

Réservoir environnemental et chaîne alimentaire : les listérioses

Dr Sophie Roussel

Chef adjoint de l'Unité "Samonella et Listeria"

Responsable de l'Equipe "Recherche"

Anses -Laboratoire de Sécurité des Aliments ; Sophie.roussel@anses.fr

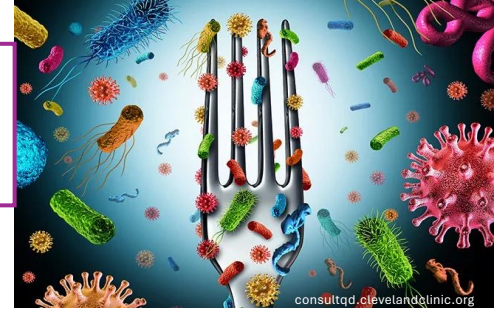


Une bactérie ubiquitaire à l'écologie complexe



Impact sociétal des contaminations

Risque épidémique
Nécessité de contrôler les aliments



Pertes à l'élevage
Gaspillage alimentaire

2022: 436 cas en France

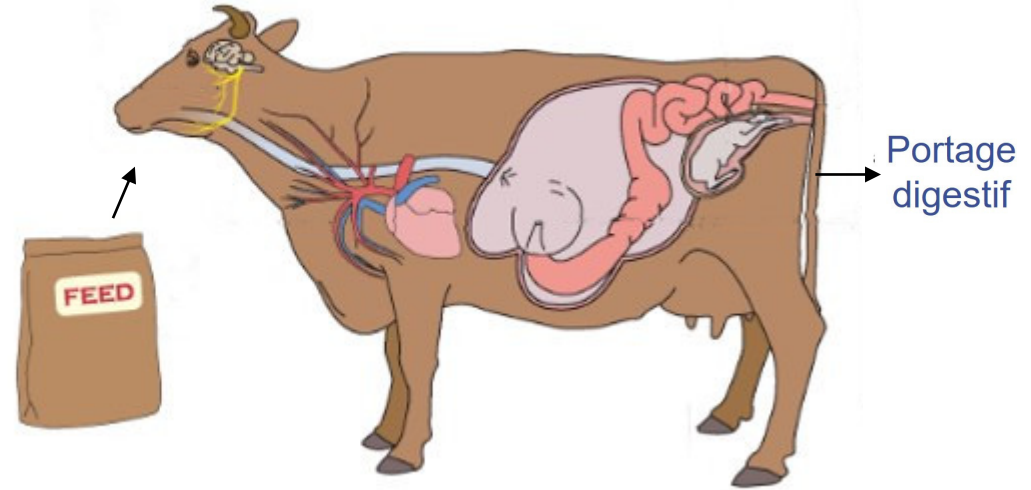
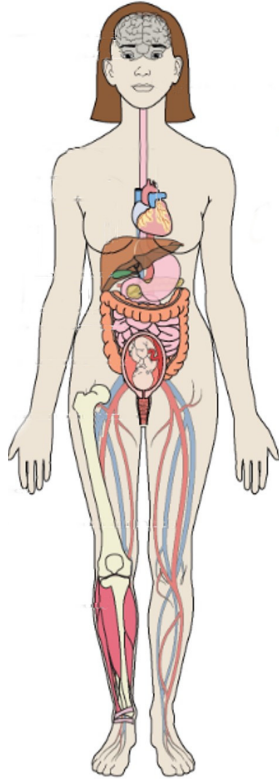
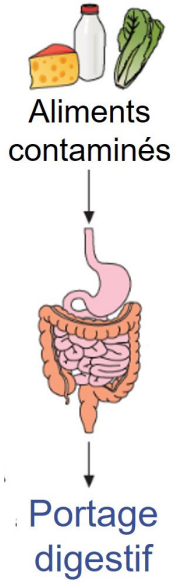
>65 ans, immunodéprimés, femmes enceintes

Neurolistérioses animales 5 à 10 cas pour 100 000 ruminants – sous estimés
Retrait/rappel Lm, en France, en 2023, n = 600 (<https://rappel.conso.gouv.fr/>)

Perte de confiance du consommateur
Diminution de la diversité des aliments



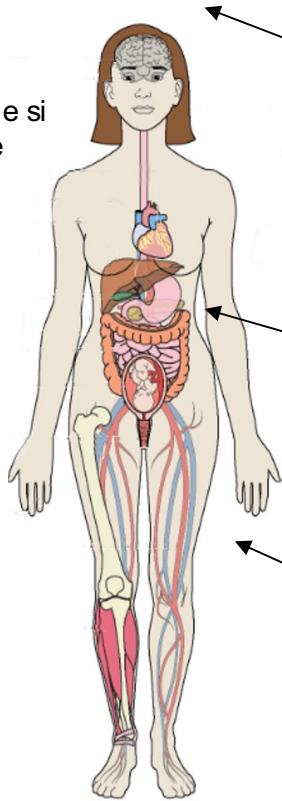
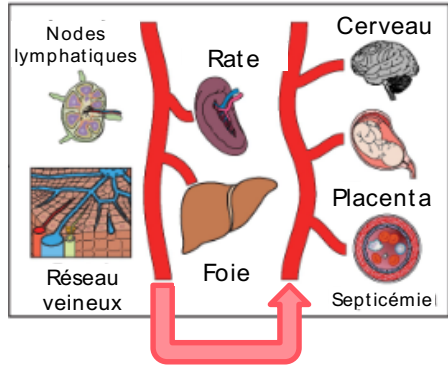
Portage asymptomatique



Formes invasives

Premier stade de l'infection asymptomatique

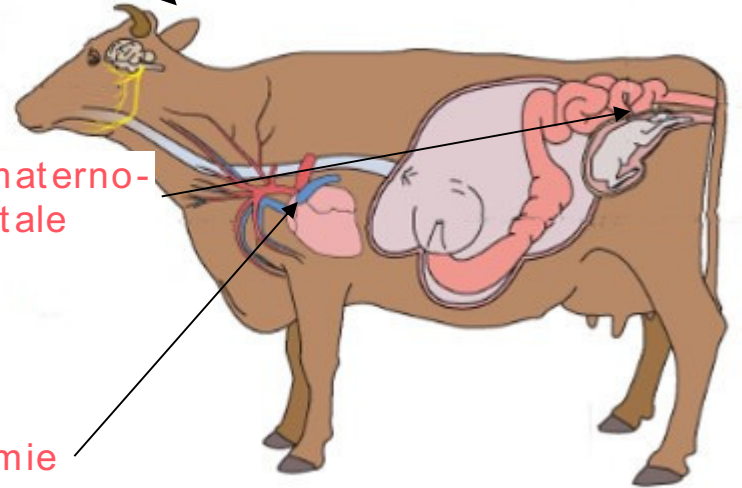
Infection fatale si non-traitée



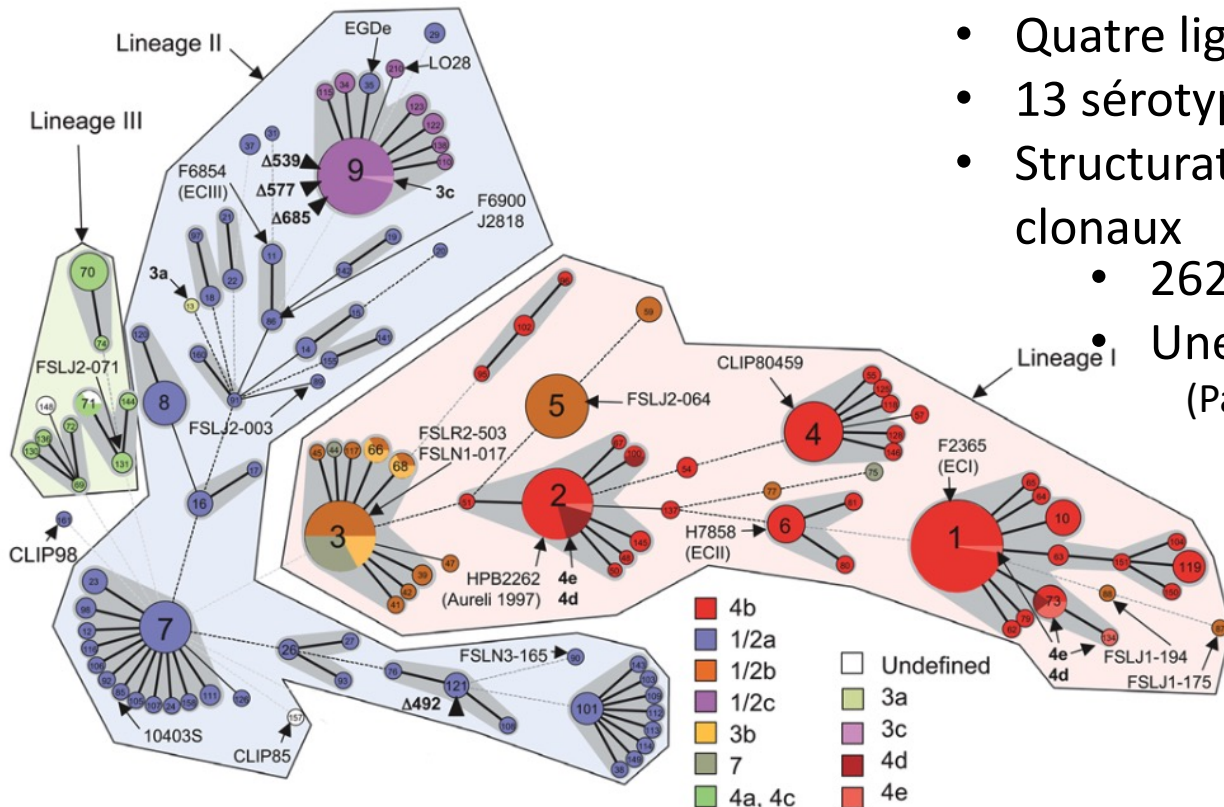
Infection du système nerveux central

Infection materno-néonatale

Septicémie

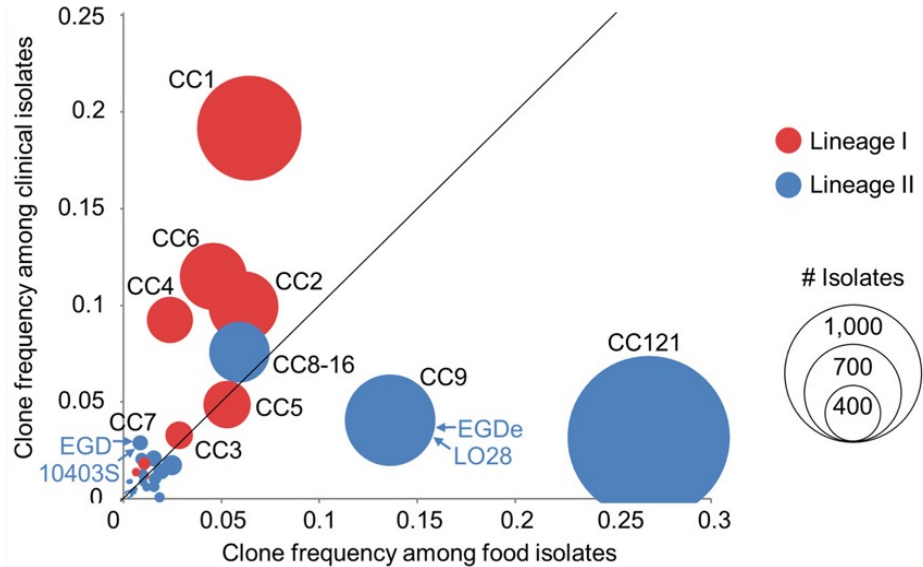


Une importante diversité génétique



- Quatre lignées phylogénétiques
- 13 sérotypes
- Structuration par MLST en complexes clonaux
 - 262 (janvier 2024)
 - Une trentaine les plus fréquents (Painset et al., 2019)

Une distribution différente des complexes clonaux



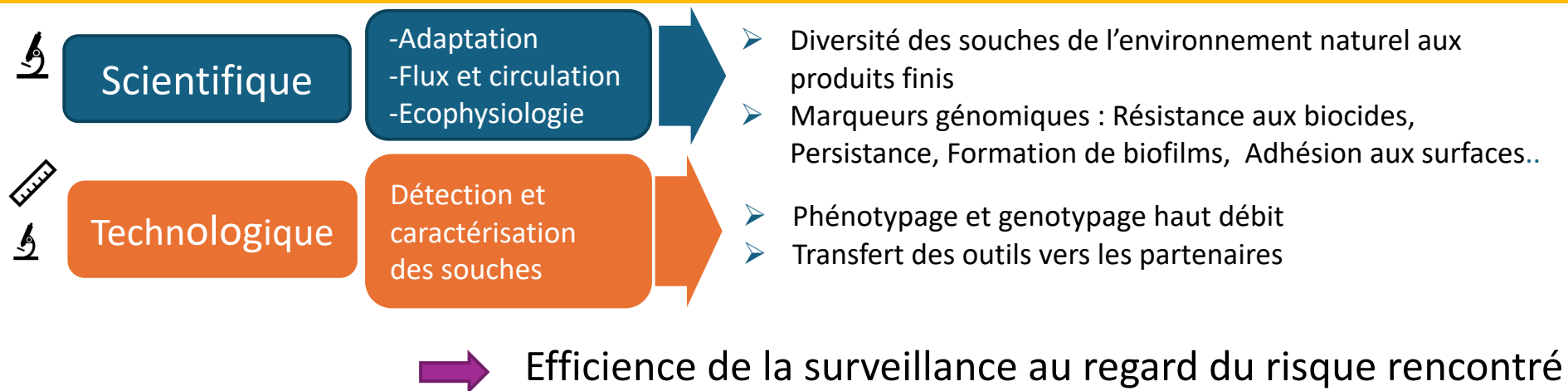
Maury et al. 2016 ; Projet de Transversalité Recherche IP/Anses

- CCs reliés à un degré de virulence
- 3 classes de virulence (Fristch et al., 2018)

CC9 et CC121 : Produits finis dans toutes les filières (moins filière lait) (Henri et al., 2016; Félix et al, 2018 ; Painset et al 2019)

Quelles sont les voies d'entrée dans la chaîne alimentaire des CC ?





- Recherche à Dimension Européenne: Horizon 2020, European Joint Project (EJP) One-Health
- Diversité de partenariats: INRAE, CNRS, Institut Pasteur, ENVA, Universités, ITAIS
- Sources de financements: ANR, France-Agrimer, ACTIA, Inter-profession, Transversalités Anses, Bourses de thèse Anses-INRAE

Un outil haut débit d'identification des CC

EURL Lm

European Union Reference Laboratory for
Listeria monocytogenes
<http://eurl-listeria.anses.fr>



RESEARCH ARTICLE



Développement d'une méthode rapide d'identification de 30 CCs par PCR en temps réel

Identification by High-Throughput Real-Time PCR of 30 Major Circulating *Listeria monocytogenes* Clonal Complexes in Europe

Benjamin Félix,¹ Karine Capitaine,¹ Sandrine Te,² Arnaud Felten,³ Guillaume Gillot,⁴ Carole Feurer,⁵ Tijl van den Bosch,⁶ Marina Torres,⁷ Zsuzsanna Sréterné Lancz,⁸ Sabine Delannoy,⁹ Thomas Brauge,¹⁰ Graziella Midelet,¹¹ Jean Charles Leblanc,¹² Sophie Rousset¹³

¹ANSES, European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*, Laboratory for Food Safety, Sakhonkela and Listeria Unit, University of Paris-Est, Maisons-Alfort, France

²ANSES, Ploufagan/Plouzane/Pilot Laboratory, Viral Genetics and Bio-Security Unit, Université Européenne de Bretagne, Ploufagan, France

³INRA, Food Technology Institute, Ouzouer, France

⁴IFIP - The French Pig and Poultry Institute, Department of Fresh and Processed Meat, Le Rheu, France

⁵Wageningen Food Safety Research, Department of Bacteriology, Molecular Technology and Antimicrobial Resistance, Wageningen, The Netherlands

⁶National Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e Molise 'G. Caporale' Via Campo Boario, Teramo, Italy

⁷Microbiology of National Reference Laboratory, National Food Chain Safety Office, Food Chain Safety Laboratory Directorate, Budapest, Hungary

⁸ANSES, Laboratory for Food Safety, Identifish Platform, Maisons-Alfort, France

⁹ANSES, Laboratory for Food Safety, Bacteriology and Parasitology of Fishery and Aquaculture Products Unit, Boulogne-sur-Mer, France

Accéder au CC des souches en 48h –
surveillance – accessible à tous les
laboratoires sans séquençage

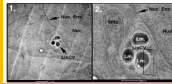
Identification du CC des souches possible
directement après prélèvement

Renforcement des connaissances sur la
distribution des CCs dans tous les
compartiments des filières

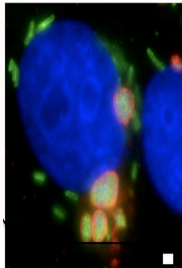
Développement d'une méthode de détection
directe sur bouillon d'enrichissement Multi-
détection des CCs présents



Projet ANR PERMALI Vie intracellulaire



Listeria LAMP1 DAPI



RESEARCH ARTICLE

Listeria monocytogenes switches from dissemination to persistence by adopting a vacuolar lifestyle in epithelial cells

Mounia Kortebi^{1,6}, Eliane Milohanic^{1,6}, Gabriel Mitchell², Christine Péchoux³, Marie-Christine Prevost⁴, Pascale Cossart^{5,6,7}, Hélène Biere^{1,6}

Hypothèse

« Être cytosolique ou vacuolaire » : La double vie de *Listeria monocytogenes*

La forme intravacuolaire persistante de *Listeria* peut conduire à des infections silencieuses, listériose latente chez l'humain et contribue à la formation de réservoirs chez les animaux



Objectifs

- Étudier les mécanismes génétiques expliquant le phénotype de persistance intracellulaire (WP1 – Anses)
- Développer des outils de détection et de quantification de Lm intracellulaire persistant (WP2 – WP3)
- Proposer des solutions diagnostiques, thérapeutiques et préventives pour les populations humaines et les animaux d'élevage à risque

Contamination des produits laitiers: comprendre les voies d'entrée

- ❖ Importance économique de la Filière lait (2022 : France : second pays producteur de produits laitiers en UE (CNIEL, 2022))
- ❖ Aliments consommés dans être cuits !
- ❖ CC1, CC4, CC6 : produits laitiers (Félix et al., 2018 ; Maury et al., 2016)
- ❖ CC1: responsable de rhombocephalites chez les ruminants (Dreyer et al., 2016 ; Aguilar –Bultet et al., 2018) Souches 1996-2015; Suisse et UK..Très peu d'autres informations

Constitution du panel de souches

Anses (unité SEL)

Plans de surveillance nationaux
Produits laitiers (Félix et al. 2018 FM)

Réseau OSCAR, Dispositif National de Surveillance

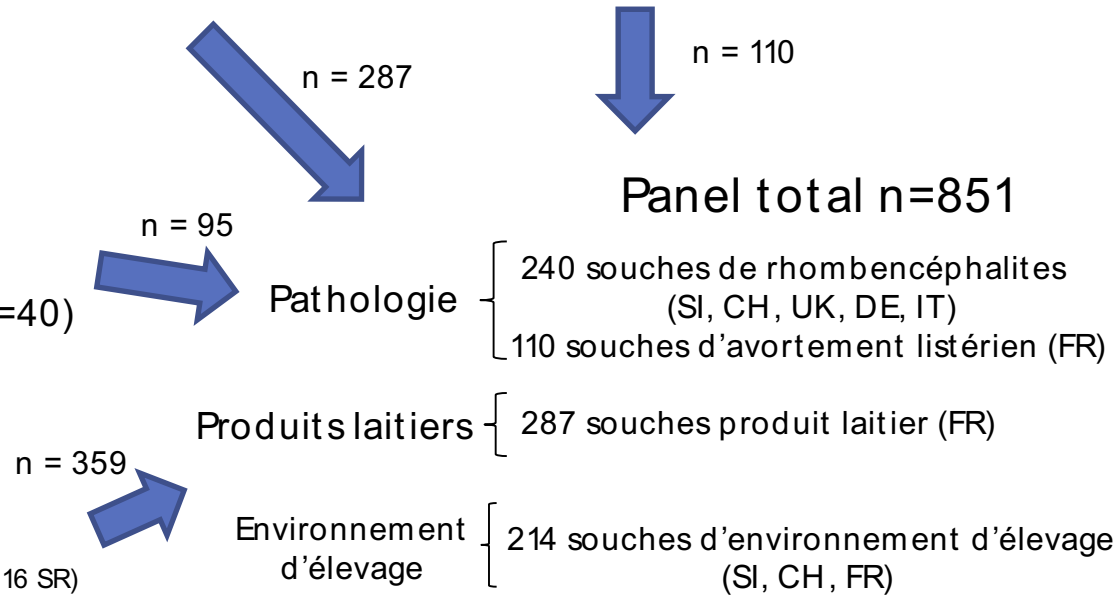
Souches d'avortement bovin

Institut de Microbiologie et de Parasitologie Faculté vétérinaire de Ljubljana

- Souches de rhombencéphalites (bovin, ovin, caprin) (n=55)
- Souches d'environnement d'élevages (n=40)

Publications / données de typage





- Souches de rhombencéphalites (bovin, ovin, caprin) (n=185) (Dreyer et al., 2016 SR)
- Souches d'environnement d'élevages (n=174)



Distribution des CCs dans la filière lait

Hypervirulent
 Virulent
 Moins virulent

Valeurs relatives exprimées en pourcentage

% nb de souches	 Souches de Rhombencéphalites	 Souches d'avortements listériens	 Environnement d'élevage	 Produits laitiers
CC1	45,8	21,8	15,4	9,1
CC4	10,4	14,5	10,3	9,1
CC6	0,4	12,7	7,9	7,0
CC37	0,4	18,2	8,4	4,5
CC412	10,4	3,6	2,8	0,7
CC59	1,3	4,5	3,7	2,8
CC9		0,9	6,1	3,5
CC29		0,9	5,6	3,5
CC8	1,7	1,8	3,7	2,8
CC7	0,4	5,5	1,9	3,8
CC2		0,9	3,7	2,4
CC18	0,4	3,6	2,3	2,8
CC3				3,8
CC121			2,3	2,8
CC5	0,4	0,9	3,3	2,8
	n= 240	n=110	n=214	n= 287

Principaux résultats

- ❖ CC hypervirulents (CC1, CC4, CC6) et virulent (CC37) dans les produits laitiers en France.
- ❖ Mêmes CC que ceux les plus fréquemment associés aux pathologies des ruminants.
- ➡ Lien direct entre pathologie animale et contamination alimentaire.
- ❖ CC1 significativement associé aux rhombencéphalites ; CC6 et CC37 cas d'avortements.
- ❖ CC2, hypervirulent pour l'homme : peu de cas cliniques chez les ruminants.
- ➡ Différence de virulence entre homme et ruminant ?

Suite du travail/ Filière lait

Confirmer la source abortive
des souches CC6 et CC37



83 souches abortives typées en 2023

- 44 Slovènes
- 39 Françaises (LVD-25)

CC1, CC4, CC6, CC37 majoritaires

Continuer à mieux caractériser les
contaminations au niveau des
produits laitiers

150 souches typées en 2022- 2023
collaboration ADRIA-ANSES







Grande
diversité
+30 CCs



CC1, CC6
majoritaires

Filière porc

MLST CC via PFGE	 Elevages de porc	 Produits crus, peu transformés	 Enviro. entreprise	 Produits, cuits, secs, salés
CC121		20.2	25.0	24.4
CC9	1.2	29.0	10.7	17.4
CC8	10.6	8.1	10.7	7.0
CC1	9.4	3.6	3.6	5.9
CC6	7.1	3.6	1.2	3.0
CC5	2.4	3.6	7.1	4.8
CC2		2.4		5.6
CC4 - CC217	1.2	3.2	1.2	2.2
CC37	12.9	3.2	2.4	2.2
CC31		0.4	2.4	1.9
CC155		0.4	6.0	2.2
CC204		0.4	2.4	0.7
CC3		1.2	4.8	2.6
CC59	8.2	0.8		0.4
CC7	1.2	0.8	3.6	1.1
CC14	1.2	2.4		1.5
CC77	11.8	0.8	1.2	1.5
CC224	8.2	1.2	2.4	0.4
CC11	3.5	0.8	4.8	0.7
CC18		0.8		
CC193			1.2	3.0
CC101 - CC90	1.2			0.7
Not assigned	1.2	0.8		0.4
CC21	2.4			
CC91		1.2		0.4
CC20		0.4		0.4
Others	16.5	10.5	9.5	9.6
	85	248	84	270

73 fermes

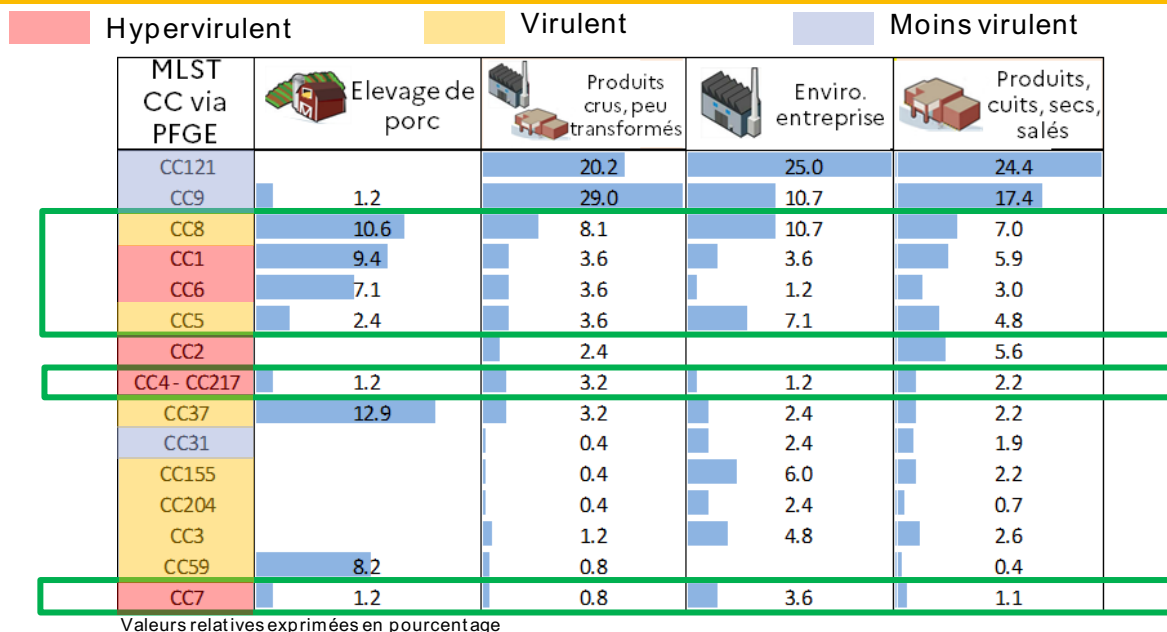
En 2008

Région Bretagne

Approx. 50% de la
production Française

**CC37, CC77, CC59,
CC224 sont associés
au compartiment
« animal et
environnement »**

Filière porc







CCs « ubiquitaires »
CCs hypervirulents présent dès l'élevage

Hypervirulent

Virulent

Moins virulent

MLST CC via PFGE	 Elevage de porc	 Produits crus, peu transformés	 Enviro. entreprise	 Produits, cuits, secs, salés
CC121		20.2	25.0	24.4
CC9	1.2	29.0	10.7	17.4
CC8	10.6	8.1	10.7	7.0
CC1	9.4	3.6	3.6	5.9
CC6	7.1	3.6	1.2	3.0
CC5	2.4	3.6	7.1	4.8
CC2		2.4		5.6
CC4- CC217	1.2	3.2	1.2	2.2
CC37	12.9	3.2	2.4	2.2
CC31		0.4	2.4	1.9
CC155		0.4	6.0	2.2
CC204		0.4	2.4	0.7
CC3		1.2	4.8	2.6
CC59	8.2	0.8		0.4
CC7	1.2	0.8	3.6	1.1

Valeurs relatives exprimées en pourcentage

CC121, CC9, CC2, CC3, CC31, CC155 et CC204 sont des CCs « alimentaires »


Filière porc

Prélèvement à l'abattoirs 2020-2022 collaboration IFIP-ANSES

CC9 et CC121 -> contamination dès l'abattoir

 Hypervirulent

 Virulent

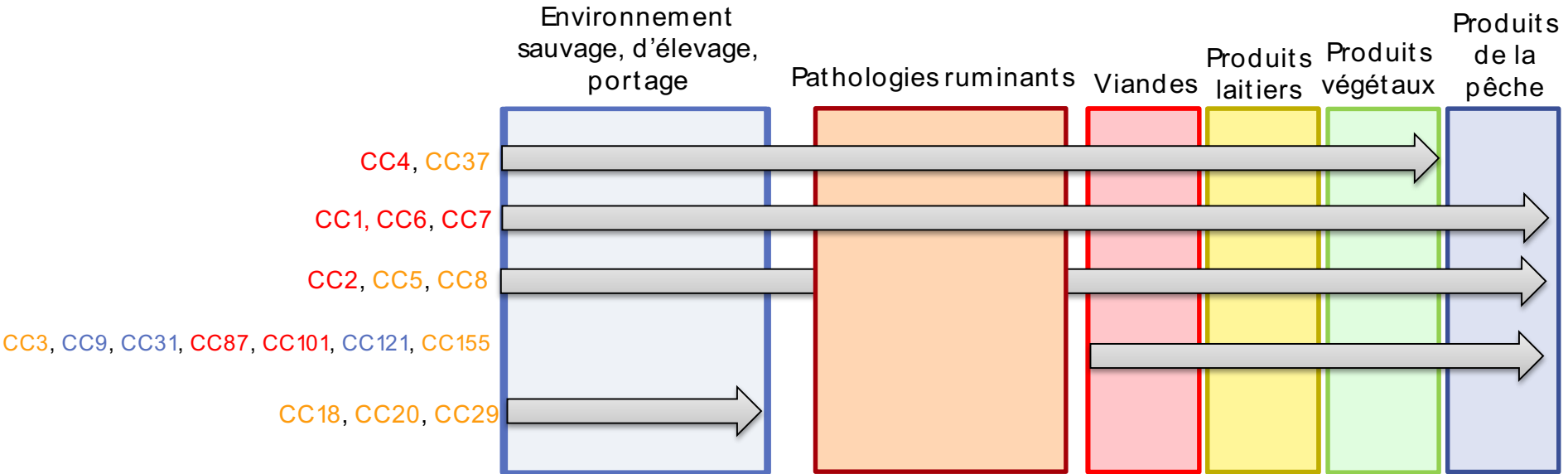
 Moins virulent



Valeurs relatives exprimées en pourcentage

Abattoirs	A	B	C
CC121	7,8	24,6	36,1
CC9	17,6	52,3	2,8
CC8	5,9	1,5	8,3
CC1		6,2	16,7
CC6			
CC5			2,8
CC2			
CC4	2,0		
CC37			
CC31	21,6		8,3
CC155	27,5		
CC204			
CC3			
CC59	5,9		8,3
CC7			

Conclusions : Distribution des CC dans les filières



Prévision sur la base du CC:

- de la source probable de contamination
- du potentiel d'implantation dans l'environnement de transformation

Valorisation

- Tsouma Meda et al, 2024, Food borne pathogens (Book)
- Lagarde et al., 2023, Food Microbiology
- Félix et al. 2023 Spectrum in Microbiology
- Brauge et al. 2023 Heliyon
- Félix et al., 2022 Scientific Data
- Denis et al., 2022 Microbes and Environment
- Oswaldi et al. 2022 Microorganisms
- Palma et al. 2022 Food Microbiology
- Sévellec et al., 2022 Frontiers in Microbiology
- Douarre et al., 2022, Frontiers in Microbiology
- Guérin et al. 2021 Pathogens
- Steingold et al. 2021 Veterinary Sciences
- Chiaverini A et al 2021 Frontiers in Microbiology
- Kubicová et al. 2021 Frontiers in Microbiology
- Maćkiw et al. 2021 IJFM
- Maćkiw et al. 2021 IJFM
- Sévellec et al. 2020 Pathogens
- Painset et al. 2019 Microbial genomics
- Félix et al. 2018 Frontiers in Microbiology
- Henri et al. 2016 Applied and Environmental Microbiology

Remerciements

Unité SEL (ANSES)

- Pierre-Emmanuel Douarre
 - Benjamin Félix
- Landry Tsoumtsia Meda
 - Karine Capitaine
 - Karol Romero

Plateforme de génomique (ANSES)

- Arnaud Felten

Plateforme IdentityPath (ANSES)

- Patrick Fach
- Sabine Delannoy
- Mai-Lan Tran

Laboratoire de Ploufragan (ANSES)

- Martine Denis
- Evelyne Boscher

DER (ANSES)

- Laurent Guillier

Laboratoire de Boulogne sur Mer (ANSES)

- Thomas Brauge
- Guylaine Leleu

Institut du porc

- Carole Feurer
 - Pauline Champigny

ACTALIA

- Valérie Michel
- Estelle Fontaine

ADRIA Quimper

- Guillaume Gillot
- Nassim Mouhali

Laboratoires nationaux de référence pour *Lm*:
CY, CZ, CH, DE, IT, MK, NLrvm, NLwfsr, NO, PT, SE, SI, SK, UK

Déclaration d'intérêt de 2014 à 2023

- Intérêts financiers : aucun
- Liens durables ou permanents : aucun
- Interventions ponctuelles : non
- Intérêts indirects : aucun

Déclaration de liens d'intérêt avec les industriels de santé
en rapport avec le thème de la présentation (loi du 04/03/2002) :

L'orateur ne
souhaite
pas répondre

- **Intervenant** : Roussel Sophie
- **Titre** : **Réservoir environnemental et chaîne alimentaire : les listérioses**

- Consultant ou membre d'un conseil scientifique OUI NON
- Conférencier ou auteur/rédacteur rémunéré d'articles ou documents OUI NON
- Prise en charge de frais de voyage, d'hébergement ou d'inscription à des congrès ou autres manifestations OUI NON
- Investigateur principal d'une recherche ou d'une étude clinique OUI NON

- ❖ Evoquer réglementation:
- ❖ Critères Européen 2073/2005 fixant la limite de contamination à 100 CFU/g en fin de date limite de consommation et absence en sortie de site de production. Les produits sensibles comme les aliments infantiles doivent être exempt de contamination jusqu'à la DLC.
- ❖ Evoquer que ce sont les filière qui déterminent la fréquence des auto-contrôles.