

## ENQUÊTE

## CONTAMINATION VIRALE DE COQUILLAGES RESPONSABLES D'UNE ÉPIDÉMIE DE GASTRO-ENTÉRITES À POITIERS, MARS 1997

L. MIOSSEC<sup>1</sup>, F. LE GUYADER<sup>1</sup>, S. HAEGHEBAERT<sup>2</sup>, PH. GASNIER<sup>3</sup>, J.-Y. BELLIER<sup>3</sup>,  
V. VAILLANT<sup>2</sup>, P. CAMUS<sup>4</sup>, M. POMMEPUY<sup>1</sup>, M.-J. ABOU-SALEH<sup>5</sup>, PH. CLAVELIN<sup>6</sup>,  
J.-P. BOBO<sup>7</sup>, D. MASSON<sup>8</sup>, J.-C. DÉSENCLOS<sup>2</sup>

## INTRODUCTION

Les coquillages sont fréquemment associés à des épidémies de gastro-entérites infectieuses d'origine bactérienne ou virale. Grâce aux nouvelles techniques analytiques de biologie moléculaire, des calicivirus humains (Hu CV - virus de Norwalk et Small Round structured Virus) ont pu être identifiés dans des épidémies de gastro-entérites dont le vecteur était le coquillage [1, 2].

Un phénomène épidémique de gastro-entérites a été enregistré parmi les participants d'un congrès qui se déroulait du 3 au 5 mars 1997 à Poitiers (Vienne) et rassemblait 700 personnes environ, ainsi que parmi le personnel de service le 3 mars au soir. La période d'apparition des premiers symptômes et les signes cliniques ont orienté les soupçons vers les repas du 3 mars au soir et du 4 mars à midi. Le menu du 3 mars au soir comportait notamment des huîtres.

Nous présentons, dans l'article qui suit, les résultats de l'étude épidémiologique et des analyses microbiologiques réalisées sur les selles de malades et sur les coquillages soupçonnés d'être à l'origine de l'épidémie. Une investigation environnementale a été réalisée sur le secteur de stockage des coquillages incriminés afin d'analyser les causes probables de la contamination des coquillages;

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Une enquête épidémiologique a été réalisée par les Services Vétérinaires (DSV) de Poitiers par l'envoi aux participants au congrès d'un questionnaire clinique et alimentaire utilisé habituellement pour l'investigation des épisodes de toxico-infections alimentaires collectives (TIAC). Soixante-dix-huit questionnaires ont été retournés à la DSV. La saisie et l'analyse des questionnaires ont été réalisées par le Réseau national de santé publique (RNSP). Un cas a été défini comme une personne ayant participé aux repas des 3 et 4 mars servis aux congressistes et ayant présenté un syndrome aigu gastro-intestinal entre le 3 et le 6 mars.

Les principaux aliments servis au cours des repas du 3 et du 4 mars ont fait l'objet d'analyses bactériologiques par les techniques normalisées de laboratoire (flore aérobie mésophile, coliformes totaux et thermotolérants, recherche de salmonelles, de *Bacillus cereus*, de *Staphylococcus aureus*). De plus, des recherches de toxines DSP (Diarrhetic Shellfish Poison) et de virus ont été réalisées dans les huîtres, respectivement à l'IDAC (Institut Départemental d'Analyse et de Conseil - Nantes) et au laboratoire de Microbiologie de l'Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (IFREMER) de Nantes. Concernant les analyses virales, les principaux virus humains, entérovirus (EV), virus de l'hépatite A (VHA), calicivirus humains (Hu CV), rotavirus (RV) ont été recherchés par RT-PCR (retro-transcriptase polymérase chain reaction) et hybridation moléculaire [2].

Un prélèvement de selles a pu être obtenu de 4 malades le 5 mars. Ces prélèvements ont fait l'objet de recherches bactériologiques au laboratoire Riès-Gréjon de Jaunay Clan (Vienne), après inoculation sur milieu gélosé selon les techniques habituellement utilisées dans les laboratoires de biologie médicale. Les microorganismes suivants ont été recherchés : *Salmonella*,

*Yersinia*, *E. coli* entéropathogènes, *Clostridium perfringens* et *Staphylococcus aureus*. La présence de toxine de *Clostridium perfringens* a été testée par le laboratoire de référence de l'Institut Pasteur (Paris). La recherche de virus (EV, VHA, RV, Hu CV) a été menée au laboratoire de Microbiologie de l'IFREMER. L'extraction des acides nucléiques viraux a été effectuée à l'aide d'un kit commercial (QIAamp viral RNA kit, qiagen) ; les techniques de RT-PCR utilisées pour la détection de virus dans les selles de malades sont identiques à celles utilisées pour la détection de virus dans les coquillages.

Des huîtres suspectées à l'origine de l'épidémie (en provenance de concessions non découverantes de la baie de Quiberon, Morbihan) ont été obtenues d'un ostréiculteur d'Oléron (Charente-Maritime). Le 11 mars, soit une semaine après l'événement, le même lot immergé dans une claire d'Oléron, a été de nouveau échantillonné, de même qu'un lot témoin d'huîtres de Marennes Oléron placées dans le même bassin. Des analyses virales (EV, VHA, Hu CV, RV) ont été réalisées sur ces coquillages par RT-PCR comme précisé précédemment.

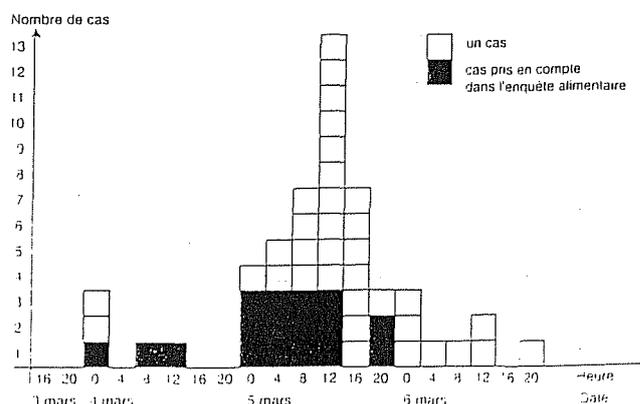
## RÉSULTATS

## Enquête épidémiologique

L'enquête épidémiologique a été réalisée parmi les congressistes seulement. Sur les 700 participants au congrès, une centaine de personnes environ 120 selon les organisateurs, aurait développé des symptômes digestifs (taux d'attaque estimé à 17 %).

A partir des questionnaires retournés, 55 malades et 23 non-malades ont été identifiés. Les symptômes des malades étaient caractérisés par la diarrhée (58 %), des vomissements (55 %), des douleurs abdominales (71 %), des nausées (65 %), une asthénie (62 %), des maux de tête (42 %), et de la fièvre (13 %). Deux malades ont présenté une diarrhée sanglante (4 %).

La médiane de la période d'incubation, calculée sur 52 observations, se situait à 38 heures avec un minimum de 4 heures et un maximum de 73 heures. La médiane de la durée des symptômes, établie à partir de 47 questionnaires cliniques, était fixée à 2 jours avec un minimum de 1 jour et un maximum de 30 jours. La courbe épidémique, réalisée sur 52 observations, suggérait une source commune et ponctuelle de contamination (figure 1).



Parmi les 78 questionnaires recueillis, seuls 27 étaient exploitables pour l'enquête alimentaire (17 malades et 10 non-malades) et ne permettaient d'évaluer que l'exposition à la consommation d'huîtres. Les 17 cas inclus dans

L'analyse (figure 1) n'étaient pas cliniquement différents des 38 autres. La fréquence de consommation d'huîtres, lors du repas commun, était de 94 % (15/17) pour les cas et de 40 % (4/10) chez les témoins (odds ratio = 24, intervalle de confiance à 95 % : 2,2-260,3).

#### Analyses microbiologiques

Les analyses bactériologiques et toxiques réalisées dans les différents aliments servis n'ont pas mis en évidence de contamination. Par contre les analyses virales par RT-PCR et hybridation moléculaire ont montré que les huîtres servies au repas commun étaient positives pour les Hu CV. Parmi les 2 lots de coquillages prélevés le 11 mars chez le professionnel d'Oléron, seul le lot ayant la même origine que celui servi lors des repas communs était positif pour les Hu CV par RT-PCR et hybridation. Les huîtres du lot témoin étaient négatives.

Trois échantillons de selles parmi les 4 analysés étaient positifs pour les Hu CV par RT-PCR et hybridation ; deux prélèvements A et B possédaient la même souche virale, le prélèvement C présentait une souche différente. Une selle était positive pour un rotavirus du groupe A (selle D). Les résultats bactériologiques étaient négatifs.

Les fragments de Hu CV amplifiés par PCR, obtenus dans les échantillons d'huîtres et dans les 3 selles de malades ont été séquencés : une séquence identique (Hu CV1) a été mise en évidence dans les échantillons de coquillages et dans 2 selles de malades (A et B) parmi les 3 positives.

#### Enquête environnementale

Les huîtres consommées à Poitiers provenaient initialement de parcs en eaux profondes de la baie de Quiberon. Avant d'être expédiées vers Oléron le 27 février 1997, elles ont séjourné pendant 15 jours dans les bassins submersibles d'un établissement ostréicole, situé en amont de la rivière de Saint-Philibert (Morbihan). A leur arrivée à Oléron, elles n'ont pas subi de remplissage dans les eaux de ce secteur avant leur expédition vers Poitiers. Ces zones de production conchylicole sont des secteurs de bonne qualité bactériologique. Elles sont classées A pour les bivalves filtreurs non fousseurs en fonction des normes de salubrité des coquillages destinés à la consommation humaine (directive 91/492/CEE, décret 94-340 du 28 avril 1994, arrêté ministériel du 21 juillet 1995, arrêté préfectoral du 12 juillet 1996). Les coquillages qui en sont issus ne nécessitent pas de traitement de purification.

De fortes pluies ont été enregistrées sur le secteur de la commune de Saint-Philibert les 24 et 25 février, correspondant à un record du siècle (60 mm d'eau en l'espace de 48 heures). Elles ont entraîné une augmentation des volumes d'eaux parasites dans le réseau d'assainissement, correctement dimensionné pour faire face aux fluctuations saisonnières de populations et aux phénomènes climatiques habituels sur le secteur, mais non aux phénomènes météorologiques exceptionnels. Lors de cet épisode pluvieux, une partie (environ 10 %) du volume transitant par le poste de relèvement principal qui collecte la totalité des eaux usées de la commune de Saint-Philibert, est passée au trop-plein. Ce volume, estimé à 280 m<sup>3</sup>, comprenait des eaux usées brutes diluées par l'apport exceptionnel d'eaux parasites, constituées par les eaux pluviales et les eaux de nappes. Ces eaux contaminées ont été rejetées en amont de la rivière de Saint-Philibert, près de l'établissement conchylicole où se trouvaient les huîtres. De plus, également à proximité de la zone de stockage des coquillages, débouche un important émissaire d'eau pluviale drainant une grande partie du bourg et recevant des eaux usées provenant de branchements non conformes.

#### DISCUSSION

L'enquête épidémiologique est incomplète et basée sur un petit nombre d'observations. Cependant, la symptomatologie et la durée d'incubation de la maladie observées chez les cas laissent supposer une étiologie virale. L'aspect de la courbe épidémique est en faveur d'une épidémie de source commune au cours du repas du 3 mars au soir. L'enquête alimentaire suggère une association forte avec la consommation d'huîtres. Cependant, celle-ci est basée sur un nombre limité de malades et de témoins ; de plus, aucune autre hypothèse alimentaire n'a été testée.

Les résultats virologiques renforcent l'hypothèse de l'étiologie virale de l'épidémie avancée précédemment puisque un Hu CV a été retrouvé dans les selles de 3 des 4 patients testés. Cette souche virale est le seul micro-organisme pathogène identifié dans les huîtres du repas témoin et la souche virale est identique chez 2 malades ainsi que dans le lot d'huîtres servies lors du repas du 3 mars. La convergence des informations cliniques épidémiologiques et virologiques confortent fortement l'hypothèse de l'implication de coquillages contaminés par une souche de Hu CV.

Les résultats des analyses virales effectuées sur les huîtres stockées chez l'ostréiculteur d'Oléron suggèrent que la contamination virale des

coquillages est intervenue sur les lieux de production ou plus probablement sur la zone de stockage du littoral morbihannais. La zone de récolte était classée A pour les bivalves filtreurs en fonction des normes de salubrité des coquillages destinés à la consommation humaine. Cette classification est basée sur la concentration en coliformes thermotolérants utilisés comme indicateurs de contamination fécale dont on sait qu'il n'est pas suffisamment sensible pour la contamination virale d'origine fécale humaine [1]. La contamination virale des zones de production est probablement liée aux pluies exceptionnelles qui ont entraîné un débordement du réseau de collecte des eaux usées avec rejet direct dans l'environnement marin. Dans les rejets urbains bruts ou épurés, on retrouve divers micro-organismes, des coliformes thermotolérants, mais aussi des bactéries et des virus pathogènes. La présence de ces derniers est probablement liée à l'existence de cas sporadiques de malades ou d'épidémies dans la population.

Chaque hiver, une recrudescence des gastro-entérites, principalement d'étiologie virale, a lieu en France [3] et dans les autres pays européens. Bien que le pic d'incidence survienne régulièrement en janvier, la responsabilité de la consommation de coquillages (les huîtres crues en particulier) dans la survenue de cette recrudescence n'a pas été confirmée lors d'une enquête cas-témoin réalisée en 1996, soulignant ainsi la faible proportion des gastro-entérites attribuables à la consommation de coquillages au regard des autres modes de transmission en particulier interhumaine [3]. Cependant, plusieurs épidémies collectives ou communautaires d'infections virales (Hu CV, hépatite virale) associées - ou suspectées de l'être - à la consommation de coquillages (huîtres ou palourdes) ont été rapportées en France ces dernières années (4-7). Ces épisodes épidémiques ont tous été observés pendant l'hiver entre décembre et mars et sont plutôt liés à une contamination fécale humaine en foyer d'une zone de production limitée [1], comme ce fut probablement le cas pour cette épidémie.

Comme cela a été rapporté dès le début des années 80 aux Etats-Unis, au Royaume-Uni et en Australie [1], cette étude souligne la fragilité des zones de production conchylicole classées A vis-à-vis d'une contamination virale des eaux littorales. Des recherches sont actuellement développées pour tester la validité de nouveaux indicateurs de pollution fécale, plus sensibles et rapides tels que les phages comme indicateurs de contamination virale. Dans les conditions actuelles, l'évaluation du risque viral associé à la consommation des coquillages nécessite une vigilance accrue et une coordination des différents acteurs (DDASS, RNSP, DSV et IFREMER).

#### Remerciements

Nous tenons à remercier les différents laboratoires d'analyses ayant participé à l'enquête et la CISE (Compagnie Internationale de Service et d'Environnement) du Morbihan pour leur collaboration technique.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] DESENCLOS J.-C. - Les risques épidémiologiques liés à la consommation de coquillages. - Rev. Epidémiol. Santé Pub. 1996 ; 44 : 437-54.
- [2] LE GUYADER F., NEILL F.H., ESTES M.K., MONROE S.S., ANDO T., ATMAR R.L. - Detection and analysis of a Small-Round Structured Virus strain in oysters implicated in an outbreak of acute gastroenteritis. - Appl. Environ. Microbiol. 1996 ; 62 (11) : 4268-4272.
- [3] LETRILLART L., DESENCLOS J.-C., FLAGHAULT A. - Risk factors for winter outbreak of acute diarrhea in France. - Br. Med. J. ; 1997.
- [4] CHARLET F., FERCHAUD R. - Epidémie de gastro-entérites virales liée à la consommation de palourdes en Charente-Maritime. - B.E.H. 1994 ; 3 : 169-170.
- [5] DAURAT G. - Une épidémie de gastro-entérite aiguë à virus Norwalk-like liée à la consommation d'huîtres dans l'Hérault, décembre 1992. - B.E.H. 1994 ; 3 : 170-171.
- [6] NUIAQUET C., PONGE A., CHAMBAUD L., RAIMONDEAU J. - La surveillance et l'investigation à propos de 2 épidémies d'hépatite virale dans les départements littoraux. - B.E.H. 1993 ; 29.
- [7] MIOSSEC L., LE GUYADER S., POMMEPUY M. - Gastro-entérites et consommation de coquillages. Existe-t-il une relation ? - Colloque SFM, 13 et 14 mars 1997 ; Institut Pasteur, Paris.L

## NOTE DE LA DGS

### PRINCIPALES DISPOSITIONS DE LA CIRCULAIRE DGS/DH/DRT/DSS N° 98/228 DU 9 AVRIL 1998

relative aux recommandations de mise en œuvre d'un traitement antirétroviral après exposition au risque de transmission du VIH

La circulaire DGS/DH/DRT/DSS n° 98/228 du 9 avril 1998 décrit les recommandations de mise en œuvre d'un traitement antirétroviral après exposition au risque de transmission du VIH, quel que soit ce type d'exposition

accidentelle à du sang ou à un liquide biologique contenant du sang, sexuelle ou par partage de matériel de prise de drogue. Ces recommandations ont été soumises à l'avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France.