

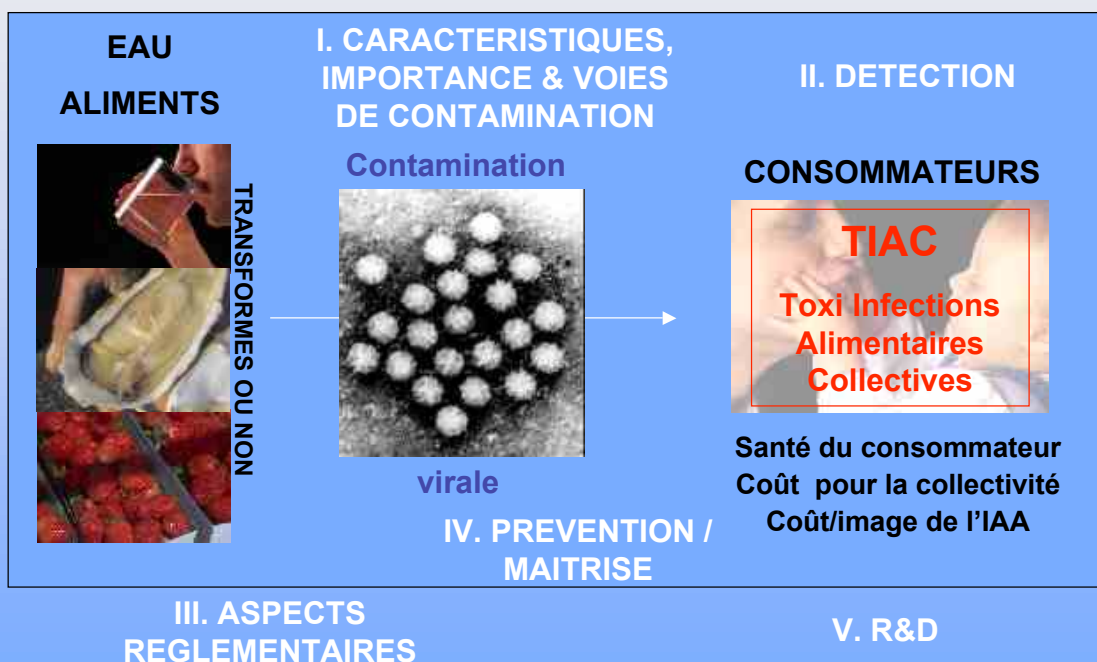
LE RISQUE VIRAL EN INDUSTRIE AGRO-ALIMENTAIRE

Importance, détection, moyens de
maîtrise, recherche & développement



Thierry MORIN
Département Recherche & Développement
Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 14 310 Villers Bocage - FRANCE
Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43 / tmorin@adrianie.org

LA PROBLEMATIQUE VIRALE EN AGRO-ALIMENTAIRE



I. CARACTERISTIQUES & IMPORTANCE DES VIRUS ENTERIQUES

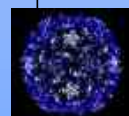
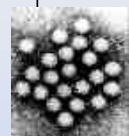
ORIGINES DES CONTAMINATIONS



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

LES VIRUS ENTERIQUES

Famille	Genre	Espèce
Virus de Gastro-entérites		
Caliciviridae	Norovirus	<u>norovirus (virus Norwalk)</u>
	Sapovirus	<u>virus Sapporo</u>
Astroviridae	Astrovirus	<u>astrovirus</u>
Reoviridae	Rotavirus	<u>rotavirus (groupes A & C)</u>
	Reovirus	réovirus
Coronaviridae	Coronavirus	coronavirus
	Torovirus	torovirus
Adenoviridae	Mastadenovirus	adenovirus type 40 & 41
Parvoviridae	Parvovirus	parvovirus
Virus des Hépatites		
Picornaviridae	Hepatovirus	<u>virus de l'hépatite A</u>
Hepeviridae	VHE	<u>virus de l'hépatite E</u>
Autres maladies		
Picornaviridae	Enterovirus	poliovirus, coxsackievirus A & B, ECHOvirus, entérovirus 68-71
Adenoviridae	Mastadenovirus	adenovirus 40 & 41



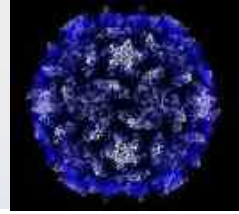
+ virus Aïchi



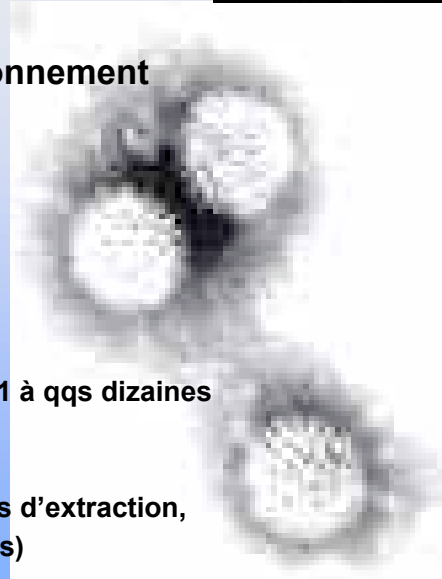
Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43



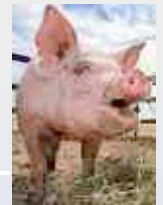
BILAN DES CONNAISSANCES



- ➔ virus à ARN non-enveloppés
- ➔ **secrétés en quantité importante dans l'environnement** (10⁶ à 10¹⁰ pv/gramme de selles)
- ➔ **stables et résistants** (milieu extérieur, traitements technologiques & hygiéniques)
- ➔ **transmis par voir féco-orale**
- ➔ **infectieux à très faibles doses pour l'homme** (1 à qqs dizaines de pv infectieuses)
- ➔ **moyens d'étude / de détection limités** (difficultés d'extraction, non cultivables, pas de méthodes de détection standardisées)
- ➔ **peu de données de prévalence**



POTENTIEL ZONOTIQUE



Virus	Potentiel zoonotique	Isolés chez	Impact épidémiologique
Calicivirus	OUI	Souris, porcs, bovins	NON EVALUE
VHA	RAREMENT	primates	NUL
VHE	OUI	Porcs, faune sauvage (cerfs, sangliers), chiens, poulets, rongeurs (rats) ?	NON NEGLIGEABLE
Entérovirus	NON		/
Rotavirus	OUI	Ovins, porcins, bovins, félins, canins, murins	NON NEGLIGEABLE
Adenovirus	NON		/
Astrovirus	NON		/



VIRUS ET INFECTIONS D'ORIGINE ALIMENTAIRE EN FRANCE

Estimations les plus plausibles, par agents pathogènes, pour les années 1990

Infections à	Cas (nb)	Répartition (en %)	Cas hospitalisés	Cas décédés
BACTERIES	51 269 - 81 927	26.4	9 663 - 17 173	191 - 652
VIRUS	70 600	27.8	52 - 77	2
- Norovirus	70 194		nd	nd
- VHA	406		52 - 77	2
PARASITES	116 517 - 116 558	45.8	473 - 521	35 - 37
TOTAL	238 836 - 269 085		10 188 - 17 771	228 - 691

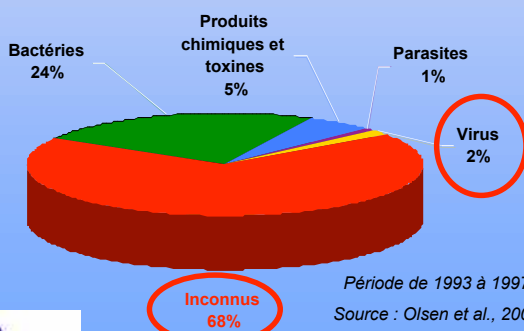
Source : Rapport « Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France (métropolitaine) » - InVS - Mars 2004

VIRUS ET INFECTIONS ALIMENTAIRES AUX USA



	Implication des agents étiologiques (%)		
	Maladie	Hospitalisation	Mort
Bactéries	30,2	59,9	71,7
Parasites	2,6	5,3	21,2
Virus	67,2	34,8	7,1

Source : Mead et al., 1999 (période de 1983 à 1997)



D'après Hall et al., 2001 :

- 47,8% des TIAC aux USA de 1982-89 avec syndrome d'infection à Norovirus
- Infections aussi fréquentes que celles à salmonelles...

IMPORTANCE DE LA TRANSMISSION ALIMENTAIRE

Infections par virus entériques aux USA
Estimations pour la période 1983 à 1997

Virus	Total des cas estimés	Nb de cas avec origine alimentaire	% de cas d'origine alimentaire / total
Norovirus	23 000 000	9 200 000	40
Rotavirus	3 900 000	39 000	1
Astrovirus	3 900 000	39 000	1
VHA	83 391	4 170	5
Totaux	30 883 391	9 282 170	30

Source : Mead et al., 1999



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

IMPLICATION DES ALIMENTS DANS LES EPIDEMIES A NOROVIRUS

Angleterre et Pays de Galles – Période de 1992 à 2000

Aliment impliqué	Epidémies avec implication alimentaire	
	Nombre de cas	%
Huîtres	20	23
Produits avicoles	9	10
Produits carnés	5	6
Poissons	6	7
Salades et légumes	17	20
Autres	29	34
Total	86	100

Source : Lopman et al., 2003

PRINCIPAUX ALIMENTS VECTEURS :

- Coquillages (mollusques bivalves)
- Fruits et légumes (consommés frais ou après congélation)
- Toutes les préparations alimentaires consommées sans cuisson après manipulation ou ayant subi un traitement technologique insuffisant



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43



ALERTES / EPIDEMIES RECENTES EN EUROPE

ALERTES RASFF :

- 09/03/2006 : TIAC au Danemark et en Italie / **huîtres crues** importées de France
- 16/03/2006 : **Norovirus** en Norvège / **huîtres** importées de France
- 20/03/2006 : TIAC aux Pays Bas / **Norovirus** présents dans des **huîtres crues** importées de France
- 29/03/2006 : **Norovirus** aux Pays Bas / **huîtres** importées de France
- 07/04/2006 : **Norovirus** en Allemagne / **huîtres** importées de France
- 31/08/2006 : **Norovirus** aux Pays-Bas / **framboises congelées** (origine inconnue)
- 12/01/2007 : **Norovirus** à Malte / **huîtres crues** importées de France



EPIDEMIES :

Finlande et Suède, 1998 ; Finlande, 2002 ; France, 2005 : TIAC dues à des **Norovirus** présents sur dans des **Framboises surgelées** importées de Serbie

Danemark, 2005 (non détectée par RASFF) : **Framboises** surgelées originaires de Pologne contaminées par **Norovirus** : > 1000 pers infectées ; 5 décès

Bulgarie, 2007 : 977 personnes infectées. Origine inconnue.

Grande Bretagne, 2007 : 36 personnes infectées. Origine : **Norovirus** présents sur **salades**.



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

FRUITS ROUGES ET NOROVIRUS : BILAN DES ALERTES RASFF 2000-2007



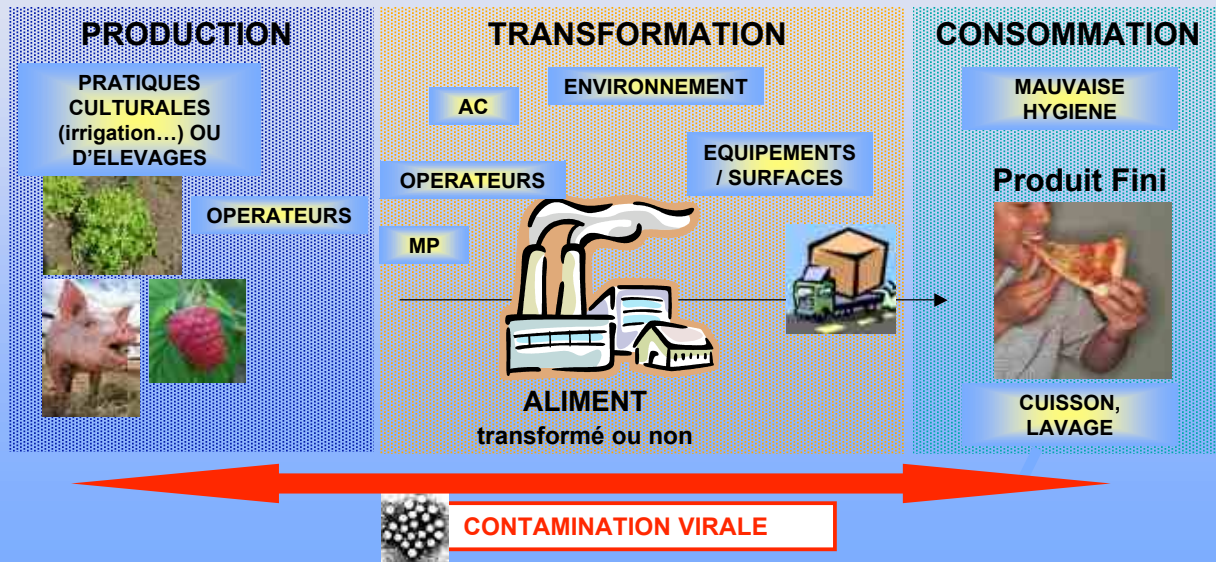
Important pour l'intégration du risque lié à la matière première



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

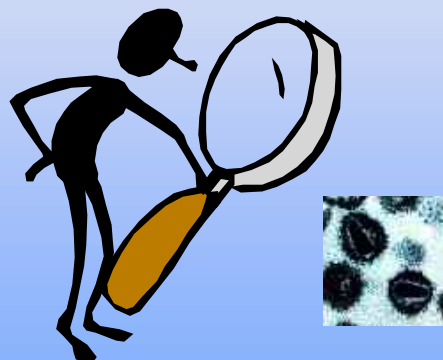
LES VOIES DE CONTAMINATION POTENTIELLES EN IAA

CONTAMINATION VIRALE POSSIBLE A TOUS LES NIVEAUX DE LA CHAINE



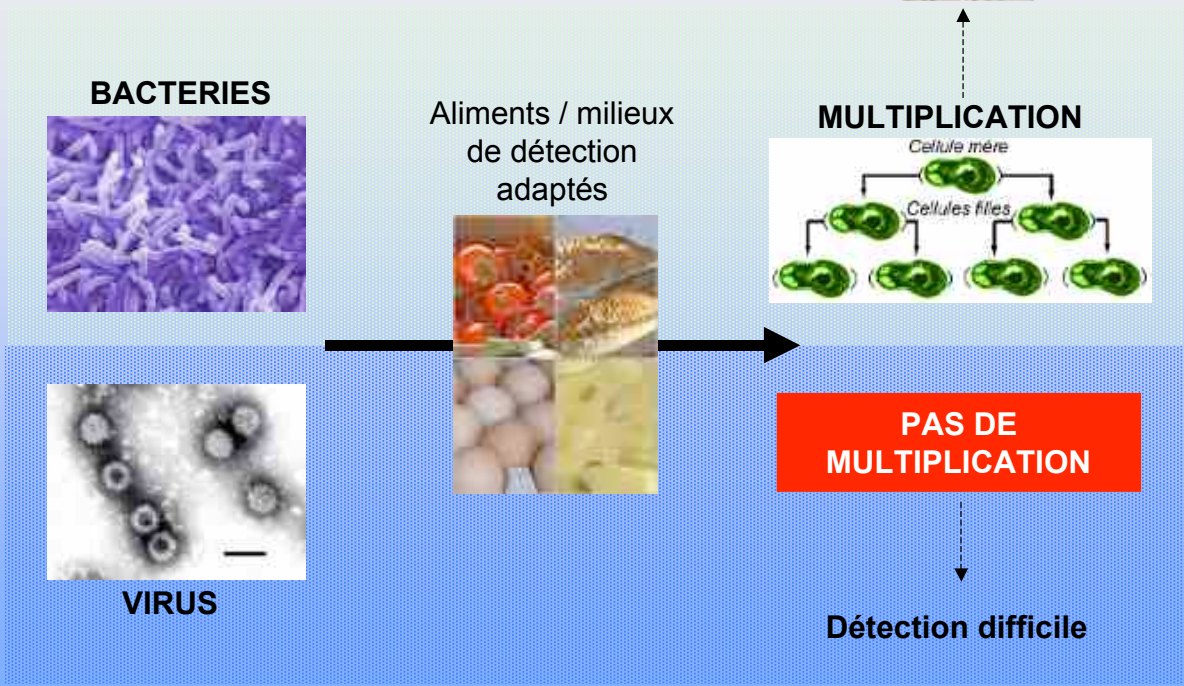
Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

II. METHODES DE DETECTION DES VIRUS ENTERIQUES



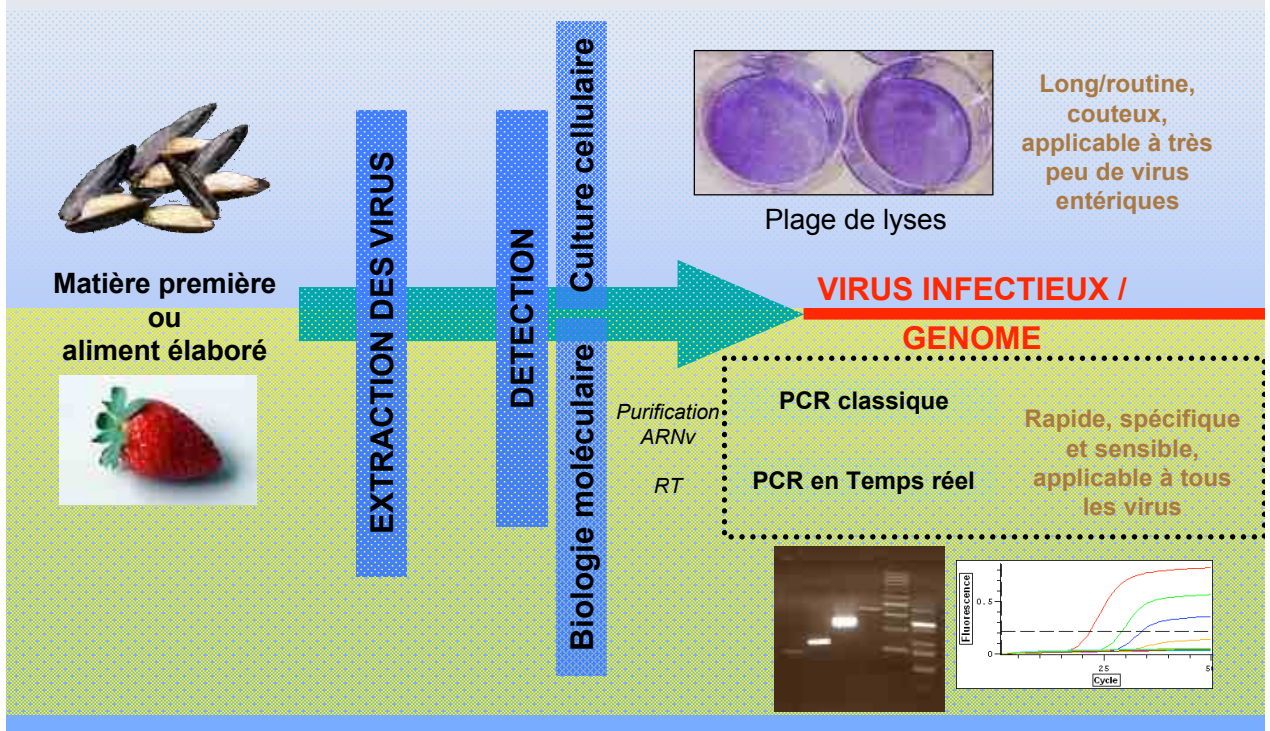
Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

DIFFERENCE VIRUS / BACTERIE



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

MOYENS DE DETECTION UTILISES EN AGROALIMENTAIRE



LIMITES DES METHODES DE DETECTION

- Faible rendement des méthodes d'extraction

Matrice	Rdt Poliovirus	Rdt VHA
Framboises	15%	7 à 20%
Salades	18%	16 à 64%
Huîtres	25 à 35%	5 à 10%
Palourdes	7 à 50%	0.3 à 8%



LIMITE LES SEUILS DE DETECTION



Sources : Dubois, 2002-2006 et 2007 ; Jaykus, 1996 ; Dix, 1998

- Présence d'inhibiteurs PCR

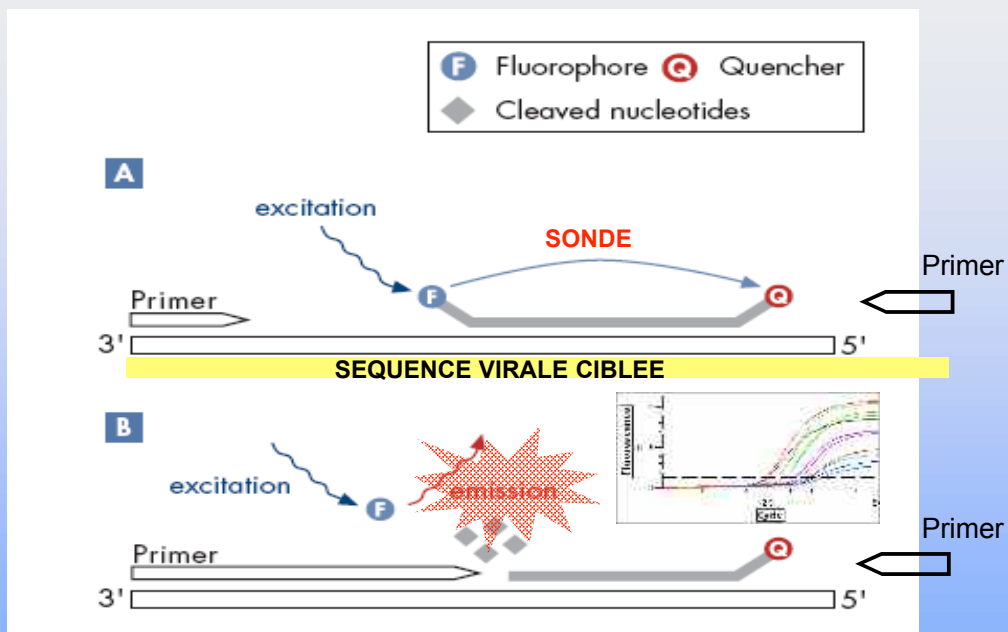
FAUX NEGATIFS

Nécessité d'intégrer un CONTROLE EXTRACTION et un CONTROLE INHIBITION



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

PCR TEMPS REEL



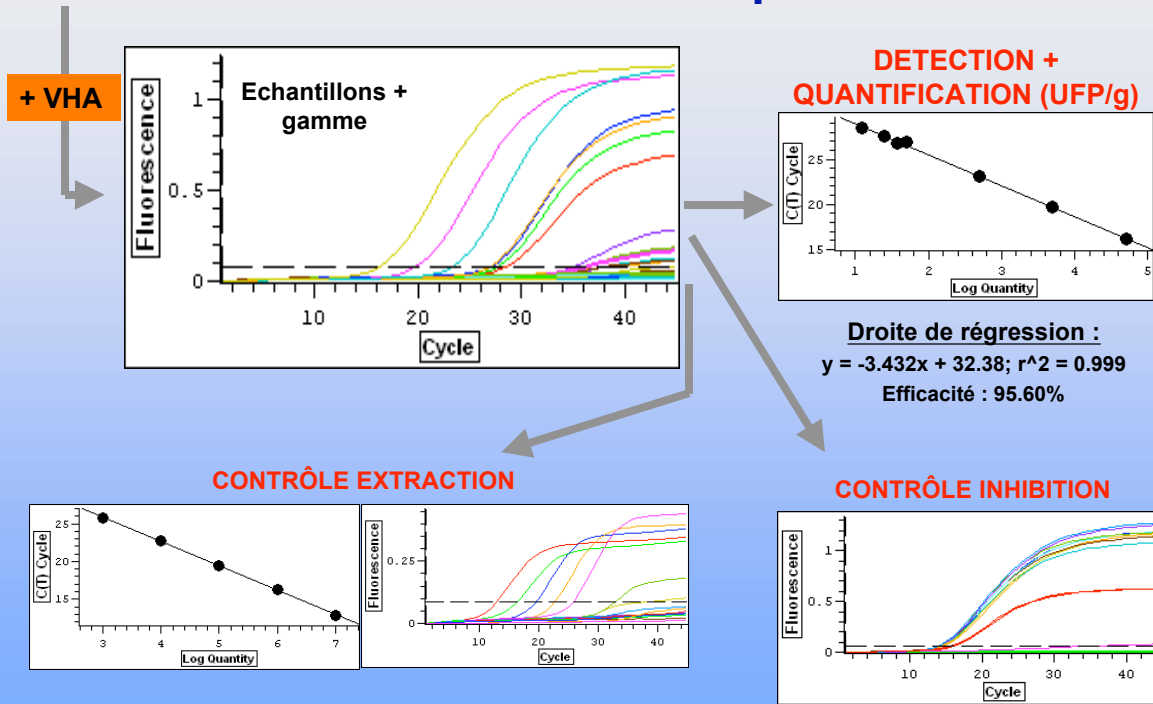
Si séquence cible présente, libération du fluorophore via activité exonucléasique de l'ADN polymérase lors de la synthèse du brin complémentaire : émission de fluorescence visualisée en temps réel



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43



Illustration : Détection du VHA dans des framboises inoculées expérimentalement

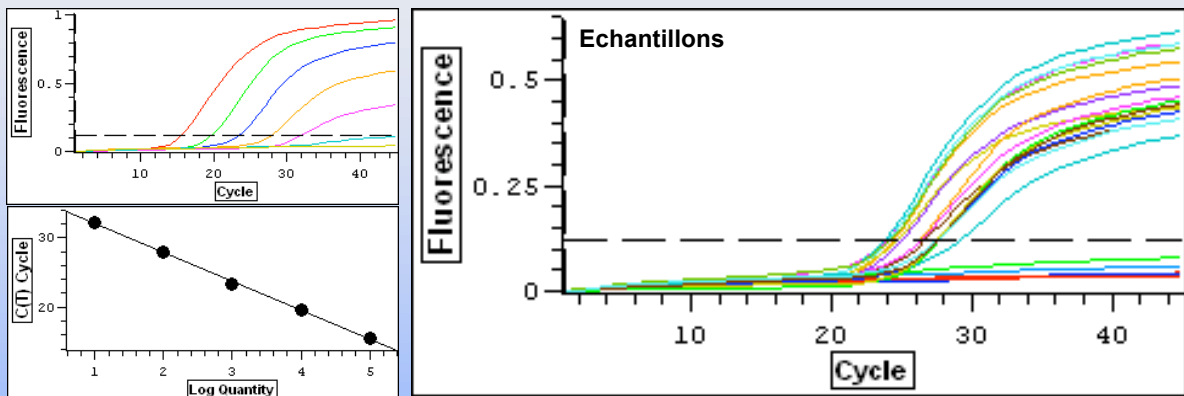


UMT 06.01 Transfert pour l'Expertise des Risques En Sécurité de l'Alimentation



Illustration : Détection du VHA dans des moules inoculées expérimentalement

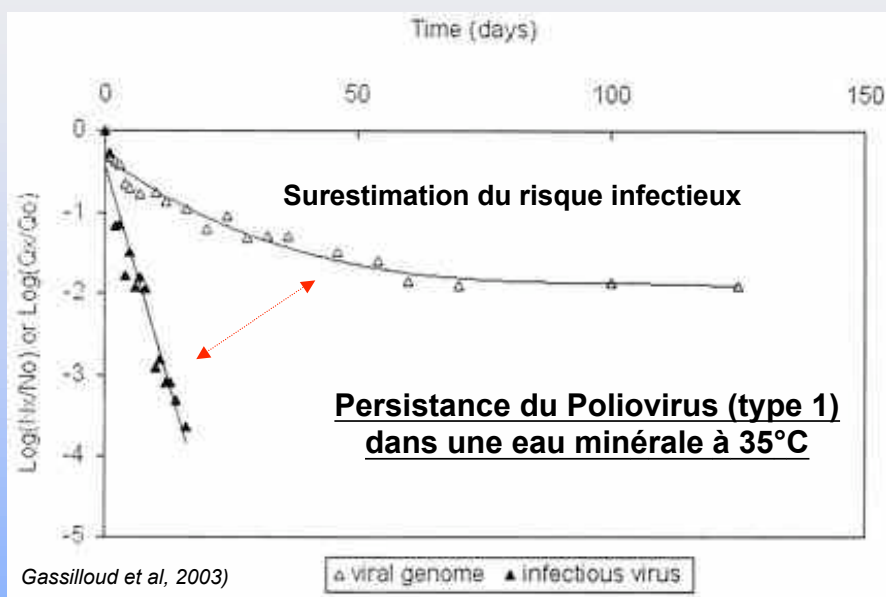
Gamme de quantification (UFP)



- ✓Vérification extraction
- ✓Vérification absence inhibition
- ✓Interprétation : présence / absence de génome VHA
- ✓Eventuellement estimation quantitative (nb UFP/g de glande digestive)



Détection génome / infectiosité



Présence de génome : indicateur d'une pollution virale + ou - ancienne

Elimination des virus non infectieux présents dans l'échantillon (protéinase K, RNase) ; études fondamentales sur les mécanismes de dégradation d'une particule virale (capside et génome)



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

III. CADRE REGLEMENTAIRE EUROPEEN ET NATIONAL



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43



Cadre réglementaire

↳ Paquet Hygiène (1/01/06) :

Considérant 27 : « Il conviendrait en particulier de fixer des critères applicables aux virus pathogènes dans les mollusques bivalves vivants si les méthodes d'analyses sont suffisamment développées. »

↳ Développement de méthodes : *en cours*

- **Groupe CEN TAG 4** : Detection of viruses in food (Groupe Miroir)



- **SEAFOOD** : projet REFHEPA

Mise au point de méthodes quantitatives pour détecter VHA et Norovirus dans les coquillages bivalves pour l'établissement de normes ISO (IFREMER Nantes)



↳ **Rapport AFSSA** « Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale » Fev 2007.

↳ **Pas de critères réglementaires spécifiques.**

- **Saisine 2002-SA0118 + Note d'information** sur épidémie à calicivirus liée à la consommation de framboises de Serbie-Monténégro (Janv 2004).



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

IV. PREVENTION ET MAITRISE DU RISQUE VIRAL EN IAA



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

VIRUS ET HACCP EN IAA

Faible sensibilisation en IAA sauf dans secteurs sensibles :

- eaux embouteillées
- conchyliculture
- transformation de fruits rouges importés (purée/fruits sur sucres...)



Mesure générale en IAA : limitation des risques de post-contamination d'origine humaine de par les mesures hygiéniques habituelles (désinfections des mains, port de gants...)



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

VIRUS ET HACCP EN IAA

Mesures spécifiques :

- Autocontrôles sur les eaux embouteillées
- Surveillance de la qualité des eaux du littoral
- Optimisation des barèmes de pasteurisation des fruits sur sucres



Risque viral identifié comme risque émergent et intérêt pour travaux sur :

- Optimisation des méthodes de détection par biologie moléculaire
- Études de prévalence
- Impact du procédé



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

RESISTANCES CONNUES DES VIRUS ENTERIQUES AUX AGENTS CHIMIQUES ET PHYSIQUES

Virus	Résistance aux agents chimiques	Résistance aux agents physiques
VHA	pH acides ; solvants des lipides (chloroforme, éther à 20%) ; chlore aux concentrations présentes dans les eaux de piscine ou de boisson (0,1 à 0,2 ppm)	Résistance au froid (4°C) et à la congélation ($\leq 20^{\circ}\text{C}$) Stable 1h à 60°C Partiellement inactivé après 10 à 12 h à 60°C
VHE	/	Résistant au froid (4°C) et à la congélation ($\leq 20^{\circ}\text{C}$)
Norovirus Sapovirus	/	Résistant au froid (4°C) et à la congélation ($\leq 20^{\circ}\text{C}$) Stable 30 min à 60°C Résistant aux variations de pH (3 h à pH 3 à t° ambiante)
Rotavirus	Monochloramine, Ammoniums quaternaires (gluconate de chlorhexidine, cetrimide...) Savon liquide	Résistant au froid (4°C) et à la congélation ($\leq 20^{\circ}\text{C}$) Stable 30 min à 60°C
Astrovirus	Chloroforme Détergents Solvants des lipides	Résistant au froid (4°C) et à la congélation ($\leq 20^{\circ}\text{C}$) Stable 5 min à 60°C Stable à pH 3
Adenovirus	/	Résistant au froid (4°C) et à la congélation ($\leq 20^{\circ}\text{C}$)
Réovirus	Ethanol à 70%	Résistant au froid (4°C) et à la congélation ($\leq 20^{\circ}\text{C}$) Stable à température ambiante et à 55°C Stable à des pH entre 2 et 9
Entérovirus	Ethanol à 70%, lysol à 5%, composés d'ammoniums quaternaires à 1% (expositions courtes)	Résistant au froid (4°C) et à la congélation ($\leq 20^{\circ}\text{C}$) Résistant 30 min à 60°C Résistant 3 h à pH 3 à t° ambiante



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43




IMPACT DES PROCÉDES

Procédé	Paramètres technologiques	Élimination virale
STERILISATION	T > 110°C	BONNE
PASTEURISATION	60 à 100°C (qqz dizaines de sec à qqz dizaines de min)	VARIABLE selon barèmes et produits
CONGÉLATION	-15° / -20°C plusieurs mois	FAIBLE ou NULLE
LYOPHILISATION	/	VARIABLE selon virus
TECHNOLOGIES ALTERNATIVES (Novel Food)	Haute Pression Lumière Pulsée Ionisation	VARIABLE selon virus



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

EXEMPLES

Produit	Barèmes	Réduction	Source
Lait (3.5% MG)	71° / 10.8 sec 71° / 8.31 min	1 log VHA 4 log VHA	<i>Bidawid et al., 2000</i> 
Crème (18% MG)	71° / 31.2 sec 71° / 12.67 min	1 log VHA 4 log VHA	
Coquillages (moules)	85 – 90° / 1 min 90° / 2 min	<3 log VHA 5 log VHA	<i>Croci et al., 1999</i>
Purée de fraise -28% sucre -52% sucre	80° / 6.88 min 80° / 35.76 min	4 log VHA 4 log VHA	<i>Deboosere et al., 2004</i> 

Remarques :

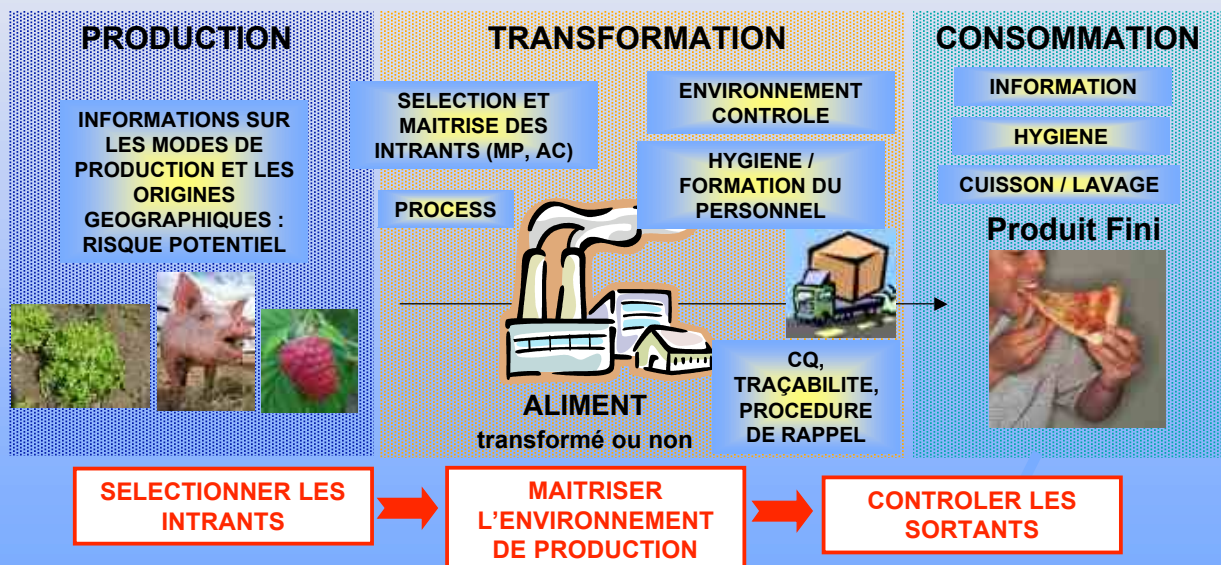
- Traitement jugé efficace si (4 log au moins
- Effet protecteur ou retardateur de la M.G. (lait/crème) et du sucre (purée de fraise)



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

LA MAITRISE DE LA CONTAMINATION ?

ANTICIPER LES RISQUES POTENTIELS / SECURISER TOUS LES NIVEAUX DE LA CHAINE / SENSIBILISER (PLUS) LES CONSOMMATEURS



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

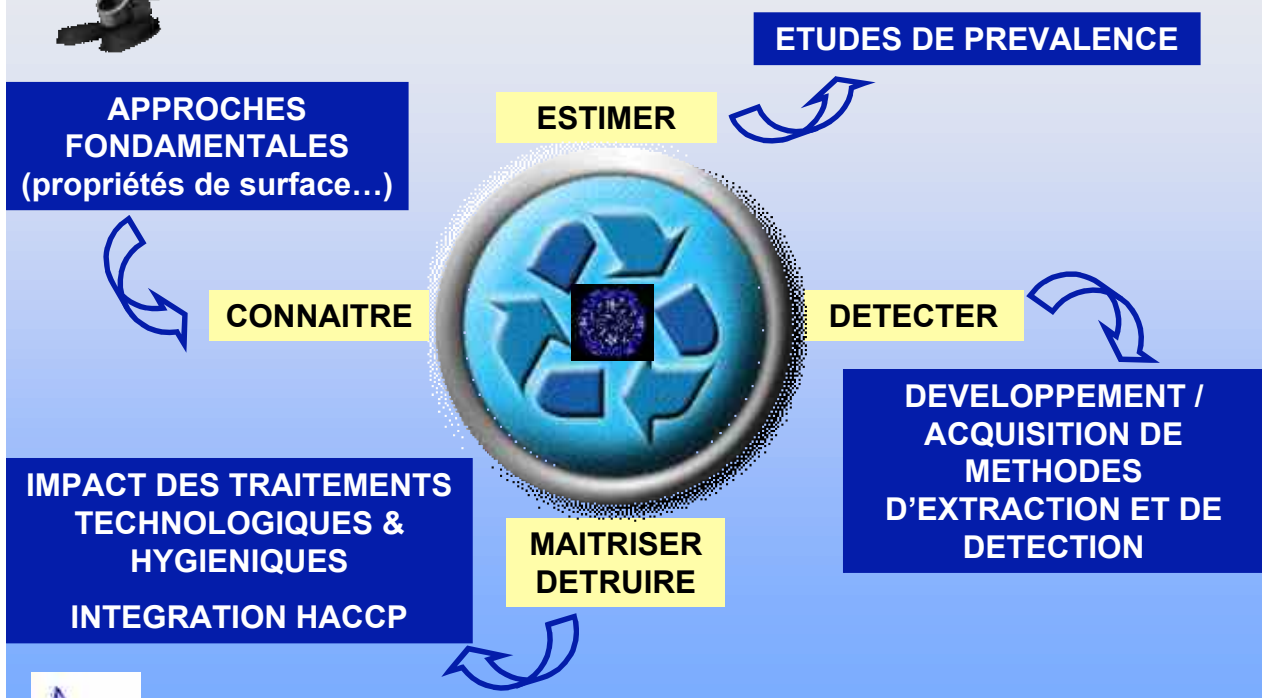
V. R&D



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43



R&D en VIROLOGIE à l'ADRIA Normandie



Boulevard du 13 juin 1944 BP 2 F-14 310 Villers Bocage Tel : 02 31 35 43 00 / Fax : 02 31 77 49 43

PROJETS / ACTIONS EN COURS



Efficacité des peroxydes sur la destruction virale : utilisation potentielle comme désinfectants et auxiliaires technologiques

Thermo-inactivation des virus contaminants les fruits rouges importés d'Europe Centrale (effet synergique du pH)



Contamination de matrices alimentaires par des virus entériques (VHA, norovirus) : relations entre propriétés de surface, capacité d'adhésion et résistance induite aux traitements technologiques et hygiéniques



Risques sanitaires émergents dans les produits de la mer importés surgelés



UMT TERESA AFSSA – ADRIA Normandie :
Transfert pour l'Expertise des Risques En Sécurité de l'Alimentation

