survenant après consommation de produits de la mer. La responsabilité en incombe à plusieurs familles de phycotoxines de faible taille (MM de 250-3500 Da) et de nature diverse (alcaloïdes, polyéthers, acides aminés non essentiels, voire peptides), élaborées par une multitude de micro-organismes différents (microalgues eucaryotes, diatomées ou cyanobactéries), puis transmises et biotransformées le long de la chaîne alimentaire marine. Par opposition aux autres syndromes essentiellement liés aux coquillages [2], la ciguatera est une intoxication consécutive à la consommation de poissons de récifs coralliens appartenant à des espèces habituellement comestibles, de niveaux trophiques variés et en parfait état de fraîcheur. Elle sévit dans la plupart des zones récifales de la ceinture intertropicale des 3 océans (Pacifique, Atlantique et Indien) et se caractérise par l'apparition de troubles gastro-intestinaux, neurologiques et cardio-vasculaires dans les affections graves. Son incidence mondiale (estimée entre 20.000 et 50.000 cas par an) la maintient au premier rang des intoxications alimentaires causées par les produits de la mer, mais ce chiffre pourrait être largement sous-estimé bien que ce soit une maladie à déclaration obligatoire dans de nombreux pays. Les premières descriptions de la maladie remontent à l'époque d'Alexandre le Grand (IV^{ème} siècle avant J-C). Plus tard, les grands explorateurs marins du XVI^{ème} siècle en font également état dans leur carnet

de bord. En 1866, le médecin cubain Felipe POEY nomme cette intoxication alimentaire 'ciguatera', terme qui provient du nom vernaculaire " cigua " désignant un gastéropode marin responsable d'intoxications alimentaires à Cuba. Cependant l'origine véritable du phénomène n'est connue que depuis le milieu des années 70 et met en cause une algue microscopique du genre *Gambierdiscus* et non le gastéropode. Les études physico-chimiques et bio-écologiques du milieu marin polynésien ont contribué à la mise en évidence de la chaîne alimentaire ciguatérique (Fig. 2) et de la composante spatio-temporelle du phénomène.

La forte incidence (environ 10 cas pour 100.000 habitants/an) et l'impact socio-économique de la ciguatera en Polynésie Française ont entraîné, depuis une vingtaine d'années déjà, l'étude des toxines ciguatériques du point de vue chimique, éco-toxicologique, pharmacologique et immunochimique à l'Institut Louis Malardé (ILM) de Tahiti. Parallèlement, l'observation *in natura* des conditions d'apparition des efflorescences algales à *Gambierdiscus* ainsi que les études menées *in vitro* permettent de mieux appréhender les mécanismes complexes de la toxinogénèse (collaborations avec le Réseau International des Instituts Pasteur). L'objectif final de ce programme d'étude multidisciplinaire est la mise au point de tests de détection préventive des toxines ciguatériques directement dans les produits de la pêche et la diminution voire l'élimination des risques d'intoxications ciguatériques.

¹ Cours IP 1985. Département de Chimie et Biologie Structurale, Institut Pasteur, Paris, France. Adresse de correspondance : Dr. Serge PAUILLAC, Réseau International des Instituts Pasteur - Institut Pasteur, 25, rue du Dr. Roux, 75724 Paris Cedex 15-France. Tél. : 01 45 68 82 42 - téléc. : 01 45 68 89 52. E-mail : pauillac@pasteur.fr

² Stagiaire IP 1995-1998, Laboratoire de Recherches sur les Microalgues Toxiques, Institut Louis Malardé, Tahiti, Polynésie française.

³ qui a accouché le 4 septembre dernier d'un petit Maxime et que nous félicitons vivement.

LA CHAÎNE TROPHIQUE CIGUATÉRIQUE

Les agressions naturelles et artificielles des écosystèmes coralliens entraînent la prolifération d'une algue microscopique unicellulaire *Gambierdiscus toxicus* (*G. toxicus*) isolée pour la première fois dans l'archipel des îles Gambier [3]. Cette algue unicellulaire (Fig. 1) appartenant à la classe des *Dinophyceae*, ordre des *Péridiniales*, famille des *Heteraulacaceae*, se développe généralement au sein des gazons mixtes à *Jania* et *Amphiroa* recouvrant les zones coralliennes mortes.

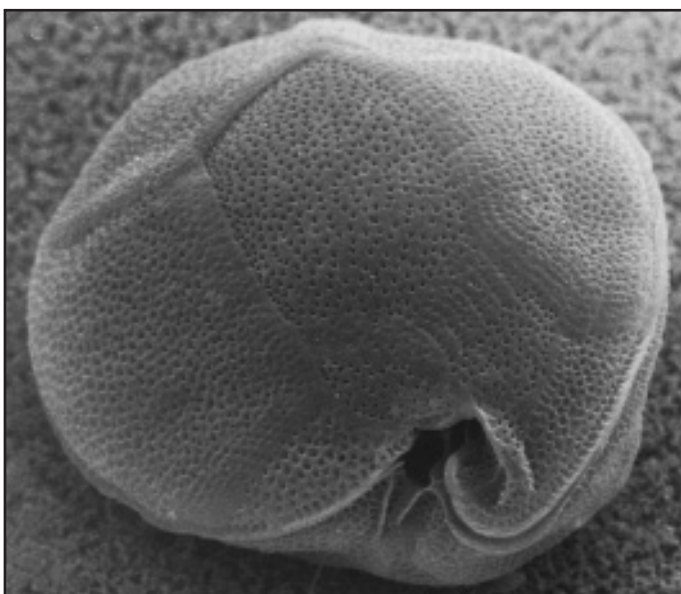
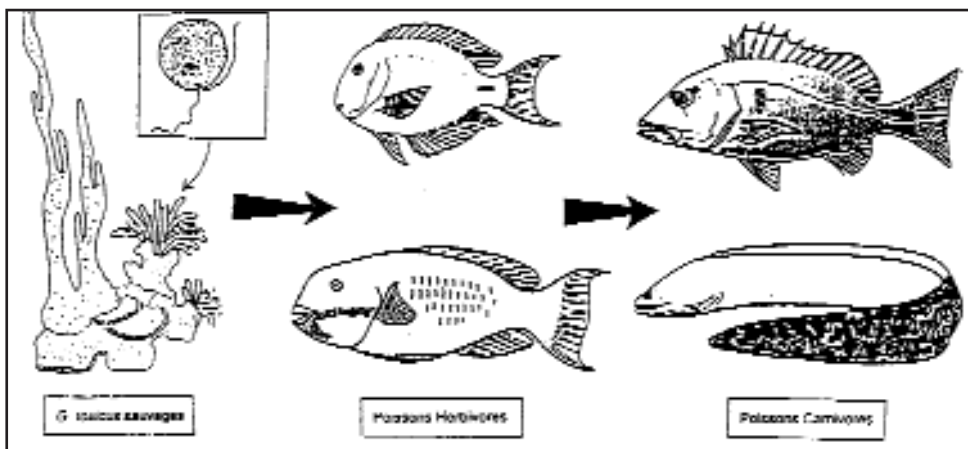


Figure 1. Vue hypothécale en microscopie électronique à balayage de *Gambierdiscus toxicus*. (photo M. CHINAÏN). *Gambierdiscus toxicus* est un dinoflagellé de la famille des *Heteraulacaceae* [1]. La cellule est de forme lenticulaire, sa taille varie de 25 à 60 μm pour le diamètre vertical et de 40 à 140 μm pour le diamètre transversal. Sa thèque est composée de 33 plaques celluloseuses et son cytoplasme renferme un dinocaryon spécifique des *Dinophyceae*.

Normalement de faible endémisme, *G. toxicus* se met à proliférer en masse (phénomène d'efflorescence algale) à la faveur de conditions environnementales favorables (température et salinité de l'eau, lumière, substrat macroalgal, facteurs trophiques, etc.). Les toxines élaborées par ce dinoflagellé se transmettent le long de la chaîne alimentaire : des poissons herbivores microphages aux poissons carnivores ichtyophages (Fig. 2) jusqu'à l'homme sans troubles apparents chez les poissons.

Figure 2. La chaîne de transmission des toxines responsables de la ciguatera d'après LEGRAND. La dégradation de l'écosystème corallien permet le développement d'une macroflore algale qui à son tour favorise la prolifération d'une microflore associée comprenant le dinoflagellé toxigène *G. toxicus*, premier maillon de la chaîne ciguatérique. La transmission des toxines aux maillons supérieurs s'accompagne d'une bioconcentration et d'une augmentation de toxicité chez les poissons au sommet de la chaîne alimentaire. La ciguatera est ensuite identifiée par la survenue d'intoxications humaines.

La gamme de poissons potentiellement toxiques englobe de nombreuses espèces récifales parmi lesquelles: loches et mérus (*Serranidae*), perroquets (*Scaritidae*), chirurgiens (*Acanthuridae*), becs de cane (*Lethrinidae*), lutjans (*Lutjanidae*), carangues (*Carangidae*), mullets (*Mugilidae*), balistes (*Balistidae*), murènes (*Murinae*) et barracudas (*Syphrynidae*). En Polynésie Française, près de 100 espèces appartenant à 29 familles différentes ont été ainsi incriminées.

LA DIVERSITÉ DE L'AGENT CAUSAL

Identifié dès 1976 comme l'agent responsable de la ciguatera, le dinoflagellé *G. toxicus* fut longtemps considéré comme une espèce unique [1]. A partir de 1995, deux nouvelles espèces endémiques aux Caraïbes et en Asie du Sud-Est furent successivement décrites, sur la base de critères purement morphologiques : *G. belizeanus* et *G. yasumotoi* [37, 41]. Entre temps, les travaux menés dès 1990 au sein de l'ILM sur une trentaine de clones de cette microalgue ont montré l'existence d'une grande variabilité (à la fois phénotypique, enzymatique et génétique) des souches polynésiennes [7, 8]. Leur caractérisation morphologique (par examen des plaques thécales des cellules en microscopie électronique (cf. Fig. 1) et moléculaire (par séquençage d'une partie de leur génome) a alors été entreprise et a abouti en 1999 à la description de 3 nouvelles espèces: *G. polynesiensis*, *G. australes* et *G. pacificus* [5].



Parallèlement, les essais de culture *in vitro* et le criblage exhaustif du pouvoir toxigène de l'ensemble des souches de cette algothèque ont permis de conclure que seules certaines lignées cellulaires, désignées CTX⁽⁺⁾, sont génétiquement capables de produire des ciguatoxines [11, 19]. Deux clones CTX⁽⁺⁾ fort producteurs (*G. polynesiensis* TUB4 et RG1) ainsi que deux lignées non productrices, désignées CTX⁽⁻⁾, (*G. toxicus* GTT7 et *G. pacificus* HIT0) ont notamment pu être identifiés (5, 31). Les résultats obtenus dans le cadre de la surveillance éco-toxicologique de *Gambierdiscus* en plusieurs sites ciguatériques de l'île de Tahiti suggèrent la coexistence de ces lignées toxiques et atoxiques *in natura*, à l'origine des fortes et fréquentes variations observées dans la toxicité des efflorescences de cette microalgue [6]. Leur distribution respective au sein de ces efflorescences conditionnerait ainsi directement le niveau du risque ciguatérique dans une zone donnée. L'ensemble de ces observations souligne clairement la nécessité de disposer d'outils permettant de détecter rapidement la présence des lignées cellulaires toxiques dans les efflorescences à *Gambierdiscus*, pour une gestion optimale du risque ciguatérique dans les eaux polynésiennes.

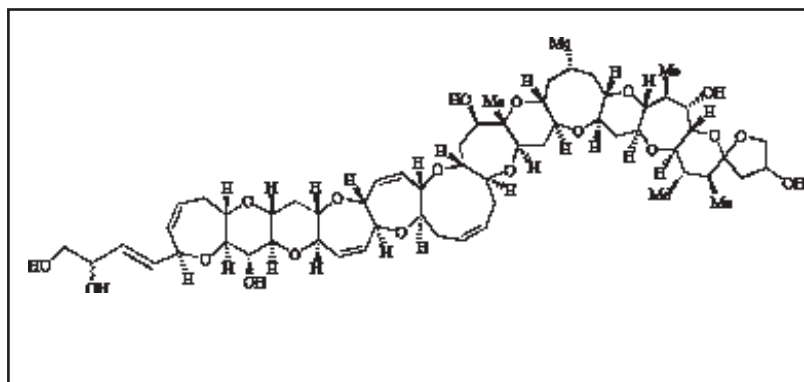


Figure 3. Structure chimique d'une ciguatoxine, la CTX 1B. Première structure élucidée en 1989 [21] par l'équipe du Pr. T. YASUMOTO (Université de Tohoku, Sendai, Japon), à partir d'un échantillon purifié à l'ILM (Tahiti). C'est un polyéther à 13 cycles numérotés de A à M, les 12 premiers fusionnés en trans, lui conférant une structure rigide en échelle.

LA MULTIPLICITÉ DES TOXINES

Deux types de toxines sont impliquées :

- les ciguatoxines (CTXs), substances pathogènes majeures, liposolubles, dont la CTX de référence (CTX-1B) est extraite du foie de la murène (*Gymnothorax javanicus*).

- les maitotoxines (MTXs), substances hydrosolubles détectées à l'origine dans le contenu stomacal du poisson chirurgien (*Ctenochaetus striatus*) dénommé «maito» en Polynésie, sont maintenant produites *in vitro* par toutes les souches de *Gambierdiscus spp.*

Leur mode d'action diffère puisque les CTXs agissent au niveau du canal sodium dépendant du potentiel, alors que les MTXs exercent leur action sur le canal calcique [15].

a) La procédure d'obtention des CTXs est lourde et coûteuse, et nécessite, en outre, la maintenance d'un élevage de souris de laboratoire pour le suivi de la toxicité des différentes fractions (voir plus loin et tableau I). Les CTXs sont des composés liposolubles neutres, transparents aux UV, solubles dans les solvants organiques polaires, mais insolubles dans l'eau et l'hexane. Elles sont thermostables, résistent à la congélation et à la dessiccation, sont stables en milieu alcalin, mais se dégradent rapidement en milieu très acide, à l'air et à la lumière. La structure de la CTX-1B de murène [21] est relativement complexe, avec une structure rigide en échelle conférée par la succession de 13 cycles éthers de taille variable (Fig. 3).

Les autres membres de la famille des CTXs du Pacifique ou P-CTXs [49, 51, 59-61] se distinguent par leur appartenance à 2 types structuraux en fonction de leur squelette oxycarboné. Un autre type de CTXs possédant le même squelette oxycarboné mais avec 14 cycles (C-CTXs) a été isolé chez les poissons des caraïbes [52, 62]. Très récemment, les CTXs de l'océan indien (I-CTXs) ont pu être isolées et caractérisées en chromatographie liquide à haute performance (CLHP), mais leur structure n'a pas encore été élucidée [38].

b) Trois types de MTXs sont connues, elles ont été isolées chacune à partir de 3 souches distinctes de *G. toxicus* (42). Elles présentent la même structure polyéther en échelle que les CTXs, mais leur masse est plus importante (1060, 3298 et 3422 Da). Cependant, les MTXs n'interviennent pas dans les intoxications humaines car on ne les retrouve pas dans les chairs de poissons (sauf peut être à l'état de traces).

TABLEAU CLINIQUE ET TRAITEMENT

L'observation de nombreux patients dans le monde a permis de dresser un tableau clinique de la ciguatera [17]. Les premiers symptômes débutent de 1 à 24 h suivant la consommation de poissons ciguatoxiques par des troubles digestifs incluant nausées, douleurs abdominales, vomissements et diarrhées. Il sont suivis par des désordres neurologiques (vertiges, crampes, algies musculaires et articulaires, picotements ou engourdissement des lèvres et des extrémités, inversion de la sensation chaud/froid, troubles de la vision, dyspnée...) puis cardiovasculaires (hypotension et bradycardie principalement). Les patients souffrent également de céphalées, d'asthénie importante et per-



sistante, de frilosité et de sueurs durant plusieurs jours. L'évolution est en général rapidement favorable, sauf dans certains cas où les syndromes neurologiques persistent durant quelques semaines voire plusieurs mois. A distance, ces signes peuvent être ravivés par la consommation de certains aliments (produits de la mer, viandes et œufs) ou l'absorption de liquide (café et alcool). Cependant ce tableau clinique est très variable selon le poisson incriminé (origine géographique, espèce, taille, régime alimentaire, profil toxinique) et la quantité et la partie ingérées, mais aussi selon les individus du groupe ayant consommé le même poisson. Fort heureusement, les formes létales sont rares (0,1 % des cas) et surviennent par choc cardiovasculaire hypotensif notamment chez les sujets fragiles.

En dépit de l'amélioration des connaissances sur le mode d'action des CTXs [15], le traitement de la ciguatera reste encore purement symptomatique. Une grande diversité de médicaments incluant cocktails vitaminiques (B et C) associés à des sels de calcium, antalgiques, antiémétiques, antihistaminiques du type 1, anticholinergiques, anti-inflammatoires et antidépresseurs ont été utilisés avec plus ou moins de succès. Il a été montré que le mannitol en perfusion intraveineuse administré dans les 48 heures après le début de l'intoxication entraînait une régression des douleurs et des troubles digestifs [56], mais son efficacité n'a pas fait ses preuves dans toutes les régions du monde.

LES MÉTHODES DE DÉTECTION DES CIGUATOXINES

Les P-CTXs sont des neurotoxines très puissantes, la DL₅₀ en *intra-péritonéal* (i.p.) chez la souris est de 0,33 ng/g pour la CTX-1B (Tableau 1).

TOXINE	DL ₅₀ μG/KG	TEMPS MOYEN DE SURVIE (H)	N
CTX1B	0,33	10 - 20	4
CTX2B	1,25	3,5 - 4,5	2
CTX2A	1,9	10 - 20	2
CTX3C	2,5	10 - 20	4
CTX2A	3,5	3,5 - 4,5	2
CTX3B	8	10 - 20	2
CTX4B	10	3,5 - 4,5	4
CTX4A	18	3,5 - 4,5	3

La dose létale à 50% (DL₅₀) et le temps moyen de survie à la DL₅₀ sont déterminés par injection i.p. de doses croissantes de CTXs à cinq lots de trois souris de 20g [10].

La difficulté de mise en œuvre de moyens efficaces de détection des CTXs tient autant à leur faible teneur dans les chairs de poisson (< 0,05 ng/g même pour les toxines majeures) qu'à la multiplicité des structures en cause. Chez l'homme, la dose provoquant les symptômes chez 50 % des consommateurs est estimée à 2 ng/kg et la DL₅₀ *per os* à 20 ng/kg. Ainsi, en application du principe de précaution et en absence de réglementation, le seuil de sensibilité d'une méthode efficace de détection devrait se situer aux environs de 3,3 ng d'équivalent CTX-1B (≈ 3 pmoles) pour 100 g de chair de poisson. Historiquement, l'utilisation d'animaux sensibles (mangoustes, chats, souris, poussins, crevettes, moustiques et larves de diptères) a permis de progresser dans l'étude des toxines, mais il s'agit d'une évaluation globale de la toxicité des échantillons qui doivent être traités pour une administration adéquate (gavage ou injection) selon l'animal expérimenté. Actuellement, le test souris constitue toujours une référence pour les laboratoires, les critères pris en compte sont l'intensité et la nature des troubles observés ainsi que la durée de survie d'animaux standardisés (âge, poids et sexe). La toxicité exprimée par la DL₅₀ peut être convertie en μg d'équivalent CTX-1B en se reportant à une courbe standard exprimant le temps de survie en fonction de la dose injectée [45]. D'autres méthodes de détection plus précises, basées sur des procédés physico-chimiques, pharmacologiques et immunologiques ont été explorées dans plusieurs laboratoires.

A) DÉTECTION PHYSICO-CHIMIQUE

Elle est basée essentiellement sur les méthodes CLHP. En raison du seuil de détection à atteindre, la transformation des composés élués en esters fluorescents est requise, mais n'est néanmoins applicable qu'aux CTXs possédant un hydroxyle réactif [27, 28]. Par ailleurs, la détection par spectrométrie de masse (SM) [48] a donné des résultats fort satisfaisants (sensibilité de l'ordre de 0,04 ng CTX / g de chair de poisson). Cependant en raison de son coût élevé, cette méthode analytique universelle ne convient pas aux tests de routine et devrait être plutôt réservée à des fins de confirmation ou utilisée comme référentiel pour la validation des autres approches.

B) DÉTECTION PHARMACOLOGIQUE

L'affinité relative des différentes CTXs pour leurs cibles a été évaluée par compétition avec des brevotoxines, ou PbTx [53], responsables du syndrome d'intoxication neurologique par les fruits de mer (INFM). En effet, les PbTx sont capables de se fixer, comme les CTXs, sur le site 5 du canal sodium activé par le potentiel [58]. Ainsi, la liaison spécifique d'une concentration fixe de [³H]-PbTx-3 sur des préparations de synaptosomes de cerveaux de rat est inhibée par des concentrations croissantes de CTXs [10, 24]. Des essais sont en cours à l'ILM, pour remplacer ces synaptosomes par des préparations membranaires enrichies spécifiquement en canaux sodiques, obtenues à



partir d'une lignée cellulaire issue du génie génétique (HEK-m1), aimablement fournie par le Dr. John S. RAMSDELL (NOAA-National Ocean Service, Charleston, SC, USA).

C) TESTS DE CYTOTOXICITÉ

En outre, des tests de cytotoxicité sur neuroblastomes de souris (neuro-2A) ont été développés sur plaque de culture [43, 54, 55]. Les cellules sont incubées en présence de ouabaïne et de vérratridine (qui potentialisent l'activité des CTXs) ainsi que de quantités croissantes de CTXs ou d'extraits pisciaires partiellement purifiés. La viabilité cellulaire est ensuite évaluée par la mesure spectrophotométrique de la transformation d'un sel de tétrazolium en formazan, témoin de l'activité mitochondriale des cellules vivantes. Le seuil de détection varie de 0,05 à 5 nM selon les CTXs testées (10). Il peut être abaissé à 0,05 - 1 pM. avec la lignée HEK-m1, en l'absence de ouabaïne et avec des concentrations bien moindres en vérratridine.

D) DÉTECTION IMMUNOCHEMIQUE

L'immunodétection des CTXs est une tâche ardue en raison de leurs caractéristiques : complexité chimique (polyéther polycyclique) et structurale (famille de composés de faible taille), liposolubilité, grande toxicité, très faible immunogénicité et extrême rareté (nécessité de disposer de plusieurs centaines de mg de CTXs) [27, 36-38]. Compte tenu de l'échec des techniques classiques de couplage CTX-protéine porteuse en milieu semi-organique [39, 40], une approche originale a été élaborée grâce à la mise au point d'une méthode de préparation de conjugués haptène-protéine porteuse en phase micellaire inverse (Fig. 4), compatible avec les quantités minimales de CTXs à manipuler [26].

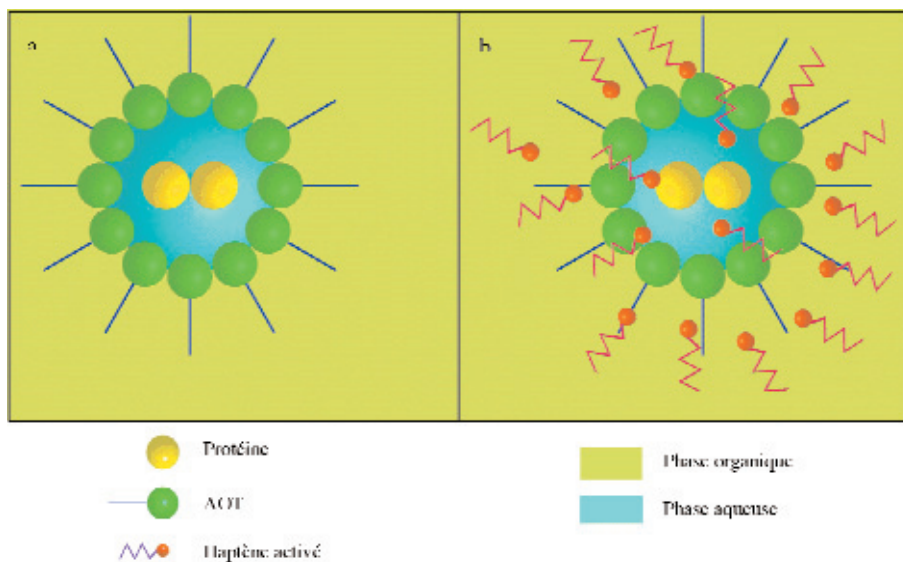


Figure 4. Principe de la chimie micellaire en phase inverse : a) Les micelles inverses sont des microvésicules unilamellaires formées par une couche de molécules de détergent (AOT avec une tête polaire et une queue apolaire) qui encapsulent le réactif hydrophile (la protéine) au sein d'une phase aqueuse. b) L'haptène activé (réactif amphiphile possédant un groupement polaire et une queue apolaire) réagit avec la protéine dans un minimum de volume aqueux, le préservant ainsi de l'hydrolyse alcaline.

Des techniques miniaturisées d'analyse des conjugués ont été également mises au point et les conditions d'immunisation et d'obtention d'anticorps polyclonaux (Ac) et monoclonaux (Acm) de bonne affinité ont été soigneusement étudiées [4, 22, 23, 26-29]. L'isolement récent de CTX-3C [61] et de nouvelles toxines [31, 59, 60] à partir de certaines souches de *G. polyneisensis* entretenues *in vitro* a permis récemment d'obtenir 800 μ g de toxines qui pourront bientôt être utilisées en immunochimie.

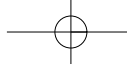
VERS LA MISE AU POINT DE NOUVEAUX OUTILS DE DÉTECTION PRÉVENTIVE DES INTOXICATIONS CIGUATÉRIQUES

A) SONDÉS MOLÉCULAIRES POUR LA DÉTECTION DE MICROORGANISMES PATHOGÈNES

Depuis le brevet princeps déposé en 1978 par l'Institut Pasteur [52], de nombreuses méthodes non radioactives ont été développées pour détecter les microorganismes pathogènes. La méthode la plus utilisée pour détecter de très petites quantités d'ADN bactérien ou viral est fondée sur le principe de l'hybridation moléculaire de type sandwich [33, 34, 36, 57].

Une première avancée a été réalisée en ce sens par le biais du séquençage exhaustif des régions hypervariables D1-D3 et D8-D10 LSUrDNA de l'opéron ribosomal d'une vingtaine de clones de *Gambierdiscus* [9], qui a permis l'obtention de sondes nucléiques spécifiques de 5 des 6 espèces connues à ce jour.

Dans le but de caractériser les sondes nucléiques spécifiques des lignées toxiques de *Gambierdiscus*, l'étude des mécanismes impliqués dans la toxigenèse de cette algue a également été abordée. En particulier, des expériences ont été conduites (M. BARBIER, données non publiées) pour vérifier que les CTXs s'apparentent bien aux polykétides (PKs), une famille de composés regroupant des métabolites secondaires aussi divers que les antibiotiques, diverses toxines, des pigments, etc. Les gènes codant pour le complexe multienzymatique Polykétide Synthase (PKS) responsable de la synthèse de ces PKs sont particulièrement bien connus chez les bactéries du genre *Actinomycètes* et les champignons [58, 59]. Ce résultat permet donc également d'envisager l'application des techniques de biologie moléculaire à la détection de lignées CTX⁽⁺⁾ de *Gambierdiscus*, l'hypothèse de départ étant que les souches CTX⁽⁻⁾ seraient dotées d'un complexe PKS non fonctionnel. En d'autres termes, leur génome présenterait des mutations rendant impossible la production de PKs.



B) FRAGMENTS D'ANTICORPS ISSUS DU GÉNIE GÉNÉTIQUE

L'établissement d'hybridomes par la technique de Kohler et Milstein [44] a rendu possible la production illimitée d'Acm spécifiques d'un antigène, mais présente encore de nombreux inconvénients (immunisation d'animaux de laboratoire, maintenance de cultures cellulaires, faible rendement et longueur des manipulations). Actuellement, à partir d'hybridomes, les techniques de recombinaison de l'ADN et d'amplification génique permettent de disposer de banques de fragments d'Ac exprimés, selon la technique des " Phages Anticorps Recombinants ", à la surface de phages filamenteux infectant des bactéries compétentes, ou bien sous forme soluble dans le périplasme bactérien [16,18]. Alternativement de tels réactifs spécifiques d'un antigène donné peuvent être sélectionnés directement, grâce au criblage de banques naïves de " Phages Anticorps Recombinants " [30]. Ce type d'approche déjà réalisé avec succès [20], apparaît très prometteur et demande à être validé.

CONCLUSION ET DISCUSSION

D'une façon générale, le développement de techniques *in vitro*, incluant des tests immunochimiques, pharmacologiques et cytotoxiques représente l'approche la plus prometteuse pour la détection en routine des phycotoxines dans des matrices biologiques complexes. En principe, ces méthodes présentent plusieurs avantages par rapport aux méthodes physico-chimiques sophistiquées basées sur la technique CLHP couplée à divers modes de détection (UV, fluorescence, SM, etc.) : 1°) elles peuvent être automatisées avec une grande capacité de traitement; 2°) elles peuvent être configurées pour admettre une limite de détection de l'ordre de 10^{-12} M; 3°) elles autorisent en général l'emploi d'extraits bruts ou partiellement purifiés ; 4°) elles sont simples d'utilisation et pourraient être effectuées par des techniciens au niveau d'antennes de pêche ou de laboratoires de proximité. Par conséquent, en ce qui concerne la ciguatera, la surveillance de l'apparition de CTXs au niveau du phytoplancton et de poissons herbivores «sentinelles» pourrait fournir un signal précoce avant accumulation significative dans les étages trophiques supérieurs.

Sur le plan immunochimique, en admettant un seuil de salubrité de 3,3 ng d'équivalent CTX-1B (3 pmoles) pour 100 g de chair de poisson, après un procédé d'extraction rapide [28], une détection immunochimique serait possible avec des Ac de KD de l'ordre de 10^{-8} M, comme nous l'avons montré avec l'Acm 2H8 dirigé contre la monensine, un antibiotique polyéther [65]. Des expériences visant à optimiser plusieurs techniques d'amplification du signal ont été déjà réalisées en utilisant les molécules modèles. Toutefois, les tests de détection à base d'Acm ou d'Ac recombinants reposent principalement sur une réactivité structurale, aussi les différents réactifs produits devront-ils être soigneusement sélectionnés sur la base de la corrélation des résultats obtenus avec les tests fonctionnels du type pharmacologique ou cytotoxique pour prévenir les faux-positifs (préjudiciables sur le plan économique) et les faux-négatifs (néfastes sur le plan sanitaire).

Alternativement, les flambées ciguatériques pourraient être prévenues en amont par la surveillance routinière *in natura* et en temps réel de la prolifération des populations de *Gambierdiscus* toxiques par des méthodes immunochimiques, biochimiques et de biologie moléculaire, car leur identification se fait jusqu'à présent généralement par observation microscopique. Ces méthodes pourraient être mises au point et validées en premier lieu sur les souches de l'algothèque dont le statut toxicologique est parfaitement connu.

Une approche multidisciplinaire a pour but principal la mise au point d'un test simple, rapide et fiable de détection préventive des intoxications ciguatériques par la surveillance des efflorescences algales toxiques et l'élimination des poissons toxiques avant commercialisation. Une fois les diverses composantes techniques validées, son implémentation à grande échelle constituerait la première barrière aux risques d'intoxication au niveau d'antennes de pêche réparties dans les îles et pourrait être suivie de tests de confirmation par CLHP-SM dans un laboratoire central pour une identification et un dosage précis si nécessaire. Dans un avenir plus lointain, un tel dispositif de surveillance pourrait fonctionner sur le principe de biocapteurs suffisamment robustes pour l'emploi sur le terrain. Ils seraient constitués de récepteurs des CTXs (sous-unité a du canal sodium, Acm ou Ac recombinants) ou de sondes génétiques spécifiques de *Gambierdiscus* CTX⁽⁺⁾ combinés à un transducteur de signal biologique (cellule électrochimique, potentiomètre, thermistance, photomètre...).

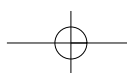
Enfin, l'urgence et la nécessité de la mise au point d'un tel test sont également motivées par l'observation que la distribution géographique des cas d'intoxication s'accroît non seulement avec la hausse du flux de voyageurs mais encore avec l'augmentation de la rapidité du transport des produits de la mer et l'amplification de leur consommation mondiale.

REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été réalisés grâce au soutien financier du Gouvernement de la Polynésie française, du Gouvernement de la République française (ministères de la Recherche et de la Technologie et des DOM-TOM) et de l'Institut Pasteur de Paris. Les auteurs tiennent à exprimer leur gratitude à leurs nombreux collaborateurs nationaux et internationaux qui ont activement contribué à élargir le champ de ces investigations.

Mots clefs :

Toxine, intoxication alimentaire



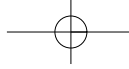


BIBLIOGRAPHIE⁴

- 1 - ADACHI R, FUKUYO Y. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 1979, **45**, 67-71.
- 2 - AMZIL Z, VERNOUX JP, POTTIER I. *In : Toxines d'algues dans l'alimentation*. J-M Frémy & Lassus P (coord.), éditions Ifremer, 2001, pp. 160-188.
- 3 - BAGNIS R, CHANTEAU S, YASUMOTO T. *C R Acad Sci, Paris*. 1977, **28**, 105-108.
- 4 - BRANAA P, NAAR J, CHINAIN M *et al. Bioconjugate Chemistry* 1999, **10** (6), 1137-1142.
- 5 - CHINAIN M, FAUST MA, PAULLAC S. *J Phycol* 1999, **35**, 1282-1296.
- 6 - CHINAIN M, GERMAIN M, DEPARIS X *et al. Marine Biology*. 1999, **135**, 259-267.
- 7 - CHINAIN M, GERMAIN M, SAKO Y *et al. In: Harmful Algae*. Reguera B., Blanco J., Fernández M L. & Wyatt, T. (eds). Xunta de Galicia and Intergovernmental Commission of UNESCO. 1998, pp. 287-290.
- 8 - CHINAIN M, GERMAIN M, SAKO Y *et al. J Phycol*, 1997, **33**, 36-43.
- 9 - CHINAIN M, REVEL T, FAUST MA *et al. In: Harmful Algal Blooms 2000*, Hallegraeff GM, Blackburn SI, Bolch CJ & Lewis RJ (eds.), Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. 2001, pp. 226-229.
- 10 - DECHRAOUI MY, NAAR J, PAULLAC S *et al. Toxicon*, 1999, **37**, 125-143.
- 11 - HOLMES MJ, LEWIS RJ, POLI MA *et al. Toxicon*, 1991, **29**, 761-775.
- 12 - HOPWOOD DA, KHOSLA C. *Ciba Found. Symp*, 1992, **171**, 88-112.
- 13 - KOURILSKY P, AVRAMEAS S, CAMI B *et al. Brevet N° 78 10975*.
- 14 - LEGRAND AM, FUKUI M, CRUCHET P *et al. Bull Soc Pathol Exot* 1992, **85**, 467-469.
- 15 - LEWIS RJ, MOLGÓ J, ADAMS DJ. *In : Seafood and Freshwater Toxins : Pharmacology, Physiology, and Detection*. Botana LM (ed.), éditions Dekker, 2000, Food Science Technology **13**, pp. 419-447.
- 16 - MCCAFFERTY J, GRIFFITHS AD, WINTER G *et al. Nature*, 1990, **348**(6301), 552-554.
- 17 - MARCAILLOU-LE BAUT C, KRYS S, BOURDEAU P. *In : Toxines d'algues dans l'alimentation*. J.-M. Frémy & Lassus P. (coord.), éditions Ifremer, 2001, pp. 386-389.
- 18 - MESSING J. *Methods Enzymol*. 1983, **101**, 20-78.
- 19 - MICOUIN L, CHINAIN M, ASIN P *et al. Bull Soc Path Ex*, 1992, **85**, 474-477.
- 20 - MULLER BH, CHEVRIER D, BOULAIN JC *et al. J Immunol Methods*, 1999, **227**(1-2), 177-185.
- 21 - MURATA M, LEGRAND AM, ISHIBASHI Y *et al. J Am Chem Soc*, 1990, **112**(11), 4380-4386.
- 22 - NAAR J, BRANAA P, BOTTEIN-DECHRAOUI MY *et al. Toxicon*, 2001, **39**, 869-878.
- 23 - NAAR J, BRANAA P, CHINAIN M *et al. Bioconjugate Chemistry*. 1999, **10**(6), 1143-1149.
- 24 - PAULLAC S, BLÉHAUT J, CRUCHET P *et al. In: Harmful Marine Algal Blooms*. Lassus P, Arzul G, Erard E, Gentien P & Marcaillou C. (eds.), éditions Lavoisier Science, Paris, 1995, pp. 801-808.
- 25 - PAULLAC S, HALMOS T, LABROUSSE H *et al. J Immunol Methods*, 1993, **164**, 165-173.
- 26 - PAULLAC S, NAAR J, BRANAA P *et al. J Immunol Methods*, 1998, **220**, 105-114.
- 27 - PAULLAC S, NAAR J, CHINAIN M. *Recent Res Devel Bioconj Chem*, 2002, **1**, 151-172.
- 28 - PAULLAC S, NAAR J, MOURATOU B *et al. J Immunol Methods*, 2002, **263**, 75-83.
- 29 - PAULLAC S, SASAKI M, INOUE M *et al. Toxicon*, 2000, **38**, 669-685.
- 30 - VITI F, NILSSON F, DEMARTIS S *et al. Methods Enzymol* 2000, **326**, 480-505.
- 31 - YASUMOTO T, IGARASHI T, LEGRAND AM *et al. J Am Chem Soc* 2000, **122**, 4988-4989.

Les publications numérotées de 32 à 62 sont disponibles sur demande au secrétariat.

⁴ Une liste complète avec les noms de tous les auteurs et le titre des articles est disponible sur demande au secrétariat de l'AAEIP.



LES BREVETS DE LOUIS PASTEUR SUR LES FERMENTATIONS

Jean-Paul SALEUN¹

Notre collègue J.P. SALEUN s'est livré à un minutieux travail d'analyse de textes techniques, peu connus de nos jours, qui ont été publiés au moment même des découvertes de Louis PASTEUR sur la fermentation du vin et de la bière.

L'Institut National de la Protection Industrielle conserve pieusement dans ses archives les brevets d'invention déposés par Louis PASTEUR entre 1857 et 1873, ayant pour objet les applications pratiques de ses travaux théoriques sur les fermentations. Bien que peu connus du public, leurs répercussions économiques ont été incalculables. Aussi, méritent-ils d'être portés à la connaissance du public, d'autant que leur lecture éclaire sur certaines facettes du caractère de leur auteur.

Déjà, ses travaux sur la cristallographie portant sur l'acide tartrique racémique (qui lui valurent un prix décerné en 1853 par la Société de Pharmacie de Paris), avaient attiré l'attention de L. PASTEUR sur les fermentations lactiques et alcooliques. Mais ce fut sa nomination en septembre 1854 comme doyen de la nouvelle Faculté des Sciences de Lille qui motiva ses recherches.

A l'époque, les théories de BERZÉLIUS et de LIEBIG sur les fermentations faisaient autorité ; elles n'accordaient qu'une importance très secondaire aux levures, pourtant déjà observées au microscope par LEUWENHOEK et brièvement étudiées par CAGNARD DE LATOUR, en donnant le rôle à des copeaux de hêtre. Aussi, les fermentations industrielles étaient-elles menées de façons très empiriques. Les leçons de chimie de L. PASTEUR données à la Faculté de Lille furent rapidement célèbres, tant auprès des étudiants que de la société civile locale. Durant l'été 1856, un industriel, monsieur BIGO, qui avait eu de grands déboires dans la fabrication d'alcool de betteraves, vint lui demander conseil. Louis PASTEUR accepta le défi d'étudier les fermentations alcooliques. En effet, la plupart de ses maîtres considéraient ces « phénomènes comme particulièrement obscurs » et lui déconseillaient de poursuivre dans cette voie peu prometteuse qui, de plus, le détournait de la cristallographie où il avait commencé à récolter des succès. Après un certain nombre de manipulations, de vérifications et de contrôles, il va écrire le texte d'un premier brevet.

Les brevets concernent la fabrication du vinaigre, du vin, et de la bière

Le 3 février 1857, Louis PASTEUR dépose un brevet intitulé : « *Nouveaux procédés de fermentation alcoolique* » dans lequel il note que les acides minéraux ou organiques, même ceux produits au cours de la fermentation qui, à faibles doses, favorisent le processus, deviennent nocifs à hautes

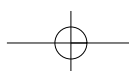
doses. Il préconise donc d'ajouter des carbonates pour les neutraliser en fin de fermentation, en particulier du carbonate de baryte. Remarquons que ce n'est qu'en août qu'il communiquera à la Société des Sciences de Lille un mémoire sur la fermentation lactique qu'il présentera trois mois plus tard à l'Académie des Sciences de Paris.

En juillet 1861, alors qu'il a rejoint l'Ecole normale supérieure, rue d'Ulm, il dépose un second brevet « *Pour la fabrication du vinaigre ou acide acétique à l'aide de plantes dites mucors, et en particulier celles que je nomme Mycoderma vini et Mycoderma aceti* », poursuivant en ces termes : « *j'ai reconnu que ces plantes étaient la cause de la fermentation acétique* ». Il propose alors de commencer par les cultiver dans des récipients de grande surface, puis de les mettre en contact avec le liquide alcoolique à acétifier, insistant sur la simplicité et la rapidité d'exécution.

Le 12 décembre de la même année, L. PASTEUR dépose un certificat d'addition au brevet précédent. En effet, si *Mycoderma aceti* provoque l'acétification des liquides alcooliques, il a aussi la propriété de fixer l'oxygène de l'air à l'acide ainsi formé, le transformant intégralement en eau et acide carbonique. Le secret d'une bonne fabrication repose donc, certes sur une bonne alimentation de la « plante » en alcool, mais aussi sur l'arrêt de son action avant la dégradation de l'acide formé. Il profite de ce brevet pour attaquer la technique préconisée par le baron J. von LIEBIG qui : « *repose sur des idées théoriques entièrement erronées* ». En effet, seules les levures sont actives, les copeaux de hêtre ne leur servant que de support. Il décrit alors son procédé et termine par une estimation d'un prix de revient très bas, permettant d'obtenir, presque sans frais de main d'œuvre et d'investissement, des milliers de litres d'acide acétique de force quelconque, le procédé pouvant être stoppé sans difficulté.

N'oubliant ni ses origines franc-comtoises ni son intérêt pour la vigne paternelle à Arbois, déjà célèbre pour son vin jaune, il dépose, en avril 1865, un brevet préliminaire décrivant un procédé de « *conservation des vins* ». Ayant constaté que les altérations spontanées des vins étaient produites par des microorganismes préexistants dans les jus, il propose de les chauffer à une température comprise entre 60 et 100°C, ce chauffage n'altérant pas les qualités du produit (Figure 1). Il

¹ Directeur honoraire du Centre de transfusion sanguine de Brest, cours IP 1961-1962, Conseiller de notre Association et responsable de la Commission d'Entraide.





Original .
 Durée du brevet : 15 années
 Paris le 11 avril 1865
 67,006

EVENTS D'INVENTION
 PIÈCE
 du
 MINISTÈRE

J'ai reconnu que les maladies ou altérations spontanées des vins sont produites par des êtres microscopiques dont les germes existent dans le vin avant qu'il ne devienne malade. Le vin ne s'altère pas si ces germes sont tués. Un moyen simple et pratique de faire périr ces germes consiste à porter le vin à une température comprise entre 60 et 70°.

Je déclare prendre un brevet d'invention pour l'application de ce procédé. Il empêche toutes les fermentations irrégulières du vin, quelle que soit leur nature, sans altérer la qualité du vin.

L. Pasteur

faut se souvenir qu'il avait antérieurement montré que, si *Mycoderma vini* était présent à la surface des grains, il y était en compagnie, hélas !, d'autres microorganismes dont il prouve qu'ils sont responsables des maladies comme la tourne, la graisse ou l'amertume.

Considérant le descriptif précédant incomplet, il dépose un additif le 27 mai, cette fois nommé : « **Nouveau procédé d'élevage des vins** », dans lequel il précise que le chauffage à 60-70°C interviendra quand le vin sera fait, soit lorsqu'il est en fût, soit après sa mise en bouteille, par de l'air, de l'eau ou de la vapeur. Cette technique évite « les fleuris », « la pousse », « la graisse », « l'acidité » et toutes les fermentations accessoires et permet de supprimer l'ouillage et les soutirages, ainsi que les plâtrages et le vinage.

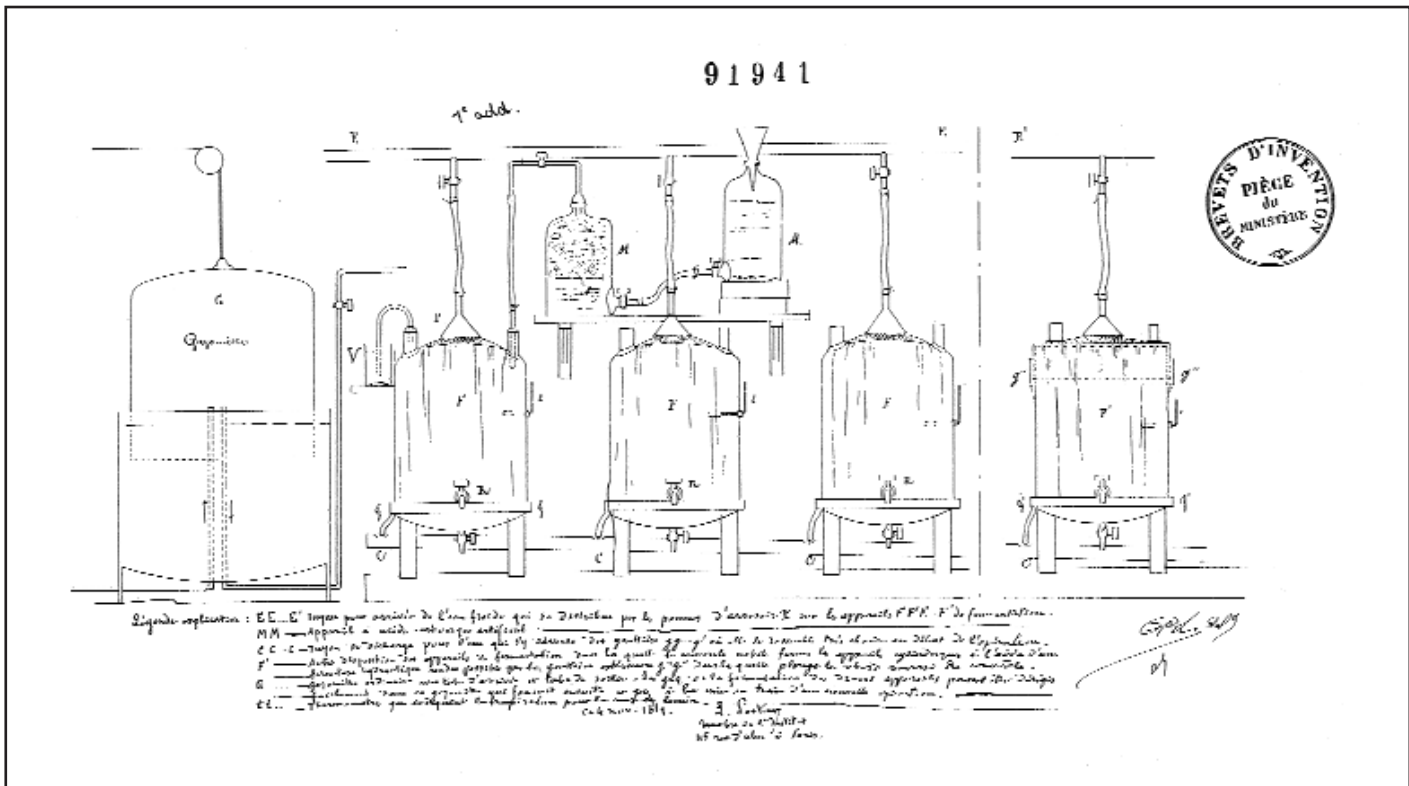
Enfin, le 25 octobre 1865, il complète ces deux brevets en décrivant « **un procédé de vieillissement permettant l'obtention de vin de Cote** ». Rappelons que le vieillissement du vin était alors obtenu en embarquant des fûts et en les faisant voyager plus ou moins longtemps, d'où ce terme de vin de Cote (ancienne orthographe de Sète). Les pertes, comme nous pouvons nous en douter, étaient très importantes d'autant que la majorité des fûts étaient contaminés au départ. L. PASTEUR conseille donc, après chauffage en flacons de verre à moitié remplis, d'exposer le vin aux rayons du soleil pour obtenir un vieillissement artificiel, sans pertes et avec des résultats comparables.

A partir du 26 juin 1871, L. PASTEUR dépose une série de brevets concernant un « **nouveau procédé de fabrication de la bière qui consiste essentiellement dans la fermentation à l'abri**

de tout contact avec l'air ». Le moût après cuisson sera dirigé dans des récipients refroidis par un courant de gaz carbonique, puisensemencé en levain, le contact de l'air entraînant de graves dommages dans la fabrication du breuvage. Dans cette note, qui n'est en fait qu'une note préliminaire, il expose les avantages qu'il entrevoit dans l'utilisation de cette technique et, ce qui peut nous paraître plus surprenant, demande que : « **les bières fabriquées par mon procédé portent en France le nom de bières de la revanche et à l'étranger celui de bières françaises** ».

Le 21 août, un brevet concerne « **un nouveau mode de conservation du moût de bière et de la bière qui en provient** ». Le moût après cuisson doit être introduit bouillant dans des cuves refroidies au gaz carbonique ou en air brûlé. La fermentation se fera dans ces cuves. Le moût et la bière pourront ensuite être transportés sans avoir besoin de les maintenir au froid.

Dans un additif en date du 4 novembre, il fournit un schéma très complet des appareillages nécessaires à cette fabrication industrielle, insistant sur la nécessité d'utiliser du gaz carbonique purifié ou de l'air calciné et filtré, afin d'éviter les fermentations intempestives. De même, les moûts doivent être entretenus chauds pour tuer les germes. Admirons la précision et la perfection du dessin, ainsi que celle des annexes explicatives (Figure 2). Toujours insatisfait, il fournit un deuxième additif, vingt jours plus tard, concernant la réutilisation du gaz carbonique produit durant la fermentation. Ce gaz est récupéré dans un réservoir situé sous les cuves de fermentation et pourra être réinjecté à la demande, ce qui permet de supprimer le gazomètre. L'air ambiant peut aussi être utilisé, les germes étant



détruits par le moût bouillant. L. PASTEUR insiste sur la destruction des germes à tous niveaux, sur la nécessité d'un abaissement rapide de la température avant l'introduction du levain par serpentins internes aux cuves et recommande d'utiliser de faibles quantités d'air car l'oxygène détruit les parties aromatiques du houblon.

Pour parfaire son travail, L. PASTEUR dépose, le 13 mars 1873, un « mémoire descriptif : -1° pour des procédés nouveaux de fabrication et de conservation de la bière inaltérable ; -2° pour des appareils nouveaux relatifs à cette fabrication et cette conservation ; -3° et pour les produits industriels nouveaux obtenus par ces procédés ». Il y reprend, une à une, toutes les étapes de la préparation de cette boisson, insistant sur le fait que chacune d'elles peut être source de contamination, levain, moût et bière définitive. Il explique comment s'en protéger, apportant alors des améliorations aux précédents brevets.

Ces brevets mettent en relief la personnalité de L. PASTEUR

La lecture exhaustive de ces brevets (pris pour une durée de 15 ans), transcrits d'une écriture fine et régulière, étonne au premier abord par leur brièveté, la plupart ne comportant qu'une ou deux pages. Cependant l'essentiel y est noté. Nous remarquerons également que L. PASTEUR n'attend pas d'avoir terminé ses travaux pour prendre un brevet préliminaire qui sera ultérieurement complété au fur et à mesure de l'avancement de ses recherches, tous les aspects d'un processus devant

être étudiés par des additifs successifs. Ceci est particulièrement évident lorsqu'il étudie les processus de la fermentation industrielle de la bière dont chaque constituant sera étudié, testé, vérifié et fera l'objet d'un brevet spécifique, parfois lui-même amélioré par un additif : levain, moût, bière. Seulement deux ans plus tard, un mémoire définitif regroupera toutes les étapes de cette fabrication et en précisera certains points particuliers.

En lisant ces brevets, nous sommes impressionnés par la façon dont L. PASTEUR a développé ses travaux, ne se bornant pas à la recherche fondamentale sur les fermentations. Ainsi, après avoir émis une hypothèse, l'avoir vérifiée et validée, il n'hésite pas à en étudier les applications pratiques dans leurs moindres détails, allant jusqu'à proposer des appareillages, des plus simples à nos yeux actuels, comme la pipette qui porte son nom ou le ballon à col de cygne, jusqu'à une installation industrielle. Nous retiendrons également son souci constant des questions économiques, allant de l'évaluation du prix de revient d'un litre d'acide acétique, au gain provoqué par la suppression d'un gazomètre. A ce propos, rappelons les conseils donnés par le Ministre de l'Instruction Publique qui le nomma à la Faculté de Lille, monsieur FORTOUL : « que PASTEUR se tienne cependant toujours en garde contre l'entraînement de son amour pour la science et qu'il ne perde pas de vue que l'enseignement des Facultés, tout en se maintenant à la hauteur des théories scientifiques, doit néanmoins, pour produire des résultats utiles et étendre son heureuse influence, s'approprier les plus nombreuses applications aux besoins réels du pays auquel il s'adresse ». Affirmons donc qu'il a magnifiquement répondu à



cette recommandation. Enfin ces lignes mettent en lumière la conscience permanente de L. PASTEUR d'appartenir à une communauté. Doyen de la Faculté de Lille, il signe son premier brevet du nom de cette ville et lui réserve la primeur de sa communication scientifique sur les fermentations. Réintégrant l'Ecole Normale, la rue d'Ulm sera citée dans les brevets suivants. Ainsi, il marque sa reconnaissance envers les institutions qui lui permettent de mener à bien ses travaux. Et que dire aussi de ses accents patriotiques à propos de la dénomination de la bière, même s'il n'oublia jamais sa Franche-Comté natale !

A ce propos, rappelons que, le 18 janvier 1871, soit six mois avant le dépôt du brevet, Louis PASTEUR avait écrit une lettre au doyen de la Faculté de médecine de l'Université de Bonn qui, en 1868, lui avait décerné le titre de Docteur en Médecine « *en récompense de [mes] travaux sur les fermentations et le rôle des organismes microscopiques* », distinction dont il avait été très fier. Il lui renvoyait par le même courrier le parchemin dont la vue lui était devenue odieuse. La guerre de 1870 avait éclaté depuis 5 mois.

Les conséquences économiques de ces brevets sont incalculables

La portée économique de ces quelques brevets fut immense. En ce qui concerne la **conservation du vin**, produit de la fermentation naturelle d'un moût de raisin par *Mycoderma vini*, l'utilisation du chauffage permet de le conserver sans précautions particulières et de le transporter vers des destinations lointaines sans pertes excessives, offrant ainsi des débouchés nouveaux aux producteurs. Ainsi naîtra la pasteurisation utilisée depuis dans presque toute l'industrie agroalimentaire. Montrant l'action lente de l'oxygène, le vieillissement artificiel devient possible.

La **fermentation de la bière** étant artificielle, le problème

ne se pose plus dans les mêmes termes, pour obtenir un produit stabilisé. L. PASTEUR donne les solutions pour produire un levain pur sans germes contaminants, un moût stable et transportable grâce à une hygiène rigoureuse et un produit terminal sans contamination, à l'arôme conservé, clair et transportable sans précautions particulières. Au passage, ces recherches ont révélé que toutes les fermentations s'accompagnent de productions annexes comme la glycérine ou l'acide succinique dont les rôles sont importants dans la saveur du vin. Le champ d'application de ces travaux ne se cantonne pas au vin, à la bière ou à l'acide acétique mais est généralisable à l'industrie laitière, aux conserveries alimentaires et à bien d'autres secteurs.

Enfin, au décours de ces travaux, L. PASTEUR a démontré, après des débats restés célèbres, que la théorie de la génération spontanée est erronée. *Mycoderma vini*, cause de la fermentation du moût de raisin, préexiste sur la peau des grains. Les **maladies du vin ou de la bière** sont bien dues à des microorganismes de l'air, de l'eau ou des surfaces des récipients et l'on commence à les étudier. Enfin ces « *plantes* » sont des organismes vivants tués par la chaleur. Ainsi vont naître les bases scientifiques de l'asepsie. Ces observations seront à l'origine de futures découvertes qui, à juste titre, marqueront la mémoire collective et éclipsent la portée de ces premiers travaux.

Ces brevets sont révélateurs de l'esprit logique et méthodique de L. PASTEUR, toujours à la recherche d'applications pratiques. Leur importance économique est toujours d'actualité. Il est permis de se demander si des profits en ont découlé, soit pour leur auteur, soit pour les institutions dont il dépendait.

NOUVELLES DE L'INSTITUT PASTEUR A • RÉSULTAT DES COURS

I - ENSEIGNEMENT ET FORMATION

n ÉLÈVES DU COURS DE MYCOLOGIE MÉDICALE ET LEURS ENSEIGNANTS - 28 AVRIL - 20 JUIN 2003 (par ordre alphabétique)



- | | |
|---|---|
| 1. Mlle AZAS Nadine | 12. Mme LACHAUD Laurnce |
| 2. M. BA Ousmane (Mauritanie) | 13. M. LECOURTOIS Christophe |
| 3. Mlle BENCHERIFA Souad (Algérie) | 14. Mme MILLON Laurence |
| 4. M. BERRY Antoine | 15. Mlle NARDONI Simona (Italie) |
| 5. M. BOIRON Patrick (Fac. de Pharmacie - Lyon 1) | 16. Mme NGO SACK MAKAK Françoise (Cameroun) |
| 6. Mme CALIGIORNE Rachel (Brésil) (Aud. libre) | 17. Mme NUGUES Viviane [I.P] |
| 7. M. CHOUAKI Taieb (Algérie) | 18. M. EANO Andréa (Italie) |
| 8. M. DIALLO Mouctar (Mali) | 19. Mme ROUFFAUD Marie-Ange [I.P] |
| 9. Mme GRANET Oumâima [I.P] | 20. Mme SARFATI-BERT Jacqueline [I.P] |
| 10. M. JUTCHA Florent (Cameroun) | 21. M. VALENTIN Alexis |
| 11. Mme KAMGA GUEGNE Hortense (Cameroun) | 22. M. WAXIN Hervé [I.P] |



II • RECHERCHE

De la cellule souche au neurone

Pour la première fois, des chercheurs du CNRS/Institut Pasteur et de l'Université de Californie¹ montrent comment un précurseur neural acquiert progressivement les caractéristiques fonctionnelles pour devenir un véritable neurone. Cette étude a été publiée en avant-première sur le site de « *Nature-Neuroscience* » le 21 avril 2003. On sait depuis peu que des cellules souches neuronales sont capables de produire de nouveaux neurones chez l'adulte. Une zone de prolifération cellulaire située au coeur du cerveau, génère en permanence des neurones immatures. Ces jeunes cellules migrent sur de longues distances avant d'atteindre leur tissu cible. Dans cette étude, les chercheurs ont suivi chez la souris l'évolution de neurones nés dans la zone sous-ventriculaire bordant les ventricules cérébraux, et migrant vers le bulbe olfactif, où les jeunes cellules se différencient progressivement en neurones pour finalement s'intégrer dans le circuit existant.

Les chercheurs ont démontré que les capacités cérébrales à produire de nouveaux neurones relèvent de mécanismes uniques adaptés au cerveau adulte, bien différents des processus embryonnaires. Ils ont, de plus, mis en évidence que les neurones nouvellement produits sont non seulement capables de s'intégrer dans un réseau préexistant, mais aussi et surtout, qu'ils confèrent de nouvelles propriétés au réseau neuronal qui les accueille.

Ces travaux enrichissent les connaissances actuelles dans le domaine des mécanismes et des fonctions régénératrices du système nerveux central et offrent de nouvelles stratégies sur le plan thérapeutique (*Source : Campus, 2003, 53, p. 31*).

Nod 1 veille au grain

Les cellules épithéliales des muqueuses (intestin, poumons...) sont notre première ligne de défense contre les micro-organismes. Une collaboration entre plusieurs équipes de l'Institut Pasteur², menées notamment par Dana PHILPOTT et Philippe SANSONETTI, a mis en évidence, au niveau de la barrière intestinale, un système de veille contre l'effraction accidentelle de cette barrière par des bactéries.

Les chercheurs ont en effet démontré qu'une molécule

présente à l'intérieur des cellules épithéliales, Nod 1, détecte un motif particulier de la paroi de certaines bactéries invasives (*Shigella* notamment), le peptidoglycane, et que cette perception entraîne une réaction inflammatoire. Quand ce système est alerté, les cellules épithéliales se mettent à produire des facteurs solubles (cytokines, chimiokines) en vue de détruire le micro-organisme en cause. Nod 1 semble être la seule molécule sentinelle dans la cellule épithéliale permettant la détection intracellulaire de bactéries et joue un rôle clé dans les défenses immunitaires innées.

Ce mécanisme, publié dans *Science*³, offre une piste nouvelle pour la mise au point de médicaments contre des maladies inflammatoires de l'intestin (colites infectieuses, recto-colites hémorragique, maladie de Crohn), voire des poumons (asthme, mucoviscidose) (*Source : Campus, 2003, 53, p. 31*)

Dengue : un récepteur du virus identifié

Un récepteur cellulaire décisif pour l'infection par le virus de la dengue, longtemps recherché par de nombreuses équipes dans le monde, vient d'être identifié par deux équipes de l'Institut Pasteur. Ce travail, publié dans *EMBO reports*⁴, marque une avancée dans la compréhension de cette infection, qui touche 60 à 100 millions de personnes chaque année dans le monde, et ouvre la voie à la mise au point de traitements spécifiques, aujourd'hui inexistantes.

Le virus de la dengue est inoculé à l'homme lors du repas sanguin d'un moustique *Aedes aegypti* infecté. Le virus, déposé dans la peau, interagit avec des cellules particulières du système immunitaire présentes localement, les cellules dendritiques, considérées comme les premières cellules cibles du virus. C'est précisément à la surface de ces cellules que des équipes menées par Philippe DESPRÈS, dans l'Unité Interactions Moléculaires Flavivirus-Hôtes, et Jean-Louis VIRELIZIER et Fernando ARENZANA, de l'Unité d'Immunologie Virale, ont démontré le rôle de récepteur du virus de la dengue d'une molécule nommée DC-SIGN. L'identification de ce récepteur essentiel intervenant au tout début de l'infection par le virus de la dengue est un espoir de mieux comprendre l'infection et de pouvoir la bloquer.

¹ Unité " Perception et mémoire olfactive " de l'Institut Pasteur (associée au CNRS), dirigée par Pierre-Marie LLEDO, en collaboration avec l'équipe d'Arturo ALVAREZ-BUYLLA, de l'Université de Californie à San Francisco.

² Unité de Pathogénie microbienne moléculaire, INSERM U 389, IP ; unité de Pathogénie bactérienne des muqueuses, IP ; Groupe d'immunité innée et signalisation, IP ; unité des Neisseria, IP.

³ " Nod1 detects a unique muropeptide from Gram-negative bacterial peptidoglycan " : *Science*, 6 juin 2003.

⁴ « Dendritic-cell-specific ICAM3-grabbing non-integrin is essential for the productive infection of human dendritic cells by mosquito-cell-derived dengue viruses » - *EMBO reports*, Vol. 4, n°7, 2003

Erika NAVARRO-SANCHEZ (1), Ralf ALTMAYER (2), Ali AMARA (2), Olivier SCHWARTZ (3), Franck FIESCHI (4), Jean-Louis VIRELIZIER (2), Fernando ARENZANA-SEISDEDOS (2) et Philippe DESPRÈS (1)

1 Unité Interactions Moléculaires Flavivirus-Hôtes, Institut Pasteur, Paris

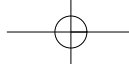
2 Unité Immunologie Virale, Institut Pasteur, Paris

3 Laboratoire Virus et Immunité, Institut Pasteur, Paris

4 Institut de Biologie Structurale, CEA-CNRS-UJF, UMR 5075, Grenoble

Contacts : - Fernando ARENZANA-SEISDEDOS : Tél : 01 40 61 37 39 - E-mail : farenzan@pasteur.fr

- Philippe DESPRÈS : Tél : 01 40 61 35 63 - E-mail : pdespres@pasteur.fr



Les cellules dendritiques disséminent et présentent les antigènes dans tout l'organisme après les avoir capturés par le récepteur DC-SIGN. Les moustiques injectent dans le derme, et donc au contact des cellules dendritiques, du virus de la dengue dont l'insecte a modifié par l'addition de certains sucres (glycosylation) les protéines d'enveloppe. Les chercheurs de l'Institut Pasteur ont démontré que la reconnaissance des enveloppes virales glycosylées par le récepteur DC-SIGN est nécessaire à l'infection des cellules dendritiques. Ils ont notamment montré que des anticorps monoclonaux anti-DC-SIGN ou une forme soluble de DC-SIGN, réduisait de plus de 90% l'infection des cellules dendritiques par les virus de la dengue produits par les cellules de moustiques infectés. De plus, ils ont rendu d'autres types de cellules permissives à l'infection en faisant s'exprimer DC-SIGN à leur surface.

Bien que ces résultats doivent encore être confirmés *in vivo*, ils marquent une avancée notable dans la compréhension de ce qui est probablement une étape clé de l'infection et de la propagation du virus de la dengue chez son hôte humain et de l'immunopathogenèse de cette infection. Une cible thérapeutique potentielle est également révélée par ces travaux.

Rappelons que 250 millions de personnes vivent dans les régions à risque de transmission de la dengue (zones tropicales), et que la forme grave de la maladie, la dengue hémorragique, est en recrudescence dans le monde, en particulier en Amérique Latine et dans les Caraïbes.

Pour en savoir plus sur la dengue, lire notre fiche de documentation :

<http://www.pasteur.fr/actu/presse/documentation/dengue.html>

Tél : 01 45 68 81 46 - E-mail : presse@pasteur.fr (Source Communiqué de presse (8 juillet 2003))

III • SANTE PUBLIQUE

Cas de polyomyélite dérivés du vaccin polio oral à Madagascar

Cinq cas de paralysie flasque aiguë associés à des souches de poliovirus dérivées du vaccin polio oral (VPO) ont été répertoriés dans le sud de Madagascar d'octobre 2001 à avril 2002. L'étude de ces souches à l'échelon moléculaire, réalisée par des chercheurs de l'Institut Pasteur à Paris et de celui de Madagascar, vient d'être publiée dans *Emerging Infectious Diseases*⁵ : elle montre que les souches virales en cause sont des souches recombinantes entre souches vaccinales et souches d'entérovirus non identifiés. L'émergence de ces souches virales pathogènes dérivées de la vaccination complexifie les stratégies d'éradication de la poliomyélite.

Alors qu'aucun cas de poliomyélite due au poliovirus sauvage n'a été détecté à Madagascar depuis 1997, ces cas associés à des poliovirus dérivés du vaccin polio oral (VPO) rendent, selon les chercheurs, l'éradication de la poliomyélite plus complexe et remettent en question l'arrêt prévu de la vaccination avec le VPO, ultime étape des campagnes de vaccination visant à faire disparaître poliomyélite et poliovirus.

L'épidémie a touché des enfants qui n'avaient pas été complètement vaccinés contre la poliomyélite, dans une province au sud de la République de Madagascar. Les équipes de recherche de l'Institut Pasteur à Paris et de l'Institut Pasteur de Madagascar, respectivement menées par Francis DELPEYROUX et Philippe MAUCLÈRE, ont caractérisé à l'échelon moléculaire les souches virales isolées. Ils ont démontré qu'elles différaient significativement des souches vaccinales de référence et, en particulier, qu'elles avaient probablement évolué par recombinaison avec d'autres entérovirus : les souches vaccinales peuvent en circulant chez différents individus rencontrer d'autres espèces d'entérovirus et échanger avec eux du matériel génétique, ce qui conduirait à l'émergence de nouveaux virus pathogènes.

Ceci a pu être confirmé par un séquençage partiel du génome des souches virales en cause, qui a également permis de conclure que celles-ci s'étaient multipliées ou avaient circulé pendant un an à deux ans et demi, preuve d'une couverture vaccinale basse, les souches virales ayant «rencontré» suffisamment de personnes non vaccinées pour se multiplier et circuler.

⁵ «Recombinant vaccine Derived Poliovirus in Madagascar»: *Emerging Infectious Diseases* - Juillet 2003, vol.9

Dominique ROUSSET (1), Mala RAKOTO-ANDRIANARIVÉLO (1), Richter RAZAFINDRATSIMANDRESY (1), Bakolalalo RANDRIAMANALINA (2), Sophie GUILLOT (3), Jean BALANANT (3), Philippe MAUCLÈRE (1) et Francis DELPEYROUX (3)

1 Institut Pasteur de Madagascar, Antananarivo, République de Madagascar

2 Ministère de la Santé, Antananarivo, République de Madagascar

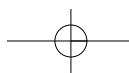
3 Institut Pasteur, Paris, France

Contacts :

- Francis DELPEYROUX, IP, Paris. Tél : 01 40 61 33 22 - E-mail : delpeyro@pasteur.fr

- Philippe MAUCLÈRE, IP, Madagascar. Tél : 00 261 20 22 412 72 - E-mail : mauclere@pasteur.mg

- Dominique ROUSSET, IP, Madagascar. Tél : 00 261 20 22 401 64 - E-mail : drousset@pasteur.mg





Les cas sont donc survenus dans une région où la couverture vaccinale contre le poliovirus était insuffisante. Une couverture élevée permet en effet de prévenir la circulation des poliovirus sauvages comme des poliovirus dérivés du vaccin : elle est donc essentielle. En réponse à l'épidémie, les autorités sanitaires locales ont mené une campagne de vaccination au porte à porte avec le VPO ce qui a permis de juguler l'épidémie. Des recherches de terrain sont en cours pour vérifier si les souches dérivées du vaccin se sont disséminées et pour rechercher activement d'autres cas éventuels.

Ces travaux mettent en évidence des aspects nouveaux de l'évolution des entérovirus et soulignent la nécessité de surveiller dorénavant non seulement la circulation des poliovirus sauvages dans le monde, mais aussi celle de virus dérivés de souches virales vaccinales (*Source* : Service de Presse, Institut Pasteur, Paris. Tél : 01 45 68 81 46 ; e-mail : presse@pasteur.fr).

IV • INTERNATIONAL

LES RELATIONS INTERNATIONALES DANS LES DÉPARTEMENTS

Le Bulletin de l'AAEIP se fera dorénavant l'écho de ces relations internationales au fur et à mesure de leur communication dans le Journal interne de l'Institut Pasteur, Campus.

- L'insertion de ses équipes au sein d'un tissu collaboratif international est une priorité pour le **Département de Neurosciences**. Des collaborations scientifiques existent avec des équipes situées en Allemagne, Espagne, Grèce, Israël, Italie, Norvège, Royaume-Uni, Suède, Suisse ainsi qu'aux Etats-Unis. Elles concernent notamment le développement des structures olfactives et les neuropathologies (en particulier l'autisme). Plusieurs projets ont été menés dans le cadre du 5^{ème} programme cadre de recherche et de développement technologique (5^{ème} PCRDT) de l'Union européenne, portant sur des thèmes tels que les mécanismes de migration des cellules souches embryonnaires, le vieillissement ou la dépendance à la nicotine. Dans le cadre du 6^{ème} PCRDT, plusieurs équipes participent à des candidatures autour des déficits sensoriels, de la structure des protéines membranaires et de la dépendance au tabac (*Source* : *Campus*, 2003, 53, p.18).

- Les collaborations scientifiques internationales occupent une place importante au sein du **Département de Parasitologie**. Des collaborations existent avec des équipes situées en Europe (Allemagne, Belgique, Danemark, Espagne, Grande-Bretagne, Pays-Bas, Pologne, Portugal, Suisse, Suède, Tchèque), aux Etats-Unis, en Australie, en Israël et dans de nombreux pays situés en zone d'endémie parasitaire (Sénégal, Mali, Gabon, Mozambique, Madagascar, Ghana, Mayotte, Colombie, Brésil, Bolivie, Sri Lanka, Indonésie, Cambodge, Thaïlande).

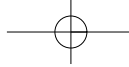
Les collaborations avec les Instituts Pasteur du Réseau international et instituts associés sont tout aussi importantes. Par exemple, le programme " Etude de la biodiversité de *Plasmodium falciparum* ", coordonné par Odile PUJALON, implique des équipes des Instituts Pasteur de Madagascar, Cambodge, Sénégal et Guyane française, en collaboration avec la Génopole.

Au sein de l'Espace européen, plusieurs groupes participent à des consortiums dont le but est de développer un vaccin contre le paludisme (EUROMALVAC) ou des outils de diagnostic (RESMALCHIP). Un projet de " Réseau d'excellence " (Bio-malpar), regroupant 14 institutions et coordonné par Artur SCHERF, vient d'être soumis. Un autre projet, " Surveillance et contrôle des leishmanioses ", coordonné par JC Dujardin, a été soumis début mai dans le cadre des actions coordonnées (INCO-MPC-1).

Le Département de Parasitologie est également impliqué dans l'effort " Drugs for neglected diseases initiative ". De plus, Odile PUJALON représente l'Institut Pasteur au sein de la Multilateral initiative on Malaria. Il est à noter qu'un numéro spécial des *Annales de l'Institut Pasteur* (" Susceptibilité aux maladies infectieuses ") a été publié et distribué aux membres du troisième congrès MIM-Malaria in Africa (Arusha, Tanzanie, Nov. 2002) (*Source* : *Campus*, 2003, 53, p.23).

- Toutes les unités du **Département de Pathogénèse microbienne** sont impliquées dans des relations scientifiques internationales, notamment avec le Réseau international des Instituts Pasteur et instituts associés.

Les unités du Département sont aussi à l'origine ou participent à de nombreux programmes internationaux ou réseaux. Danièle POSTIC, de l'unité de Bactériologie moléculaire et médicale, coordonne un réseau concernant l'épidémiologie de la Borréliose de Lyme sur le pourtour méditerranéen dans le cadre d'un appel d'offres européen en association avec le Portugal, l'Algérie, le Maroc, la Tunisie, la Belgique et la Suisse. Au sein du GEFH (Groupe d'études français des Helicobacter), l'unité de Pathogénie bactérienne des muqueuses participe et anime une étude multicentrique sur l'étude de la biodiversité des souches de *H. pylori* isolées en France. Dans le cadre des consortiums ou réseaux européens, Stewart COLE, de l'unité de Génétique moléculaire bactérienne, coordonne le réseau européen " Structural and functional genomics of *Mycobacterium tuberculosis* " et Brigitte GICQUEL, de l'unité de Génétique mycobactérienne, le réseau européen " TB vaccine cluster " (*Source* : *Campus*, 2003, 53, p.30).



V • DECISIONS ET NOMINATIONS

Le directeur du Centre d'information scientifique (CIS) a pour mission d'assurer l'acquisition et la diffusion des informations scientifiques de toute nature touchant les intérêts de l'Institut Pasteur. Dans ce cadre, il est également chargé de promouvoir et d'organiser sous toutes leurs formes la recherche en sciences humaines dans le domaine biologique et médical, la diffusion de ses résultats et, d'une manière générale, la diffusion de la culture scientifique dans ces domaines. Il a pour cela autorité sur l'ensemble des services (interface WEB, pôle systèmes et réseaux, publications, colloques, archives, photographie, reproduction, médiathèque) concourant directement à cette mission. **Gabriel GACHELIN**, chef de service et directeur délégué chargé des systèmes d'information, est nommé **Directeur du Centre d'Information scientifique**, rattaché à la Direction des Equipements technologiques et stratégiques (D/1/03/N° 216).

Suite à la démission du Professeur André KLIER des fonctions qu'il exerçait sur le campus, il est décidé de confier la **direction par intérim, de l'unité (Institut Pasteur) de Biochimie microbienne** à **Patrick TRIEU-CUOT**, Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur, pour la période du 1^{er} mai au 31 décembre 2003. La nomination du Directeur de l'URA 2172 CNRS⁶ par la Direction scientifique du département des Sciences de la vie du CNRS interviendra dans semaine du 12 au 16 mai prochain (AG/AB/03/N° 103).

Nicole TANDEAU DE MARSAC est nommée Chargée de

mission, à temps partiel, auprès du Directeur général adjoint Chargé des affaires scientifiques et médicales. Elle sera, avec Madame Florence COLBÈRE-GARAPIN, la correspondante des unités, unités postulantes et groupes à 5 ans nouvellement créés (AG/AB/03/N° 115).

Le Professeur **Jacques LOUIS** a pris ses fonctions de **Directeur du département de Parasitologie** le 2 juin 2003, succédant ainsi à Artur SCHERF, Directeur de Recherche CNRS. Jacques LOUIS prend la direction de l'unité de recherche "Réponses précoces aux parasites et immunopathologie", créée et comptant du 6 juin 2003. Cette unité de recherche est rattachée au département de Parasitologie (*Source : Campus, 2003, 53, p. 42*).

Ralf ALTMAYER a été nommé Directeur du **Centre de Recherche Université de Hong-Kong - Pasteur**. (*Source : Campus, 2003, 53, p. 42*).

Pierre-Etienne BOST est nommé Directeur délégué pour les Opérations de recherche. Rattaché à Alain GOUYETTE, Directeur général adjoint Chargé des affaires scientifiques et médicales, il l'assiste pour les relations avec les départements, l'affectation des ressources, la mise en oeuvre et le suivi des plans d'action. Par ailleurs, le département des Sciences chimiques du CNRS vient de lui confier la direction, par intérim, de l'URA 2128 CNRS (unité de Chimie organique), du 1^{er} juillet au 31 décembre 2003 (Tam HUYNH DINH faisant valoir ses droits à la retraite au 30 juin) (*Source : Campus, 2003, 53, p. 42*).

VI • DISTINCTIONS

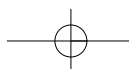
Monique DUBOIS-DALCQ, chef de l'unité de Neurovirologie et régénération du système nerveux, a été nommée Membre correspondant étranger de l'Académie royale de médecine de Belgique.

La Fondation Recherche médicale a décerné, le 19 juin 2003, le Grand prix spécial à **Jean-Paul LÉVY** pour " souligner sa contribution exceptionnelle à l'immunologie tumorale et à la rétrovirologie ainsi que son implication dans le développement

de la recherche médicale. Hématologiste spécialisé en virologie et en immunologie à l'Institut Pasteur et à l'Institut Cochin de Génétique moléculaire à Paris, Jean-Paul LÉVY s'est attaché tout au long de sa carrière à développer le transfert des avancées de la recherche fondamentale vers les applications médicales. Il continue aujourd'hui dans le domaine vaccinal, en suivant particulièrement le développement du vaccin contre le VIH " (*Source : Campus, 2003, 53, p. 42*).

⁶ Comprenant :

- l'unité des Toxines et pathogenèse bactérienne (M. MOCK)
- l'unité des Cyanobactéries (N. TANDEAU DE MARSAC)
- l'unité des Membranes bactériennes (C. WANDERSMAN)
- l'unité postulante des Régulations transcriptionnelles (A. KOLB)
- l'unité de Génétique moléculaire (A. PUGSLEY)
- l'unité de Biochimie microbienne (P. TRIEU-CUOT)
- le groupe à 5 ans de Génétique des biofilms (J.M. GHIGO)





VII - INFORMATIONS DIVERSES

Accord avec GlaxoSmithKline pour développer un vaccin anti-Sida

L'Institut Pasteur a signé le 16 avril 2003 avec GlaxoSmithKline Biologicals (GSK), un contrat de licence non exclusive pour le développement, la fabrication et la commercialisation d'un vaccin contre le VIH.

Ce contrat de licence donne à GSK Biologicals l'accès à un portefeuille de brevets de l'Institut Pasteur dans le domaine du VIH. Cet accord consolide les liens de partenariat établis depuis plusieurs années entre GSK et l'Institut Pasteur dans la recherche et le développement de nouveaux vaccins contre les maladies infectieuses.

GlaxoSmithKline Biologicals a un programme actif de développement de vaccin VIH avec des approches prophylactique et thérapeutique. Après avoir démontré des résultats prometteurs en essais pré cliniques, GSK Biologicals a actuellement un candidat vaccin VIH en phase 1, avec une approche prophylactique, en collaboration avec les National Institutes of Health aux Etats-Unis.

En signant ce contrat avec Jean STEPHENNE, Président de GSK Biologicals, Philippe KOURILSKY a déclaré : " Cet accord est très important car il ouvre, grâce au potentiel de développement de GSK, un des leaders mondiaux dans le domaine des vaccins, un nouvel espoir dans la lutte contre le Sida, lutte qui demeure l'un des objectifs stratégiques de l'Institut Pasteur " (*Source : Campus, 2003, 53, p. 41*).

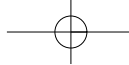
JE REGLE MA COTISATION

J AGIS EN ADHERENT RESPONSABLE

ET VOUS ?

Chaque année les rappels aux cotisants retardataires coûtent à l'Association près de 800 euros de frais postaux et divers.

Ils privent 2 étudiants en difficultés de percevoir une allocation de soutien pour suivre un enseignement à l'Institut Pasteur ou pour y achever leur thèse.



INFORMATIONS

I- CONGRÈS ET COLLOQUES⁽¹⁾

Octobre 2003

- 23 - 25 octobre à Saint Julien en Beaujolais
Dynamique des disciplines biologiques - Rôle des organismes modèles dans la recherche médicale
 Informations :
<http://www.pasteur.fr/infosci/conf/dynamique/>

Novembre 2003

- 19 - 21 novembre à Annecy (Les Pensières)
Immunological approaches for control of nosocomial infections
 Programme et inscriptions : www.fond-merieux.org
 Contact : Betty DODET, Fondation Mérieux.
 E-mail : betty.dodet@fondation-merieux.org

Janvier 2004

- 19 - 21 janvier à l'Institut Pasteur
 Journées de biologie Necker - Institut Pasteur
 Contact : Darbon Van Laethem, 101 rue Mademoiselle, 75015 Paris. Tél. 01 45 66 53 42, téléc. 01 47 83 44 88.
 E-mail : dvl@wanadoo.fr
- 30 janvier et 1^{er} février à Angers
Assises de génétique humaine et médicale
 Informations : <http://www.assises-genetique.org/>
 Formulaire d'inscription :
<http://www.assises-genetique.org/inscription.htm>

Mars 2004

- 22-27 mars à Veyrier du Lac (Annecy)
Production of vaccines and antibodies in plants
 Renseignements : www.fond-merieux.org
 Contact : Betty DODET, Fondation Mérieux.
 E-mail : betty.dodet@fondation-merieux.org

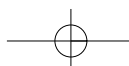
Avril 2004

- 14-17 avril à l'Institut Pasteur
GENOMES 2004 : International Conference on the Analysis of Microbial and Other Genomes
 Contact : Sandra BOBICHON (colloque@pasteur.fr)
http://www.pasteur.fr/recherche/unites/gmp/sitegmp/gmp_conf.html

Mai 2004

- 24-26 mai à Arlington (Etats-Unis)
Seventh Annual Conference on Vaccine Research
 Organized by the National Foundation for Infectious Diseases, with the co-sponsorship of the Merieux Foundation
 Information, inscription: <http://www.nfid.org>

¹ Les congrès et colloques ne sont mentionnés qu'une fois.





II • CONFÉRENCES

■ 5 au 17 octobre 2003 à Dijon

Journées d'Immunologie et d'immunothérapie des cancers

Informations :

<http://www.jeunesdocteurs.com/bloc-notes/2003/ad-437.html>

■ Mardi 21 Octobre 2003, Institut Pasteur

Journée de l'Entrepreneur en Biotechnologies

Face au succès des trois précédentes éditions de La Journée de l'entrepreneur en biotechnologies, l'Institut Pasteur et Apax Partners unissent leurs compétences pour la quatrième année consécutive. Dans un environnement délicat, il est essentiel de comprendre les nouveaux enjeux de l'industrie des biotechnologies. Cette journée traitera de ce thème central : **Construire et pérenniser les entreprises de biotechnologie : comment évoluer vers la maturité**. Les différents intervenants s'attacheront à donner un éclairage le plus concret possible sur la façon d'aborder l'environnement. Des sessions plénières traitant de

thèmes transversaux tels que l'amélioration de la productivité et la création de valeur alterneront avec 4 ateliers - à choisir parmi les 6 proposés - permettant ainsi une meilleure qualité d'échanges et un réel partage d'expertise.

Contact : Sandra BOBICHON (colloque@pasteur.fr)

<http://www.pasteur.fr/infosci/conf/sb/bioentreprise2003/> (en français)

■ 15-16 janvier 2004, Euroconférences, Institut Pasteur
Cancer, nouvelles données moléculaires dans le diagnostic et la thérapie

Comité Scientifique : M.A. BUENDIA, G. DIGHERO, J.L.

PICO, Y. YARDEN

Pour toutes informations complémentaires, merci de faxer votre demande au 01 40 61 34 05, ou écrire à INSTITUT PASTEUR EUROCONFÉRENCES - C.I.S. - 28 rue du Docteur Roux 75015 Paris, France, ou écrire à euroconf@pasteur.fr.

III • BOURSES, STAGES DOCTORAUX ET POST-DOCTORAUX

Stages post-doctoraux à l'institut Pasteur :

■ Etude des divisions asymétriques chez la levure.

Expérience en génétique ou biologie moléculaire et cellulaire souhaitée.

Contact : Pour postuler, merci d'envoyer un CV complet ainsi que les noms et adresses de trois personnes pouvant être contactées pour référence à : Benoit ARCANGIOLI, Unité de la dynamique du génome, Institut Pasteur, 25-28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15. E-mail : barcan@pasteur.fr

■ Rôle des modifications post-traductionnelles apparentées à l'ubiquitination dans la pathogénèse chez l'homme

Description : Rôle des modifications post-traductionnelles apparentées à l'ubiquitination dans la pathogénèse chez l'homme. Un effort important sera consacré à l'étude du mécanisme et des effets de la conjugaison par SUMO dans le contexte de la compartimentalisation fonctionnelle du noyau et sa signification biologique dans les maladies moléculaires comme les leucémies aiguës, les infections virales et les maladies neurodégénératives.

Les candidats devront posséder une bonne expérience en biologie moléculaire et cellulaire. La date de prise d'effet du stage post-doctoral sera décidée en fonction des disponibilités du candidat sélectionné. Salaire CEE de trois ans.

Contact : Pour postuler, merci d'envoyer un CV complet ainsi que les noms et adresses de trois personnes pouvant être contactées pour référence à : Dr Anne DEJEAN, Unité d'Expression Génétique, Institut Pasteur, 25-28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15. E-mail : adejean@pasteur.fr

logies. Cette journée traitera de ce thème central : **Construire et pérenniser les entreprises de biotechnologie : comment évoluer vers la maturité**. Les différents intervenants s'attacheront à donner un éclairage le plus concret possible sur la façon

d'aborder l'environnement. Des sessions plénières traitant de thèmes transversaux tels que l'amélioration de la productivité et la création de valeur alterneront avec 4 ateliers - à choisir parmi les 6 proposés - permettant ainsi une meilleure qualité d'échanges et un réel partage d'expertise.

Contact : Sandra BOBICHON (colloque@pasteur.fr)

<http://www.pasteur.fr/infosci/conf/sb/bioentreprise2003/> (en français)

■ BOURSES FULBRIGHT 2004-2005

La Commission franco-américaine d'échanges universitaires et culturels attribue des bourses Fulbright à des doctorants et des chercheurs. Date limite de candidature : 30 novembre 2003.

<http://www.jeunesdocteurs.com/bloc-notes/2003/ad-453.html>

■ ELITE INTERNATIONALE

La direction générale wallonne des technologies, de la recherche et de l'énergie lance un nouveau programme, «Elite internationale», pour attirer des jeunes chercheurs étrangers de haut niveau. Date limite de candidature : 1er octobre 2003.

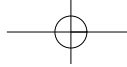
<http://www.jeunesdocteurs.com/bloc-notes/2003/ad-452.html>

■ Maladies inflammatoires : Bourses de l'Association François Aupetit . Les bourses de l'Association François Aupetit sont destinées à financer un projet de recherche original, fondamental ou clinique, en relation avec les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

Elles s'adressent à toute personne ou tout groupe de recherche justifiant d'une compétence dans le domaine de recherche concerné.

Dossier à renvoyer avant le 15 octobre

Contact : Association François Aupetit, Hôpital St Antoine, Bâtiment Caroli, 9e étage, 184 rue du Faubourg Saint-Antoine, 75571 PARIS Cedex 12



IV • PRIX ET DISTINCTIONS

■ Système nerveux

Un prix international de 45.735 euros sera attribué à un chercheur qui s'est distingué par une activité de recherche fondamentale dans les domaines de l'éthologie, la paléontologie, l'archéologie, l'anthropologie, la psychologie, l'épistémologie, la logique et les sciences du système nerveux.

Discipline pour le Prix International 2003 : «Nature et fonction de la conscience»

Les propositions de candidature doivent comporter : CV, liste des publications, résumé (4 pages maximum) du travail de recherche.

La candidature doit être présentée par une personnalité scientifique reconnue.

Candidature avant le 31 octobre 2003.

Contact : Fondation Fyssen, 194, rue de Rivoli, 75001 Paris. Site web : www.fondation-fyssen.org

■ PRIX GREMI

Montant : 1.600 Euros

Objet : récompenser un jeune chercheur auteur d'une thèse d'université soutenue entre décembre 2002 et novembre 2003 et concernant le domaine des médiateurs de l'inflammation.

Public concerné : chercheurs âgés de moins de 35 ans

Date limite de dépôt des dossiers de candidature : le 30 décembre 2003

Date de remise du prix : mars 2004

Les candidats doivent faire parvenir en 3 exemplaires leur mémoire de thèse ainsi qu'un curriculum vitae à Michel CHIGNARD, Président du GREMI, à l'adresse suivante : Institut

Pasteur - Unité de Défense Innée et Inflammation - INSERM E336 - 25, rue du Docteur Roux - 75015 Paris. Tél. : 01 45 68 86 88 - Fax : 01 45 68 87 03. E-mail : gremi@pasteur.fr

■ Mother-Child Network Scientific Prize 2003

The Mother and Child Network Scientific Prize 2003 was created to promote the cooperation between scientific teams in developing countries and industrialized countries, in the domain of the Mother and Child Health. This Prize was sponsored by the Virus Cancer Prevention Association.

The prize 2003 is aimed to recognize a researcher or clinician (no nationality restriction) : Having a collaborative project between a scientific teams of a developing country and an industrialized country, Having a research project either in basic sciences, clinical or epidemiological project in the field of infectious diseases, including virus associated cancers.

The amount of this first prize of 8.000,00 Euros is to cover a travel and stay costs for an exchange with the partner laboratory, partner or laboratory, equipment or critical reagents.

The application form can be downloaded in the <http://www.mother-child.org> Website. Registration to the Mother-Child Network is necessary to download. Application must be returned by e-mail or ground mail in three copies before October 31, 2003 to : Dr. Nancy CUERVO / Pr. Guy de THÉ Unité d'Epidémiologie et Physiopathologie des Virus Oncogènes (Mother and Child Health International Research Network)

Institut Pasteur, 25-28, Rue du Dr. Roux 75724 Paris Cedex 15. For more information contact Nancy CUERVO by e-mail to ncuervo@pasteur.fr

V • APPELS D'OFFRES

■ Modèles murins de maladies rares

L'Institut Clinique de la Souris (ICS) dirigé par le Pr. Pierre CHAMBON est un centre de ressource nationale susceptible de construire des modèles de souris génétiquement modifiés et d'en évaluer les grands caractères phénotypiques.

Cette ressource est d'un intérêt évident pour la recherche sur les maladies rares. C'est pourquoi, en accord avec Pierre CHAMBON, des projets de création de modèles souris de maladies rares, par transgénèse ou recombinaison homologue, pourront être développés par l'ICS.

En pratique, si vous souhaitez bénéficier de ces ressources, vous devez adresser le dossier et les formulaires au GIS-Institut des maladies rares par courrier électronique à pborensz@infobiogen.fr

Un avis scientifique sera donné par le Conseil Scientifique du GIS-Institut des maladies rares dans les trois semaines suivant la réception du dossier. En cas de réponse favorable, la demande sera alors transmise au Pr. Pierre CHAMBON.

Le dossier et les formulaires sont disponibles sur le site : <http://www.orpha.net/nestasso/GIS-IMR>

■ Alcoologie 2004

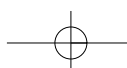
Poursuivant sa politique de soutien à la recherche et prenant en compte les résultats des expertises collectives de l'INSERM (« Effets sur la santé 2002 » ; « Dommages sociaux, abus et dépendance 2003 »), l'IREB fait un appel de propositions pour des recherches en alcoologie 2004. Les demandeurs pourront donc se reporter à ces expertises où ils trouveront l'argumentation thématique et bibliographique nécessaire.

A titre d'exemples, dans le cadre des études biologiques, les propositions peuvent porter sur :

- aspects énergétiques, moléculaires, génétiques, biologiques, nutritionnels et physiopathologiques du métabolisme de l'alcool,
- alcool et cerveau, alcool et développement, alcool et foie, alcool et système cardiovasculaire...

Dans le domaine des études sociales, de l'abus et de la dépendance, les propositions peuvent porter sur :

- consommation d'alcool (épidémiologie, usages sociaux, interactions entre facteurs génétiques et environnementaux de l'individu, aspects psychopathologiques, conséquences sociales, vulnérabilité...),
- facteurs prédictifs d'abus et de dépendance...





- pour en développer l'exploitation ou favoriser des comparaisons, l'IREB met à la disposition des chercheurs l'ensemble des données obtenues lors des « enquêtes jeunes » de 1996 et de 2001.

Ces études devront avoir lieu en France ou permettre des comparaisons.

Ne font pas partie des thèmes de recherches de l'IREB :

- actions de prévention primaire,
- études des complications tardives de la maladie alcoolique.

Conditions d'attribution

Peuvent solliciter une aide tous les chercheurs institutionnels ayant déjà travaillé sur ces sujets ou désirant s'y investir. Aides annuelles éventuellement renouvelables.

Demande à faire parvenir à l'IREB avant le 15 décembre 2003 pour une évaluation par le comité scientifique en janvier 2004. Budget total annuel de l'ordre de 170.000 euros.

Dossier à retirer à l'IREB et disponible sur le site www.ireb.com, à partir du 15 septembre 2003.

VI • DIVERS

■ DOCTORIALES DE TOULOUSE SESSION INP TOULOUSE

Les prochaines Doctoriales Toulouse (session de l'Institut national polytechnique de Toulouse) se tiendront du 24 au 28 novembre 2003 à Boussens (Haute-Garonne).

<http://www.doctoriales.com/agenda/2003/inp-toulouse.html>

■ ALEURE

Créée en octobre 2001, Aleure est une amicale des listes de diffusion et d'information de l'enseignement supérieur et de la recherche. Avec une cinquantaine de membres, elle offre un

précieux « guichet unique » à tous ceux qui souhaitent diffuser des informations dans le monde académique.

<http://www.jeunesdocteurs.com/fplr/78/16.html>

■ MAISON DES ÉCOLES DOCTORALES DE MONTPELLIER

La Maison des écoles doctorales de Montpellier vient de lancer son nouveau site web, qui contient des informations fort utiles et intéressantes sur la formation et l'emploi des docteurs.

<http://www.jeunesdocteurs.com/souris/2003/996.html>

JOURNEE DU BICENTENAIRE DE L'ACADEMIE NATIONALE DE PHARMACIE

Jeudi 20 novembre 2003

Pré-programme

Accueil de 9 h 30 à 10 h dans le Grand amphithéâtre de la Sorbonne

Séance solennelle

« Deux siècles de Pharmacie à travers la vie de l'Académie »

« *Ouverture* » par P. JOLY et « *Présentation de l'Académie* » par F. BOURILLET (15 min.)

« *Discours officiel du Président de la République* » (15 min.)

« *L'histoire de l'Académie* » par J. FLAHAUT (20 min.)

« *La place des Pharmaciens et de l'Académie dans la Société du XXIème siècle* » par C. DREUX (15 min.)

« *Le pharmacien dans le monde* » par J. PARROT (15 min.)

« *Les pharmaciens et la recherche biologique* » par J.C. SCHWARTZ (20 min.)

« *Médicaments, Académie et Société au cours du XXème siècle* » par P. JOLY (15 min.)

Déjeuner-buffet (12 h 30 à 14 h 30)

Séance prospective

« Défis de Santé publique et perspectives de la recherche thérapeutique à l'aube du XXIème siècle »

« *Ouverture : l'Académie et les médicaments du futur* » par P. JOLY

« *Les défis de santé publique* » par J. MENARD (20 à 30 min.)

« *Les médicaments du XXIème siècle* », table ronde animée par un journaliste (1 h 30).

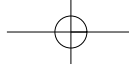
Avec la participation de : G. LE FUR, P. POTIER, J. WEISSENBACH, B. LE PECQ, P. SALIOU

« *Le médicament au service de l'Humanité* » par F. SAUER (20 à 30 min.).

Cocktail de clôture dans la Salle Richelieu autour d'un invité de marque (le Professeur JF MATTEI, Ministre de la Santé, sous réserve de son accord).

Renseignements complémentaires : Secrétariat général de l'Académie nationale de Pharmacie, 4 avenue de l'Observatoire – 75270 PARIS Cedex 06. Tél. 01 43 25 54 49 ; téléc. 43 29 45 85 ; Mél : info@acadpharm.org

¹ Les congrès et colloques ne sont mentionnés qu'une fois.



LIVRES

NOS LECTURES

o LA MÉDECINE ROUENNAISE À L'ÉPOQUE DE CHARLES NICOLLE, DE LA FIN DU XIX^E SIÈCLE AUX ANNÉES 1930.

Mélanie MATAUD & Pierre-Albert MARTIN. Préface de Béatrice PANNEQUIN-NICOLLE. Caricatures de René DUBUC. Edité en faveur de l'Association Charles Nicolle pour la recherche médicale hospitalière en Haute-Normandie. Ed. Bertout (2003). Commande auprès du Docteur PA MARTIN, 101 rue Martainville - 76000 Rouen (30 euros à joindre à la commande).

Les années rouennaises de Charles NICOLLE, difficiles et marquées par l'échec, ont été occultées par ses succès à Tunis. Ce n'est pas le moindre mérite du livre de Mélanie MATAUD que d'avoir rappelé cette période marquée par les rivalités et les combats entre deux clans : les médecins en place, satisfaits de l'Ecole de médecine de Rouen, des hospices civils et des dispensaires, et la jeune génération conquise par les découvertes de Louis PASTEUR. Ce conflit, assez banal en soi, prend une autre dimension quand on sait que le chef de file des opposants n'est autre que Charles NICOLLE et qu'il sortira vaincu de cette bataille pour mieux rebondir à Tunis.

Les auteurs commencent par décrire la vie médicale à Rouen à la fin du XIX^e siècle, puis traitent en détail le rôle de Charles NICOLLE dans la période contestataire jusqu'à son départ en 1902, et exposent à la fin de l'ouvrage la prolongation du conflit au delà de la guerre de 1914.

Mélanie MATAUD a traité le sujet en historienne. A ses compétences de documentaliste s'est ajoutée la touche personnelle du petit-fils d'Albert MARTIN, un camarade et ami très proche de Charles NICOLLE. Pierre-Albert MARTIN, du Groupe d'Histoire des Hôpitaux de Rouen, s'est toujours intéressé à ces années pendant lesquelles son grand-père luttait aux côtés du futur Prix Nobel contre les préjugés et les divergences d'opinion sur des sujets brûlants comme le croup, les maladies vénériennes, la tuberculose ou l'alcoolisme entretenus par la misère.

Cet ouvrage repose sur une documentation abondante et précise. Très bien écrit et facile à lire, il fait revivre de façon passionnante toute une période de la vie médicale à Rouen. De nombreuses photographies de l'époque et d'étonnantes caricatures de René DUBUC le rendent encore plus attrayant. Il touche de près notre association puisqu'on y découvre Charles NICOLLE suivant, en 1892, le cours de Microbie technique de l'Institut Pasteur, l'ancêtre du Grand Cours, puis enseignant lui-même la microbiologie à Rouen jusqu'en 1902.

M.H.

PARUTIONS RECENTES

o RAPHAEL LOUIS BISCHOFFSHEIM LE MECENE.

L'homme qui a offert à la France le plus grand Observatoire au Monde¹

Michel Fulconis. Préface de Jean-Claude Pecker, Membre de l'Institut. Ed. Regards sur le Monde, 4938, route de Saint Jeannet, 06700 SAINT Laurent du Var, tél. 04 93 07 24 70. Le prix de souscription (22 €) sera accordé aux personnes qui se recommandent de l'AAEIP. 352 pages. Format 15X22,5.

... « Raphaël Bischoffsheim est aussi un homme de son temps et un acteur non négligeable de ce que l'on a appelé la Belle époque, période de joie, d'insouciance et de luxe. En lisant ce roman biographique, vous le suivrez tout au long de sa vie passionnante et surprenante. Avec lui, vous rencontrerez les personnages célèbres comme l'architecte Charles Garnier, le biologiste Louis Pasteur. Vous visiterez l'Exposition universelle de 1889 en compagnie de Gustave Eiffel... Vous irez à La Turbie, village dominant Monte Carlo pour suivre la restauration du trophée bâti par l'empereur romain Auguste. Mais surtout, vous passerez quelques nuits sans sommeil dans la plus grande coupole du monde à découvrir des étoiles, des astéroïdes et des comètes. Vous le chercherez à Paris, dans les Pyrénées, dans les Alpes, au sommet du Puy de Dôme, dans la région niçoise ou

dans sa villa en Italie.... ».

o INITIATION À L'ÉTHIQUE MÉDICALE

Ouvrage sous la direction de H. BRUNSWIC et M. PIERSON. Ed. Vuibert, juillet 2002 (23 euros).

o FIEVRE APHTEUSE : FAIRE FACE AUX NOUVEAUX DILEMMES

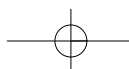
G.R. THOMSON, éd. Revue scientifique et technique de l'OIE, Vol. 21 (3), décembre 2002. ISSN 0253-1933 - ISBN 92-9044-568-8. Réf. R21 3. 498 Pages (45 euros, frais d'envoi par voie aérienne).

o TEL CLIMAT, QUELLE SANTÉ ?

Maurice HUET*. 1 vol. 182 pages. Ed. l'Harmattan, Paris, 2002.

o MANUAL OF STANDARDS FOR DIAGNOSTIC TESTS AND VACCINES

OIE, 2000.





o **CHIMIE ORGANIQUE**

Christian BELLEC. Ed. Vuibert/ISBN : 2-7117-8999-3. 18x24 cm, 320 pages, 28 euros.

o **LA GUERRE CONTRE LES VIRUS**

Jean-François SALUZZO*. Ed. Plon, septembre 2002.

o **AL CABO DE LA VELAS - EXPEDICIONES CIENTIFICAS EN COLOMBIA. SIGLOS XVIII, XIX Y XX**

Alberto GOMEZ GUTIERREZ*. Instituto Colombiano de Cultura Hispanica, Bogota, Colombie (1998).

o **DEL MACROSCOPIO AL MICROSCOPIO
HISTORIA DE LA MEDICINA CIENTIFICA**

Universidad Javeriana et Alberto GOMEZ GUTIERREZ*. Academia Nacional de Medicina, Bogo, Colombia (2002).

o **SINGULAR SELVES : HISTORICAL ISSUES AND
CONTEMPORARY DEBATES IN IMMUNOLOGY**

Dialogues entre soi. Aspects historiques et débats contemporains en immunologie.

Ed. A.M. MOULIN* and A. CAMBROSIO. Ed. Elsevier (en anglais), 2001.

o **LA BIOLOGIE DES ORIGINES A NOS JOURS**

Une histoire des idées et des hommes

Pierre VIGNAIS* (2001). Collection Grenoble Sciences. A commander à EDP Sciences, 7 avenue du Hoggar, BP 112, P.A. de Courtaboeuf, 91944 Les Ulis Cedex A. 480 p., 35 euros.

o **LES INSTITUTS PASTEUR D'OUTRE-MER**

Cent vingt ans de microbiologie française dans le monde.

Jean-Pierre DEDET*. A commander aux Ed. L'Harmattan, 7 rue de l'Ecole polytechnique, 75005 Paris, 2000.

o **ADRIEN CHARLES LOIR, PASTEURIEN DE
PREMIÈRE GÉNÉRATION**

par Pieter G. JANSSENS, Marc WERY & Sonia PASKOFF.
Disponible au Musée de l'Institut Pasteur.

* Membre de notre Association

** Membre d'honneur de notre Association.



VIE DE L'ASSOCIATION

JOURNÉE REGIONALE DES ANCIENS ÉLÈVES DE L'INSTITUT PASTEUR Angers, 27 juin 2003

C'est à Angers que s'est tenue la plus récente réunion régionale patronnée par l'Association.

Un programme scientifique très alléchant s'étalait sur la journée entière, préparé par les Professeurs Françoise LUNEL-FABIANI et Bernard CARBONNELLE.

En introduction, notre Président, Michel DUBOS, a rappelé que ces journées de conférences scientifiques, entièrement confiées à des anciens élèves de la région et très largement ouvertes à tous nos collègues résidant dans la région, sont une occasion de promotion de la recherche et du développement dans l'esprit pastorien.

Le Maire de la ville d'Angers avait tenu à assister à l'ouverture de la journée. Il a souligné l'importance des biothèques qui ont un grand avenir à Angers : 95 % des laboratoires travaillent en liaison avec l'industrie, ce qui se traduit par le fait que le quart du budget de la recherche vient de contrats.

La journée était divisée en trois sessions comprenant chacune trois interventions de grande qualité sur des sujets d'actualité.

Dans la première partie, consacrée à l'**antibiorésistance**, le Pr. Marie-Laure JOLY GUILLOU, venue de Paris mais qui rejoindra le CHU d'Angers à la prochaine rentrée, a fait une mise au point sur la résistance de *Staphylococcus aureus* à la méticilline (SARM) de l'hôpital à la communauté. Très faible un peu partout dans les années 1970-85, la prévalence des SARM est actuellement de l'ordre de 30 % en France, en Italie, en Espagne, dépassées par les Etats-Unis et l'Australie (50 %) alors qu'elle est restée inférieure à 1 % aux Pays-Bas et en Scandinavie. La confusion dans sa définition est en partie responsable de l'absence de consensus dans le traitement. Le portage dans la communauté est classiquement transitoire et lié aux patients mais certaines observations viennent à l'encontre de ces idées reçues. Il est plus lourd dans le personnel de soins long séjour et ne diminue significativement qu'à l'occasion des vacances. On doit prendre en compte la possibilité qu'un hôpital soit à l'origine de la dissémination de souches de SARM qui sont par la suite acquises dans la population générale, ce fait se traduit par l'émergence de clones pathogènes dans la communauté. Dépistage systématique et ciblage donnent le même rendement.

B. CARBONNELLE a ensuite retracé avec beaucoup d'humour l'histoire de quarante années de techniques de diagnostic des mycobactéries, du cobaye aux puces (électroniques). Il a ainsi réveillé des souvenirs enfouis dans la mémoire de plusieurs d'entre nous. Il a rappelé les avantages relatifs de chaque avancée, raccourcissant les délais, améliorant sensibilité et spécificité pour arriver aux automates, à la méthode PRA (assez difficile d'interprétation), à la commercialisation des kits. Il a

conclu sur l'arbre décisionnel d'identification du complexe tuberculeux.

Il y a 40 ans, il fallait 3 à 4 mois pour aboutir au diagnostic ; le cycle est aujourd'hui réduit à 25 jours, tout compris, avec une sensibilité comparable (le cobaye est tué par un seul BK).

Enfin, le Pr. Jane COTTIN (Angers) a exposé l'évolution de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques, de 1997 à 2001 dans les Pays de la Loire. Le portage est maximal à l'âge de 2-3 ans, surtout en collectivité. La première souche pénicillino-résistante a été décrite en 1967 en Australie-Nouvelle-Guinée. La multi-résistance, signalée en Afrique du Sud en 1977, est apparue en France l'année suivante, pour augmenter constamment jusqu'en 1988. En 1995, des Observatoires régionaux (ORP), actuellement au nombre de 22, ont été installés pour assurer le suivi de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques. Pour les Pays de la Loire, ils regroupent 14 laboratoires hospitaliers publics et 9 laboratoires d'analyses médicales privés. La résistance est stable de 0 à 5 ans et après 50 ans, variable surtout entre 5 et 15 ans. La fréquence des sérotypes varie en fonction de l'âge et des années, concernant globalement 40 % d'enfants et 60 % d'adultes, 2/3 d'hémocultures et 6 à 7 % de LCR.

Pour 2001, les résultats obtenus étaient comparables aux résultats nationaux. La mise en place des ORP au plan national permet d'avoir des résultats beaucoup plus comparables, mais il convient de rester prudent car beaucoup de facteurs varient d'une région à l'autre.

L'après-midi, les deux sessions avaient pour thème commun : les **actualités en virologie et parasitologie**.

Le Pr. F. FREYMUTH (Caen) nous a d'abord fait part de son expérience sur les *Coronavirus* et le syndrome respiratoire aigu sévère, qu'il qualifie très justement d'émergence réussie. Il a d'abord exposé les originalités de cette famille de virus, essentiellement composée de virus pathogènes pour les animaux, mammifères ou oiseaux selon le type sérologique. Jusqu'à cette année, les données épidémiologiques étaient rares, la symptomatologie (atteintes respiratoires et/ou entériques), bien que très fréquentes chez les jeunes enfants, ne pouvait être rattachée à aucune pathologie précise. L'alerte a été donnée par l'OMS en février 2003, bien qu'une épidémie de pneumopathies atypiques graves soit apparue en Chine en novembre 2002. En juin 2003, 38 pays étaient atteints, surtout en Asie continentale de l'Est, mais un second pic de fréquence au Canada a fait craindre l'émergence d'un variant. Signes cliniques, notion d'un contact avec un cas avéré, radio pulmonaire et signes biologiques (leucopénie, lymphopénie, LDH élevées) orientent la prise en charge : cas probable (qui sera confirmé par l'isolement



du virus responsable), cas possible, exclusion. Un syndrome grip-pal et des troubles digestifs semblent un tableau d'entrée plus probable que les troubles respiratoires. L'évolution est longue.

Les prélèvements ont été centralisés et manipulés en laboratoire de sécurité (niveau L3+) ; onze laboratoires collaborateurs de l'OMS ont participé à leur étude. Le virus appartient au groupe sérologique 4, dont la civette est le principal hôte connu. Le génome est un ARN d'une taille énorme : 20.000 paires de bases codent les enzymes de réplication. Un arbre phylogénique a été construit ; en juin, 17 séquences complètes avaient été publiées. L'inoculation du surnageant reproduit la maladie chez l'animal. La transmission se fait par les sécrétions respiratoires : la voie directe est le mode principal, mais la voie indirecte intervient aussi. On ne sait pas si la virulence est liée à la variabilité des souches ou à des facteurs liés à l'hôte (pathologie immuno-médiée ?). Le potentiel d'évolution génétique du virus est très important. En dehors de la civette, le réservoir du virus est inconnu ; le franchissement de la barrière d'espèce n'est pas instantané (cf. le VIH ou le virus de l'encéphalite japonaise) mais il pourrait s'agir d'une divergence récente qui expliquerait l'émergence brutale du SARS. Reste à savoir si celle-ci se maintiendra.

Le Dr Philippe BOUCHARA (Angers) a ensuite présenté de façon fort originale les aspects mycologiques des infections respiratoires dans la mucoviscidose par l'intermédiaire d'un CD-ROM, qui se présente comme une encyclopédie multimédia, excellent outil pédagogique et aide précieuse aux médecins généralistes.

Le Dr Hervé ZELLER (Lyon) a enfin exposé les questions d'actualité sur les *Flavivirus*. Après avoir évoqué fièvre jaune et dengue qui restent les principales arboviroses, il a davantage insisté sur l'infection par le virus West Nile, isolé en 1937 en Ouganda, assez répandu du sud de l'Europe à Madagascar et en Asie occidentale jusqu'en Inde. Le virus appartient au groupe de l'encéphalite japonaise et son cycle épidémiologique implique les oiseaux migrateurs ; homme et cheval sont des impasses biologiques mais peuvent faire des formes sévères dans 10 à 15 % des formes symptomatiques.

En 1999, une souche identique à une souche isolée chez des oies a été retrouvée à New-York et s'est très vite répandue, probablement par l'intermédiaire des corbeaux américains (très sensibles à cette souche, à la différence des corbeaux européens). On a dénombré, depuis, plus de 4.000 cas humains (254 décès) et plus de 10.000 chez les chevaux. En France, le virus West Nile s'est à nouveau manifesté en 2000, après un silence de 35 ans.

Après une pause bien méritée, le Dr Christopher PAYAN (Angers) nous a parlé des nouveaux outils pour le suivi des thérapeutiques actuelles du virus de l'hépatite C. Ce virus (*Hepacivirus*) appartient à la famille des *Flaviviridae* mais n'est pas un arbovirus. Ubiquitaire, on ne connaît qu'un seul hôte ; le chimpanzé est le seul modèle animal. Son niveau de réplication est généralement stable avec une demi-vie de quelques heures. Cliniquement, l'ictère est peu fréquent (< 10 %). Le diagnostic, orienté par l'élévation des transaminases et la sérologie, est basé sur le génotypage, par PCR manuelle ou sur automate.

Récemment, on a mis au point des tests de quantification de l'ARN viral et le dépistage automatique de l'antigène de capsid ; la corrélation chez les patients non traités est satisfaisante, la sensibilité bonne, de même que la reproductibilité, la spécificité est de l'ordre de 100 %. Pour le suivi thérapeutique, on étudie actuellement un test combinant antigène de capsid et anticorps spécifiques.

En l'absence du Dr Pierre DRUILHE (Institut Pasteur), ce qui nous a privés des dernières avancées sur la prévention du paludisme, c'est le Pr. Françoise LUNEL-FABIANI qui a terminé la journée. Elle nous a expliqué de façon très convaincante la repopulation hépatique à partir d'hépatocytes humains par la création d'un foie « humanisé » chez la souris.

Cette attitude impliquait la collaboration de plusieurs équipes. Elle est motivée par :

- l'étroite spécificité d'hôte des virus hépatiques et le déficit de modèles *in vivo* et *in vitro*,
- la difficulté d'obtenir des hépatocytes humains qui sont fragiles et difficiles à cultiver,
- les progrès techniques qui permettent maintenant les méthodes de transfert de gènes *in vivo*.

Le but était de développer un modèle animal fiable. Les résultats attendus sont en passe d'être réalisés :

- amélioration de la repopulation en hépatocytes humains, ce qui permet d'améliorer les traitements ;
- approfondissement de notre compréhension de l'infection par *Plasmodium falciparum* dans son stade hépatique, avec une implication sur la vaccination anti-paludique.

Le soir, nous nous sommes tous retrouvés à la pointe de Bouchemaine, au confluent de la Maine et de la Loire, au restaurant « L'ancre de marine ». Dans la journée, les accompagnants avaient visité la vieille ville en petit train touristique puis, à pied, le quartier historique de la cité et la cathédrale Saint Maurice, bel exemple du gothique angevin. En compagnie d'un guide conférencier de l'Office du tourisme, ils ont visité l'hôpital Saint-Jean, le plus ancien hôpital civil de France (plus vieux de trois siècles que les Hospices de Beaune), aujourd'hui musée de la Tapisserie contemporaine qui abrite la tapisserie de Jean LURÇAT le « *Chant du Monde* », réplique moderne de l'Apocalypse.

Samedi, ceux d'entre nous qui avaient pu rester à Angers ont visité le château d'Angers, édifié vers 1230 par Saint Louis, un des rares châteaux-forts du Moyen-Age bien conservé et, surtout, qui abrite la « *Tenture de l'Apocalypse* », le plus important et le plus ancien ensemble médiéval tissé au monde (la « tapisserie » de la reine Mathilde, à Bayeux, date de la fin du XIe, mais c'est une broderie sur toile). Elle fut exécutée vers 1380 pour le duc Louis 1^{er} d'Anjou, frère du roi de France Charles V et notre guide-conférencier a su nous montrer les subtilités de sa réalisation, de la part probable d'ouvriers sarrasins qu'on avait fait venir parce qu'ils avaient une grande avance technique, les libertés prises avec le texte de Saint Jean pour faire quelques allusions à l'actualité politique de l'époque sans risquer de provoquer la colère des autorités.

A.C.



VIE DE L'ASSOCIATION ACTIVITES CULTURELLES

I • VOYAGE EN POLOGNE - MAI 2003

François¹ et Jacqueline² POTY

Le 28 mai 2003, nous étions 27 membres, conjoints et amis de l'Association des anciens élèves de l'Institut Pasteur, à nous envoler de Roissy vers **Cracovie** pour découvrir la Pologne. Suivant une habitude prise de longue date, nous repartions dès notre arrivée pour les premières visites.

Une cathédrale de sel à - 165 mètres

Ainsi, 2 heures après l'atterrissage, à peine entrevus la **Vistule** et le Château royal sur la colline Wavel qui la surplombe, nous nous trouvions dans une mine de sel à **Wieliczka** à 13 km au sud de Cracovie. Une petite épreuve physique nous attendait. Au départ, une descente de 65 mètres par un long escalier puis un dédale de galeries, de couloirs et d'autres escaliers nous conduisirent à travers une suite de salles creusées dans la mine, en général des chapelles avec des statues de sel et des représentations de l'activité souterraine des mineurs qui n'étaient pas des forçats mais plutôt des fonctionnaires privilégiés. La visite s'est terminée à 165 m au dessous de la surface dans une véritable cathédrale avec ses lustres de sel, ses autels et ses bas-reliefs sculptés dans les parois par des artisans ouvriers de la mine. La journée, qui en a épuisé plus d'un, s'est conclue par un bon repas, d'autant plus apprécié que le plateau-repas servi dans l'avion avait été plutôt frugal.

Les deux célébrités de Cracovie sont Copernic et Jean-Paul II

Le lendemain matin, nous avons rencontré madame **Krystyna PIETKIEWICZ**, ancienne stagiaire chez le Professeur **LE MINOR**, avec lequel les retrouvailles furent émouvantes (Photo 1). Nous avons tous ensemble plongé dans la vieille ville



Photo 1 : Le Professeur et Madame LE MINOR avec Mme Krystyna PIETKIEWICZ (Photo J.)

GANTÈS après avoir suivi, sur une partie de son trajet, un parc circulaire remplaçant d'anciens remparts, magnifiquement ombragé par de très beaux arbres, bien entretenus, distillant une atmosphère sereine et reposante. Cracovie est une ville universitaire, avec plus de 100.000 étudiants et les deux célébrités, en dehors des rois qui y ont résidé et sont enterrés dans la cathédrale du Palais royal, sont **COPERNIC** et **Jean-Paul II**. On les retrouve un peu partout. Nous avons particulièrement retenu le **collegium Maius**, siège du rectorat. Les professeurs et recteurs y logeaient. Ils devaient être célibataires mais ne se refusaient pas les joies de la bonne chère. Leur goût pour les arts, les belles lettres et les sciences leur ont permis d'accumuler dans un musée de très belles oeuvres qu'il faudrait découvrir en plusieurs jours. Nous avons eu droit à une visite deux fois plus longue que les visites habituelles.

Le Palais royal, sur la colline Wavel et (Photos 2 et 3) dominant la Vistule déjà très large à cet endroit, est un condensé des époques qui ont marqué la Pologne : roman, gothique, renaissance, baroque.

Photo 2 : Cracovie : vue générale du château Wavel et de sa cathédrale (Photo P.)



Photo 3 : Cour intérieure du château Wavel (Photo P. GANTÈS)

¹ Cours IP 1962-1963, Conseiller de notre Association.
² Cours IP 1982.



C'était le lieu du pouvoir avant le déplacement de la capitale à Varsovie. L'Eglise est le panthéon royal. Il y a plus de 130 églises à Cracovie, parfois il y en a trois sur une même place. De cette ville se dégage une ambiance spéciale, peut-être parce que, comme Paris, elle n'a pas été détruite par la dernière guerre mondiale. La domination autrichienne y semblait mieux supportée qu'ailleurs, peut-être en souvenir de la délivrance du **siège de Vienne en 1683** par le roi polonais **Jean III SOBIESKI**. **La place du marché** (Photo 4) est l'une des plus grandes d'Europe. Un bâtiment central, lui-même de bonne facture architecturale, en coupe cependant la perspective. L'église Notre Dame s'y insère de manière agréable bien que non géométrique.



Photo 4 : Cracovie : place du Grand Marché et halle aux draps (Photo P. GANTÈS)

Le quartier juif, **Kazimierz**, détruit par les nazis puis les communistes, a été entièrement restauré mais sa population est maintenant réduite à quelques dizaines d'habitants. Les synagogues sont devenues des musées. Il plane dans ce lieu, surtout dans la rue large, le souvenir de personnalités telles qu'**Héléna RUBINSTEIN** et **Roman POLANSKI**.

Dans les Carpates

Nous nous sommes ensuite dirigés vers Zakopane, au pied des Tatras, petit massif des Carpates. Cette station de moyenne altitude, environ 800 m, respire le bon air et permet en hiver des activités, comme le saut à ski ou le ski de fond. Dans ses environs, nous avons traversé, sans nous arrêter, un gros village, Chocholow, avec des maisons anciennes en bois, magnifiquement entretenues. A Debno, nous avons visité, guidés par son curé, l'église Saint Nicolas, tout en bois, datant du XV^{ème} siècle. Les Allemands n'ont pas pu la piller parce que les paysans voisins sont venus la défendre avec leurs fourches. Puis, après un bon déjeuner au bord d'un lac de retenue où une photo de notre groupe est prise (Photo 5), nous avons entrepris une promenade de deux heures en radeau sur les petits rapides de la rivière Dunajec qui fait la frontière entre la Pologne et la Slovaquie (Photo 6). Cette promenade nous a procuré calme et



Photo 5 : Photo du groupe au bord du lac de retenue (Photo J. POTY)



Photo 6 : Embarquement pour la promenade sur la rivière Dunajec (Photo P. GANTÈS)

fraîcheur. Ce fut un hymne à la nature particulièrement bien protégée dans cette région.

Le soir de ce quatrième jour, de retour à Cracovie, nous avons fait l'un des meilleurs repas que l'association ait connus ! Le décor (cave voûtée), la qualité des mets et le service étaient parfaits. Malheureusement un différend entre notre guide accompagnatrice Edwige et la direction du restaurant nous a tous contrariés et nous avons été privés des musiciens spécialement conviés pour nous.

Et déjà, le groupe a dû se scinder en deux. Les grands travailleurs sont rentrés précipitamment sur Paris tandis que les plus disponibles ont poursuivi leur voyage en Pologne.

Varsovie fut entièrement reconstruite

Un train rapide nous a alors conduits en deux heures à **Varsovie** magnifiquement reconstruite³ et où la patine du temps permet d'oublier que tout a été détruit. Une exception fut **Wilanow** (Photo 7) **qui était alors le quartier général des forces allemandes**. **Wilanow (Villa nuova)**, était la résidence d'été de **Jean III SOBIESKI**, où la reine d'origine française aimait vivre. Les archives possèdent de nombreuses lettres d'amour

³ Rappelons que les plans de la ville ayant également disparu, elle a été reconstruite à l'identique, à partir des tableaux peints par le Vénitien Canaletto au XVIII^{ème} siècle.



Photo 7 : Le palais de Wilanow à Varsovie (Photo P. GANTÈS)

adressées à son épouse par le roi occupé à combattre les Turcs sous les remparts de Vienne. Nous y avons admiré le palais de style baroque, les jardins, la collection de portraits, de meubles et de pendules.

Puis dans la chaleur de cette fin de dimanche après midi, noyés dans les pollens cotonneux des peupliers, nous nous sommes rendus dans les jardins du **parc Lazienki** (Photo 8), comme des



Photo 8 :
Varsovie :
Palais Lazienki
(Photo J. POTY)

Photo 9 :
Nos collègues
Mmes Hanna
STYPULKOWSK
MISIUREWIEZ et
Anna
LEWANDOWSKA-
MADEYSKA
(Photo J. POTY)



centaines d'autres, pour écouter, au pied de son immense statue, des œuvres de **CHOPIN** interprétées par un excellent pianiste. Après un tour de la vieille ville, nous avons retrouvé dans un très bon restaurant, une ancienne élève du grand cours 1962, Madame **Hanna STYPULKOWSKA MISIUREWIEZ** (Photo 9). Nous avons eu beaucoup de joie et d'intérêt à discuter ensemble pendant ces trop courts moments. Elle a vécu enfant l'insurrection de Varsovie en 1944, un des épisodes les plus tragiques de la deuxième guerre mondiale qui a duré deux mois, du 1^{er} août au 3 octobre, avant d'être écrasée par les Allemands alors que les Russes sur la rive droite de la Vistule assistaient impassibles à l'agonie de la résistance d'un peuple qu'ils avaient appelé à se soulever. Le ghetto juif d'illustre mémoire a été rasé après son soulèvement en 1943. C'est maintenant un parc avec des monuments commémoratifs dont l'un d'entre eux

rappelle aussi les déportations en Sibérie pendant la période soviétique. Après le dîner, Hanna a fait découvrir son quartier à quelques personnes du groupe et nous nous sommes quittés à regret avec l'espoir de nous retrouver.

Nous avons, le lendemain, continué la visite de la **vieille ville**, fait des achats d'ambre et visité le **Palais royal** (photo 10) entièrement reconstruit, un peu clinquant par endroits avec toutes ces dorures qui rappellent la Russie. Il fallait sans doute faire aussi brillant que l'occupant russe à l'époque de la partition. Ici on parle encore de Copernic mais pour nous les personnages illustres s'appellent **CHOPIN**, **Maria WALESWKA** (dont le fils naturel, le **Comte WALESKI**, a été ministre de **Napoléon III**) et surtout **Napoléon 1er**. Ce dernier a plus ou moins pillé et dévasté l'Europe mais il a respecté la Pologne qui lui a fourni de valeureux soldats et l'élue de son cœur.



Photo 10 :
Varsovie :
Palais Lazienki
(Photo J. POTY)

Photo 11 :
Swieta Lipka,
abbaye baroque
jésuite
(Photo J. POTY)



Photo 12 : Orgues de Swieta Lipka (Photo P. GANTÈS)
(Photo J. POTY)

Les bords de la Baltique

Il nous restait à voir la **Mazurie** et ses 4.000 lacs, puis **la Baltique**. Nous avons découvert, à **Swieta Lipka**, l'église baroque (photo 11) d'un monastère jésuite et avons assisté à un concert d'orgue (photo 12). C'est la pointe la plus avancée du catholicisme face au luthéranisme. Nous y avons été guidés par un jésuite polonais dont l'allure et le verbe étaient dignes d'un Italien du sud, un lutin animé d'une foi profonde et entraînante. Puis nous avons découvert **Gdansk** avec ses villes (satellites) **Gdynia** et **Sopot**. Le port de Gdansk (Photo 13) est l'ancienne



Photo 13 : Gdansk : le port et la douane (Photo J. POTY)

cité commerçante hanséatique de Dantzig. La ville est restaurée (comme Varsovie) avec une grande unité architecturale qui en fait presque un bijou. Elle possède la plus haute église en brique du monde. L'activité est centrée sur deux rues principales, l'une patricienne et administrative, l'autre plus bourgeoise et commerçante. Le long d'un bras de la Vistule, les quais sont bordés par des entrepôts riches et bien conservés avec quatre portes permettant d'entrer dans la ville. La **résidence du roi de Pologne** occupe la façade maritime⁴. Aux environs, nous avons traversé une zone résidentielle et sommes passés devant la propriété confortable de **Lech WALESA** sur laquelle flottaient le drapeau polonais et le drapeau européen. Nous étions à l'avant-veille du referendum pour l'entrée de la Pologne dans l'Union Européenne. Nous avons pu, avant un déjeuner en bord de mer, tremper nos pieds dans la Baltique. Puis nous avons longuement visité la **forteresse Teutonique de Malbork** (fondée en 1276 sous le nom de Marienburg) (photo 14), le gothique est toujours présent avec une alliance d'art militaire et de foi religieuse. Cette forteresse est impressionnante, avec son château haut, plus ancien, où était enfermé le trésor de l'ordre, son château moyen où se trouvaient l'hôpital, les logements des chevaliers et les appartements du grand maître. Le château bas a disparu lors de la construction du chemin de fer. L'ensemble est impressionnant, mais pas autant que le Crac des chevaliers vu par certains d'entre nous en Syrie. Cette forteresse fut la base de départ pour la christianisation de la Poméranie.

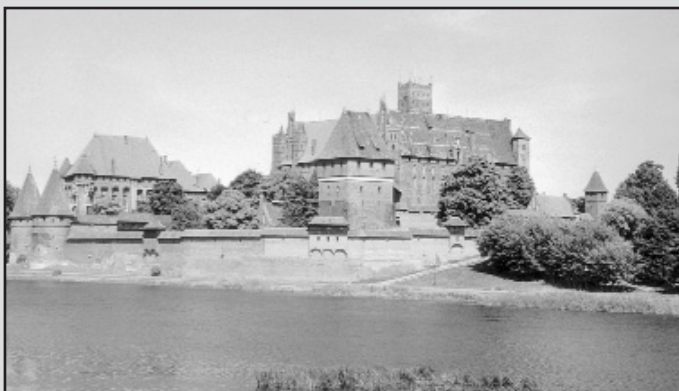


Photo 14 : Forteresse de Malbork (Photo P. GANTÈS)

De retour à Varsovie, notre dernière soirée s'est passée avec **Anna LEWANDOWSKA-MADEYSKA**, vétérinaire, stage IP 1965-1966. Plus jeune, elle est aussi celle dont les souvenirs français sont les plus récents d'autant plus qu'elle a passé 4 années de coopération technique en Algérie. Toutes ces rencontres ont été malheureusement trop courtes.

Le matin de notre départ notre dernière excursion s'est faite à **Zelazowa wola**, maison natale de Chopin à 50 km à l'ouest de Varsovie (Photo 15). C'est un joli petit manoir rempli de souvenirs de famille, dans un parc romantique avec toutes sortes d'arbres d'espèces différentes. C'est un havre d'harmonie et de sérénité bucolique.



Photo 14 : Forteresse de Malbork (Photo P. GANTÈS)

On peut conclure avec quelques remarques. La Pologne est loin de nous être étrangère. Ses habitants ont voté pour leur ralliement à l'Union européenne. On ne doit pas trop juger les options économiques et militaires de leurs dirigeants. Ils ont leurs raisons. L'une d'entre elles est que notre déclaration de guerre à l'Allemagne en 1939 ne les a pas empêchés d'être débordés en 3 semaines. Nous-mêmes l'avons été en 6 semaines. Mais, culturellement et affectivement, ils nous sont très proches. L'attachement de nos anciennes est émouvant et nous aimerions y répondre par des rencontres plus fréquentes. Certaines d'entre elles comme madame **Wanda WOZNIAK-PARMOWSKA**, ont regretté de ne pas avoir pu nous rencontrer.

Si le Produit intérieur brut (PIB) de la Pologne n'est pas au même niveau qu'à l'Ouest c'est dû à l'occupation soviétique et tout porte à croire qu'elle nous aura rejoints plus vite que l'ancienne Allemagne de l'Est. Dans quelques années, il faut l'espérer, nos niveaux de vie se seront rapprochés et alors nos échanges seront plus fréquents et plus féconds sur un pied d'égalité.

⁴ Rappelons que Gdansk fut sous la protection du royaume de Pologne du XIV^{ème} siècle à 1793.



II • ADMISSIONS

Selon l'approbation du Conseil d'Administration en date du 26 juin 2003, nous avons le plaisir d'accueillir comme nouveaux membres de l'Association les stagiaires et lauréats (dont deux boursiers de l'Association) dont les noms suivent :

- Magalie DEMAR, médecin, cours de Mycologie médicale 2001 et Analyse des génomes 2003,
- Hortense GONSU KAMGA, médecin de nationalité camerounaise, cours de Mycologie médicale 2003,
- Ludmilla Kahena IZRI, ingénieur en biologie de nationalité algérienne, cours de Virologie fondamentale 2003,
- Florent Duclerc JUTCHA, médecin de nationalité camerounaise, cours de Mycologie médicale 2003,
- Françoise NGO SACK, médecin de nationalité camerounaise, cours de Mycologie médicale 2003,
- Soline VIGNEAU, ingénieur agronome et scientifique, cours de Génétique cellulaire et moléculaire 1997, cours de Génétique de la souris 1998, stagiaire dans les unités de Génétique des mammifères 1997 et Virus lents 1997-2002.

III • ANNUAIRE

L'édition 2003 de l'annuaire des membres de l'AAEIP doit vous être déjà parvenue.

Si tel n'est pas le cas, faites-le savoir à notre secrétariat.

Si les données vous concernant, présentes dans cette édition sont inexactes ou dépassées, veuillez nous retourner les informations corrigées ou actualisées, rapportées dans le même ordre et, si possible, sous la même forme que celles à modifier (*changements d'adresse, obtention de diplômes, nominations ou rectificatifs divers*).

Changement d'adresse, et rectificatifs

- Docteur Arnaud DELAFOSSE et Docteur Sandrine AMSLER
DELAFOSSE : La Grande Houssière, 72230 Mulsanne

- Docteur Christian DESAINT : 21, Résidence Le Parc,
94700 Maisons-Alfort

- Docteur Martine FLORENT-FOURNIER : Rosenhugelstrasse
200, 1230 Vienne, Autriche

- Docteur Tatiana GALPERINE : 21, rue Pierre Sépard,
75009 Paris

- Docteur Sylvio Celso GONCALVES DA COSTA, Docteur en parasitologie vétérinaire ; Fundação Oswaldo Cruz, Dpto Protozoologia, lab. Imunomodulation, Pav. Carlos Chagas, 3^e andar, Av. Brasil, 4365, 21045-900, Rio de Janeiro - Brasil
Tél. 021 2598-4323 / 2598-4325 / 2560-6572
Télécop. 021 2560-6572
Mél: sycosta@ioc.fiocruz.br
Rua Corcovado, 65 apt. 302 - 22460-050
Rio de Janeiro - Brasil Tél: 021 2294-9400
Stage D. Physiopatho.expé. 78 - Fac. Sci.

- Docteur Brigitte HACQUARD AUBERTEL :
38, cours de Vincennes, 75012 Paris



IV • ENTRAIDE

A • EMPLOI

Du fait de sa parution trimestrielle, le Bulletin n'est pas adapté à la diffusion nécessairement rapide des annonces et en particulier des offres d'emploi.

A tout moment cependant, vous pouvez être informés des annonces déjà parues encore valables et de celles qui ne sont pas encore publiées, en contactant directement le secrétariat (Tél. 01 45 68 81 65 ou Tél/Télec. 01 43 27 72 37). Par ailleurs, les offres d'emploi sont portées à la connaissance des élèves des cours par affichage sur le tableau du hall du Département des enseignements.

La publication de chaque annonce est gratuite pour tous les membres de l'Association à jour dans le règlement de leur cotisation annuelle. Elle est faite dans deux numéros successifs et, à la demande expresse de l'annonceur, dans un troisième Bulletin. Pour éviter des redites inutiles, veuillez nous prévenir dès que votre annonce ne sera plus justifiée.

Pensez plus souvent à nous lorsque vous devez recruter des collaborateurs ; n'hésitez pas à nous adresser vos offres d'emploi ; elles peuvent être communiquées par le secrétariat à des demandeurs dès réception de l'annonce ; proposez-nous aussi des chambres d'étudiants, ce serait un service très apprécié par nos collègues éloignés, pour leurs enfants en déplacement à Paris ou en d'autres villes universitaires.

Le secrétariat tient par ailleurs, à la disposition de ceux que cela intéresse, une liste de cabinets de Conseil en recrutement ayant fait appel à nos services.

B • DEMANDES D'EMPLOI

● **Vétérinaire**, CES Immunologie, Hématologie et Biochimie, DEA de DGI (différenciation, génétique et immunologie), cours Pasteur d'Immunologie Approfondie, thèse de 3ème cycle, CESAM option STAB, expérience de 12 ans en R&D (industrie du vaccin), chef de projets et responsable de département, cherche un poste de **chef de projets ou responsable de labo/département en santé humaine région lyonnaise**. Anglais parlé et écrit. Fortes compétences techniques. Ecrire à l'AAEIP qui transmettra.

C • BOURSE AU LOGEMENT

Vous disposez d'une chambre ou d'un studio à Paris ou en région parisienne susceptibles d'être loués à un étudiant ? Adressez vos propositions à notre secrétariat qui les transmettra aux élèves ou stagiaires (DEA, thésards, post-doc) de l'Institut Pasteur. Offres et demandes de logement sont aussi valables pour les autres régions !

D • IMMOBILIER

Sympathisante AAEIP envisage cession de jouissance d'une **propriété rurale** (7 ha) 110 km sud de Paris susceptible de convenir à de nombreuses activités à but humanitaire ou orientées vers la protection de l'environnement et/ou des animaux. Prise de contact avec la propriétaire par le relais du secrétariat de l'AAEIP.

V • ILS NOUS ONT QUITTÉS

Nous avons la tristesse de faire part du décès de :

Mme le Docteur Raymonde DURIEUX (cours IP 1957), survenu le 2 juillet 2003
M. le Médecin Général Jean LANGUILLON (cours IP 1948), survenu le 10 juillet 2003

VI • AVANTAGES POUR NOS ADHÉRENTS

● CARTES DE REDUCTION POUR LES GRANDS MAGASINS

L'Association a le plaisir de rappeler à ses membres adhérents qu'elle tient à leur disposition des cartes de réduction, valables dans différents grands magasins : Bazar de l'Hôtel de Ville, Galeries Lafayette, Nouvelles Galeries (5 à 10 %), La Samaritaine (10 %), Au Printemps (10 %)...

Ces cartes (établies au nom de l'AAEIP), présentées lors du passage en caisse, permettent de bénéficier immédiatement d'une remise et de différents avantages promotionnels.

L'AAEIP demandera un chèque de dépôt en échange de la carte. Après utilisation, il conviendra de la ramener aussi rapidement que possible afin qu'un autre membre puisse en bénéficier, l'AAEIP ne disposant que d'une carte pour chaque grand magasin. Rappelons que la carte de membre de l'AAEIP, validée par la vignette de cotisation annuelle, donne un **accès gratuit à la médiathèque** de l'Institut Pasteur

VII • MONTANT DES COTISATIONS POUR 2004

Le montant des cotisations et de l'abonnement pour 2004 a été arrêté lors de l'Assemblée générale du 20 juin 2003 :

Membre actif : 65 €
Retraité : 54 €
Couple non retraité : 79 €
Couple retraité : 64 €

Abonnement extérieur : 51 €
Tarif étudiant : 25 €. Ce tarif, particulièrement attractif, a été entériné par le Conseil d'Administration et permettra l'accès de tous les étudiants à l'AAEIP.



PRESIDENT FONDATEUR : Pierre BRYGOO, Docteur en Médecine†
PRESIDENT D'HONNEUR : Pr. Philippe KOURILSKY, Directeur général de l'Institut Pasteur

CONSEIL D'ADMINISTRATION

----- CONSEILLERS ELUS ET CONSEILLERS A VIE* -----

A) MEMBRES DU BUREAU

- Président : **Michel DUBOS**, Docteur en médecine
- Vice-présidents : **Jean-Luc GUESDON**, Docteur ès sciences
Pr. **Pierre SALIOU**, Docteur en médecine
- Trésoriers : **Jean-Paul PENON**, Docteur en pharmacie
Robert LE VAGUERESSE, Docteur en médecine
- Secrétaires généraux : **Alain CHIPPAUX**, Docteur en médecine
Pr. **Philippe LAGRANGE**, Docteur en médecine
assistés de **Jean-Claude KRZYWKOWSKI**, pharmacien
- Archivistes : **Alain CHIPPAUX**, Docteur en médecine
Jean-Claude KRZYWKOWSKI, pharmacien

B) RESPONSABLES DE COMMISSIONS

- Entraide : **Jean-Paul SALEUN**, Docteur en médecine
- Regain : Pr. **Marie-José SANSON - LE PORS**, Docteur en médecine
- Admissions : **Michel BERNADAC**, Docteur vétérinaire
- Finances : **Jean-Paul PENON**, Docteur en pharmacie
- Informatique et multimédia : **Philippe CRUAUD**, Docteur en pharmacie
- Activités culturelles : **Andrée DEVILLECHABROLLE**, Docteur en médecine
- Régionalisation : Pr. **Pierre SALIOU**, Docteur en médecine
- Bulletin : **Paulette DUC-GOIRAN**, Docteur en médecine
- Stagiaires et Relations internationales : **Valerie GUEZ**, Docteur ès sciences/
Christel DEPIENNE, Ingénieur agronome
- Annuaire : **Bernard VACHER**, Docteur vétérinaire

C) AUTRES CONSEILLERS ELUS

- Professeur **Henri Michel ANTOINE**, Docteur en médecine*
- Olivier ADOTEVI PLAKOO**, Docteur en médecine
- Professeur **Edith BAR-GUILLOUX**, Docteur ès sciences
- Professeur **Michel BARME**, Docteur en médecine
- Damien CARLIER**, Docteur vétérinaire
- Jean-Michel CHAYET**, Docteur vétérinaire
- Philippe DESPRES**, Docteur ès sciences
- Vincent DEUBEL**, Docteur ès sciences
- Robert DUMAS**, Docteur en pharmacie
- Professeur **André EYQUEM**, Docteur en médecine
- René GAUMONT**, Docteur vétérinaire
- Valérie GUEZ**, Docteur ès sciences
- Maurice HUET**, Docteur en médecine
- Pierre INIGUEZ**, Docteur ès sciences
- Alain LEBLANC**, Docteur en médecine*
- Yvonne LE GARREC**, Docteur en pharmacie*
- Professeur **Alain PHILIPPON**, Docteur vétérinaire
- François POTY**, Docteur en médecine
- Jean-Yves RIOU**, Docteur en médecine
- Françoise TAILLARD**, Docteur en médecine
- Jacques THÉBAULT**, Docteur en pharmacie*
- Daniel VIDEAU**, Docteur vétérinaire*
- Stephan ZIENTARA**, Docteur vétérinaire

----- CONSEILLERS DESIGNES PAR LA DIRECTION DE L'INSTITUT PASTEUR -----

Marie-Hélène MARCHAND, Directeur-délégué à la Communication

Isabelle SAINT GIRONS, Directeur de l'Enseignement

----- CONSEILLERS HONORAIRES -----

Marie-Claire CARRÉ, Docteur en médecine
Pr. **Bernard DAVID**, Docteur en médecine
Pr. **Jean-Claude TORLOTIN**, Docteur en pharmacie

Pr. **Pierre VERGEZ**, Docteur en médecine
Pierre VILLEMIN, Docteur vétérinaire
Pr. **Elie L. WOLLMAN**, Sous-directeur honoraire de l'Institut Pasteur

BIENFAITEURS

Nous remercions la Direction générale de l'Institut Pasteur, ainsi que les nombreux amis qui contribuent généreusement au succès des activités de l'Association.

ADRESSE ET SECRÉTARIAT

AAEIP, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, F-75724 Paris Cedex 15

- Tél. et télécopie : 01.43.27.72.37 - Tél. 01.45.68.81.65. Site Web : <http://www.pasteur.fr>, rubrique "Enseignement"
CCP : 13.387.59 D Paris

SECRÉTARIAT : Véronique CHOISY- e-mail : vchoisy@pasteur.fr