

28 juin 2011 / n° 25

p.285 **Dosages du bisphénol A et des phtalates chez les femmes enceintes : résultats de l'étude pilote Elfe, 2007**  
*Bisphenol A and phthalates in pregnant women: results from the ELFE pilot study, 2007*

p.289 **Investigation d'une toxi-infection alimentaire collective à germes multiples. Stade Yves du Manoir, Montpellier (France), février 2010**  
*Investigation of a collective polymicrobial foodborne outbreak, Yves du Manoir Stadium, Montpellier (France), February 2010*

## Dosages du bisphénol A et des phtalates chez les femmes enceintes : résultats de l'étude pilote Elfe, 2007

Stéphanie Vandentorren<sup>1</sup> (s.vandentorren@invs.sante.fr), Florence Zeman<sup>2</sup>, Amivi Oleko<sup>1</sup>, Hélène Sarter<sup>1</sup>, Marie-Laure Bidondo<sup>1</sup>, Karine Tack<sup>2</sup>, Lise Morin<sup>1</sup>, Adeline Floch-Barnaud<sup>2</sup>, Joëlle Le Moal<sup>1</sup>, Céline Boudet<sup>2</sup>

1/ Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

2/ Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris), Verneuil-en-Halatte, France

### Résumé / Abstract

De nombreux facteurs (polluants environnementaux ou bien facteurs nutritionnels ou infectieux) agissent dès la période *in utero* et périnatale et vont impacter la santé future des enfants. La cohorte Elfe (Étude longitudinale française depuis l'enfance) permettra d'analyser ces expositions, et d'évaluer leur impact sur la santé de 20 000 enfants, nés en 2011 et suivis jusqu'à l'âge adulte. Une étude pilote, réalisée en octobre 2007 sur plus de 500 naissances, a montré un taux de réalisation de 80% des prélèvements biologiques en maternité. Cette étude a permis de tester les procédures de collecte afin d'en tirer des enseignements scientifiques pour dimensionner l'étude au niveau national, en particulier pour le dosage des polluants émergents, comme le bisphénol A (BPA) ou les phtalates.

Les phtalates et le BPA sont des perturbateurs endocriniens qui peuvent induire des effets sur le développement et la reproduction. Cette étude pilote est une première estimation de l'imprégnation maternelle à ces substances en maternité dans deux régions françaises. Les concentrations médianes urinaires en BPA, MEHP et ses métabolites (5-OH-MEHP and 5-oxo-MEHP) sont similaires à celles retrouvées dans d'autres études, mais les concentrations élevées et les différences mises en évidence selon le type d'accouchement suggèrent une exposition particulière en maternité. L'hypothèse soulevée est celle d'une contamination par le matériel médical. Ces résultats doivent être pris en compte pour la mise en place d'études de biosurveillance dans cette population. Ils mettent aussi en évidence une voie d'exposition, *via* les dispositifs médicaux, des femmes enceintes et de leurs nouveau-nés lors de longs séjours hospitaliers (unité de soins intensifs en néonatalogie ou en gynécologie-obstétrique).

### *Bisphenol A and phthalates in pregnant women: results from the ELFE pilot study, 2007*

*Exposure to environmental pollutants, nutritional or infectious factors plays an important role during and after pregnancy, and will impact the outcome of children's health. The ELFE cohort study (a French representative study of 20,000 children born in 2011 and followed from birth to adulthood) will contribute to analyze these types of exposure. A pilot study initiated in October 2007 and including more than 500 children, showed an acceptance rate of 80% for biological samples. This pilot study tested the collection procedures in order to validate the protocol, particularly about the body burden of emerging pollutants – such as bisphenol A (BPA) and phthalates.*

*Exposures to phthalates and BPA proved to cause developmental and reproductive toxicity. This study reports the first assessment of exposures to both contaminants in pregnant women in two French districts. The median urinary concentrations of BPA, MEHP and its metabolites (5-OH-MEHP and 5-oxo-MEHP) were similar to those found in other studies, but the high concentrations and differences in types of delivery suggested exposure at maternity ward. Contamination with medical supplies is the hypothesis which was raised. These results should be considered when developing biomonitoring studies in this population. They highlight a route of exposure through medical devices, for pregnant women and their newborns during long hospital stays (neonatal intensive care or gynecology-obstetrics units).*

### Mots clés / Key words

Bisphénol A, phtalates, biosurveillance, grossesse, exposition maternelle / *Bisphenol A, phthalates, biomonitoring, pregnancy, maternal exposure*

## Introduction

Le bisphénol A [BPA : 4,4'-dihydroxy-2,2-diphénylpropane] est un monomère utilisé pour la fabrication industrielle par polymérisation de plastiques de type polycarbonate et de résines époxy. Il est également utilisé comme antioxydant dans les plastifiants et le PVC, et comme inhibiteur de polymérisation dans le PVC. Ces matières plastiques se retrouvent dans des produits aussi divers que des dispositifs médicaux, des disques compacts, des bouteilles (lait, eau), des biberons, des canalisations d'approvisionnement en eau potable, des résines époxy pour le revêtement interne de contenants alimentaires (en particulier, conteneurs métalliques de boissons et de nourriture) et des composites dentaires [1]. Il entre également dans la composition des papiers thermosensibles (tickets de caisse).

Les phtalates sont essentiellement utilisés dans l'industrie des plastiques pour assouplir le PVC. Toutefois, ils entrent aussi dans la composition de cosmétiques. Ils sont retrouvés dans tous les compartiments environnementaux [2]. Depuis 1997, les phtalates sont considérés comme produits à risque par la Commission européenne (Décision 1999/815/CE<sup>2</sup>) lorsqu'ils sont utilisés dans la fabrication des jouets et des articles de puériculture en PVC souple. Les principaux phtalates sont le DEHP [di(2-éthylhexyl)phtalate], le DBP [di-n-butyl-phtalate], le DINP [diisononyl-phtalate], le DnOP [di-n-octyl-phtalate], le DIDP [diisodécyl-phtalate], le BBP [butyl-benzyl-phtalate] et le DnHP [di-n-hexyl-phtalate].

Lorsqu'ils entrent dans la composition de contenants alimentaires, le BPA et les phtalates peuvent spontanément migrer vers les aliments ; ce phénomène est accru sous l'effet de la chaleur (chauffage aux micro-ondes) et des réutilisations successives, ou du type de contenant (solutions alcalines pour le BPA). C'est pourquoi, en ce qui concerne ces substances, la voie digestive est le mode de contamination le plus fréquent chez l'Homme et chez l'animal. Il existe également une contamination par inhalation de poussières (particulièrement pour les professionnels aux postes de fabrication des produits en PVC), ainsi que par passage cutané.

Le BPA et les phtalates sont des substances chimiques qui, dans l'organisme, miment les hormones endocrines ou interfèrent avec les fonctions du système hormonal. Elles ont un potentiel pour induire des effets sanitaires délétères sur ces fonctions, notamment sur le développement et la reproduction, ainsi que sur le métabolisme [3;4]. Concernant les phtalates, les données sur les effets chez l'Homme restent limitées.

Tous les phtalates n'ont pas le même potentiel toxique. De plus, certains ont été plus étudiés que d'autres. Il apparaît que, pour l'Homme, le point critique est constitué par les effets sur la reproduction, comprenant les effets sur la fertilité et sur le développement du fœtus et du nouveau-né [5;6]. Le DEHP est classé toxique pour la reproduction en catégorie 2 (R60-61) selon la classification réglementaire de l'Union européenne (annexe 1 de la Directive 67/548/CEE modifiée), c'est-à-dire qu'il

peut altérer la fertilité et entraîner un risque pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant. Le DBP est considéré comme présentant un risque possible d'altération de la fertilité (classé dans la catégorie 3 toxique pour la reproduction, R62), et pouvant entraîner un risque pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant (catégorie 2, R61). Les mêmes catégories sont prévues pour le BBP et le DIPP, mais la discussion à ce sujet est toujours en cours. Les quelques études réalisées chez l'Homme et le rapport récent de l'expertise collective Inserm du 13 avril 2011 [7] suggèrent une corrélation entre l'augmentation du taux de BPA retrouvé dans les urines et les troubles de la fonction sexuelle, mais la plupart de ces études ne portent pas sur une exposition durant la grossesse [8;9].

Ces substances chimiques, comme beaucoup d'autres facteurs (que ce soient d'autres polluants environnementaux ou bien des facteurs nutritionnels ou infectieux), agissent durant la période périnatale, que ce soit *in utero* et dans la petite enfance, et peuvent influencer la santé future des enfants. Un des objectifs de la cohorte Elfe (Étude longitudinale française depuis l'enfance) est d'analyser ces expositions et d'évaluer leur impact sur la santé d'un sous-échantillon parmi 20 000 enfants nés en 2011 et suivis jusqu'à l'âge adulte (<http://www.elfe-france.fr>). Dans une telle cohorte de naissance, la collecte biologique en maternité permet de mesurer les expositions aux polluants environnementaux et représente une étape cruciale qui doit être testée lors d'une étude pilote.

Une étude pilote a ainsi été réalisée en octobre 2007 en Rhône-Alpes et Seine-Saint-Denis sur 571 naissances (cohorte pilote). Le premier objectif de cette étude pilote était de valider les procédures de collecte, de stockage et d'analyses des échantillons et d'en tirer des enseignements scientifiques pour mieux dimensionner l'étude au niveau national. Le second objectif était de décrire les niveaux d'imprégnation des mères aux substances les plus émergentes – comme les phtalates ou le BPA – pour aider à la hiérarchisation des biomarqueurs à prendre en compte dans le plan national de bio-surveillance, dont Elfe constitue le volet périnatal.

Sont présentés dans cet article les résultats des dosages du BPA libre et total et des métabolites du DEHP.

## Méthodes

### Population et collecte

Le recrutement a concerné toutes les naissances (d'enfant unique ou de jumeaux) survenant du 1<sup>er</sup> au 4 octobre 2007 dans le département de Seine-Saint-Denis et dans la région Rhône-Alpes (quatre départements) auprès de 30 maternités [10]. Sur les 571 naissances, 301 familles ont accepté de participer à l'étude Elfe. Parmi ces femmes, 296 ont donné leur consentement pour les prélèvements mais la collecte n'a pu être réalisée pour 17 d'entre elles (raisons liées à une surcharge de travail au bloc, état de santé de la mère ou de l'enfant...). Au total, 279 échantillons d'urine ont donc été collectés chez les mères en salle de naissance dans un tube en polypropylène.

Le protocole prévoyait une collecte directe des urines. Les échantillons étaient conservés dans le réfrigérateur du service à +4°C, puis acheminés par un transporteur spécialisé dans les sites de l'Établissement français du sang (EFS) avant d'être aliquotés dans des cryotubes de 10 ml et stockés à -80°C.

Par ailleurs, des informations sur les habitudes alimentaires, l'exposition aux polluants environnementaux, la santé de la mère et de l'enfant et la croissance du fœtus au cours de la grossesse, ont été recueillies à partir de questionnaires et des dossiers médicaux des femmes participantes.

### Dosages biologiques

Le BPA (libre et total) a été dosé dans 258 des 279 échantillons d'urine de 10 ml (le volume de 21 échantillons était insuffisant) après extraction par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC/MS-MS). La limite de détection (LOD) était fixée à 0,10 µg/l et la limite de quantification (LOQ) à 0,30 µg/l (avec un coefficient de récupération supérieur à 80% et un coefficient de variation de 19% au niveau de la LOQ).

L'analyse du BPA conjugué ne pouvant être réalisée avec une technique analytique simple et fiable, l'analyse du BPA total puis du BPA libre a permis d'accéder par soustraction à la quantité de BPA conjugué. Les métabolites du DEHP [2-éthyl-5-hydroxy-hexylphtalate (5-OH-MEHP) ; 2-éthyl-5-oxo-hexylphtalate (5-oxo-MEHP); mono-2-éthyl-5-hexylphtalate (MEHP)] ont été dosés dans 279 échantillons d'urine de 10 ml après hydrolyse enzymatique et analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS). Les dosages ont été répartis de façon aléatoire entre l'Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) (140 échantillons) et un laboratoire allemand (139 échantillons). Pour les trois métabolites, les LOQ étaient de 0,50 µg/l.

Les blancs, les étalons, et les contrôles de qualité internes et externes ont permis la validation des données. Pour l'analyse statistique, les 279 dosages en phtalates ont été utilisés, ainsi que 254 dosages en BPA (4 échantillons ont été exclus pour résultats aberrants).

### Analyses statistiques

Lorsque la sensibilité d'une technique de dosage utilisée pour quantifier un biomarqueur est faible, certaines valeurs sont censurées à gauche. La proportion de valeurs non détectées (<LOD) ou non quantifiées (<LOQ) était supérieure à 10% pour le BPA, et inférieure à 10% pour les phtalates. Pour traiter ce type de données, plusieurs méthodes peuvent être utilisées [11] :

- la méthode d'imputation par substitution : elle consiste à substituer les valeurs inférieures à LOD par LOD/2 et les valeurs entre LOD et LOQ par (LOD+LOQ)/2. Cette méthode donne de bons résultats lorsque le pourcentage des valeurs censurées à gauche est faible (<5%). Cette méthode a été utilisée pour les phtalates ;
- la méthode ROS (*Regression in Order Statistics*) utilise l'information fournie par la portion non censurée des données (les valeurs >LOQ) et la distribution présumée « normale » (ou transformée

<sup>1</sup> <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1999:315:0046:0049:FR:PDF>

**Tableau** Distribution du bisphénol A (BPA) total et libre et des métabolites du di (2-éthyl-hexyl) phtalate (DEHP) par type d'accouchement (césarienne ou forceps vs. accouchement naturel) des femmes de la cohorte pilote Elfe, France, 2007 / *Table Distribution of total and free bisphenol A (BPA) and di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) metabolites by type of delivery (caesarean vs. forceps or natural childbirth) of women in the ELFE cohort pilot study, France, 2007*

	% Non détecté		Toutes les naissances (n=254)					Accouchement naturel (n=164)					Césarienne ou forceps (n=79)				
	<LOD	<LOQ	MG [IC95%]	Écart-type	P25	P50	P75	MG [IC95%]	Écart-type	P25	P50	P75	MG [IC95%]	Écart-type	P25	P50	P75
<b>BPA (N=254)</b>																	
BPA total (µg/l)	8,1	3,1	2,6 [2,1-3,2]	71,0	1,0	2,5	5,6	2,0 [1,6-2,5]	22,9	0,9	2,2	5,1	4,5 [2,8-7,1]	118,8	1,2	3,3	7,5
BPA libre (µg/l)	25,6	9,4	0,4 [0,3-0,5]	62,8	0,1	0,4	1,3	0,2 [0,2-0,3]	22,0	0,0	0,3	1,0	0,7 [0,3-1,4]	104,5	0,1	0,7	2,3
<b>Métabolites du DEHP (N=279)</b>																	
MEHP (µg/l)		9,3	12,9 [10,4-16,2]	100,5	4,4	13,7	51,3	10,4 [7,8-13,7]	97,3	3,6	10,2	37,7	21,1 [14,3-31,1]	110,6	6,9	22,9	83,6
5-OH-MEHP (µg/l)	0,0	0,3	51,5 [42,6-62,3]	256,8	15,3	41,9	222,7	48,2 [38,3-60,8]	247,0	13,8	32,3	210,7	61,3 [43,0-87,4]	279,8	18,2	50,7	299,6
5-oxo-MEHP (µg/l)	0,0	0,3	38,2 [31,9-45,7]	159,5	12,4	28,3	146,9	35,9 [28,9-44,8]	152,5	12,0	23,7	142,1	44,2 [31,8-61,5]	172,8	15,3	33,9	168,9

LOD : limite de détection ; LOQ : limite de quantification ; MG : moyenne géométrique  
 P25 : 25<sup>ème</sup> percentile ; P50 : 50<sup>ème</sup> percentile ; P75 : 75<sup>ème</sup> percentile

en distribution normale) pour calculer une moyenne et un écart-type qui tiennent compte des données situées sous la limite de détection. Cette méthode nécessite la distribution normale (ou log normale). Elle a été utilisée pour le BPA.

La comparaison des données de dosage biologiques selon le type d'accouchement (accouchement naturel *versus* césarienne ou forceps) a été réalisée par un test de Wilcoxon.

naturels (respectivement 3,3 µg/l et 0,7 µg/l vs. 2,2 µg/l et 0,3 µg/l). Ces différences étaient statistiquement significatives (test de Wilcoxon, p=0,036). Pour les phtalates, les taux moyens étaient également supérieurs, pour les accouchements par césarienne ou forceps, aux taux mesurés pour les accouchements naturels (respectivement 22,9 µg/l vs. 10,2 µg/l pour le MEHP ; 50,7 vs. 32,3 µg/l pour le 5-OH-MEHP et 33,9 vs. 23,7 µg/l pour le 5-oxo-MEHP). Ces diffé-

rences étaient statistiquement significatives (p=0,002 ; p=0,16 et p=0,19 respectivement). Les teneurs urinaires en BPA et en phtalates (MEHP) étaient donc supérieures, pour les accouchements par césarienne ou forceps, aux teneurs retrouvées pour les accouchements naturels (figure 1). Au vu des résultats, l'hypothèse d'une contamination *via* les poches urinaires chez les femmes césarisées a été posée (les poches urinaires sont plus souvent

## Résultats

### Description de la population

La population était représentée par 31,2% de naissances en Seine-Saint-Denis ; 23,6% dans la Loire ; 30% en Isère ; 12,6% en Savoie et 2,6% en Ardèche. Les mères avaient en moyenne 30 ans lors de l'accouchement, l'âge minimal étant de 19 ans et le maximal de 42 ans. Il s'agissait du premier enfant pour 38,2% d'entre elles, du second pour 32,3%, du troisième pour 16,9%, du quatrième pour 4,7% et du cinquième ou plus pour 3% des femmes. Concernant le niveau d'études : 8% avaient un niveau collège ; 15% un niveau Bac professionnel ; 26% un niveau Bac ou Bac+2 ; 13% un niveau Bac ou Bac+4 et 10% un niveau Bac+5 et au-delà. Près de 45% des femmes étaient mariées, 36% vivaient en couple. La durée moyenne de gestation était de 39 semaines, la durée minimale de 31 semaines et la maximale de 42 semaines. Les naissances prématurées (inférieures à 37 semaines) représentaient 4,7% des naissances. Le poids moyen des enfants était de 3,3 kg avec un minimum de 1,4 kg et un maximum de 4,5 kg.

### Analyse des niveaux retrouvés

Le BPA total et libre était détecté respectivement chez plus de 90% et 74% des échantillons urinaires. Les concentrations en BPA total s'étendaient de 0,03 à 598 µg/l, avec une concentration médiane de 2,5 µg/l, et les concentrations en BPA libre de 0,0 à 512,8 µg/l, avec une concentration médiane de 0,4 µg/l. Pour les phtalates, les trois métabolites du DEHP étaient détectés dans plus de 95% des échantillons d'urine. Les concentrations de ces métabolites s'étendaient de 0,3 à 768,1 µg/l (concentration médiane 13,7 µg/l) pour le MEHP ; de 0,3 à 1 587,9 µg/l (concentration médiane de 50,7 µg/l) pour le 5-OH-MEHP, et de 0,2 à 924,5 µg/l (concentration médiane de 28,3 µg/l) pour le 5-oxo-MEHP (tableau).

Les taux médians de BPA total et libre étaient supérieurs, pour les accouchements par césarienne ou forceps, aux taux mesurés pour les accouchements

**Figure 1.** Distribution de la concentration urinaire en bisphénol A (BPA), monoéthyl-phtalate (MEHP), mono (2-éthyl-5-hydroxyhexyl) phtalate (5-OH-MEHP) et mono (2-éthyl-5-oxo-hexyl) phtalate (5-oxo-MEHP), en fonction du type d'accouchement (échelle logarithmique), dans l'étude pilote Elfe, France, 2007 / *Figure 1. Distribution of bisphenol A (BPA), monoethyl phthalate (MEHP), mono (2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate (5-OH-MEHP) and mono (2-ethyl-5-oxo-hexyl) phthalate (5-oxo-MEHP) by type of delivery (log scale) in the ELFE pilot study, France, 2007*

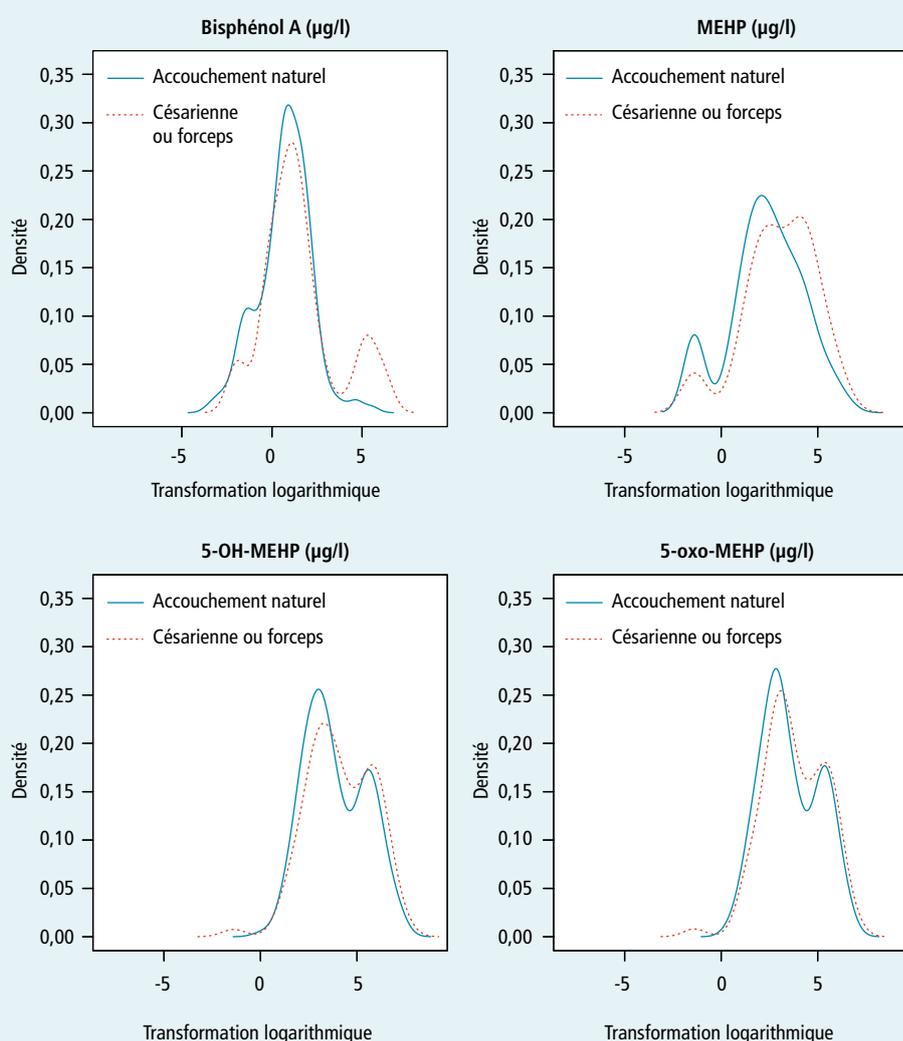
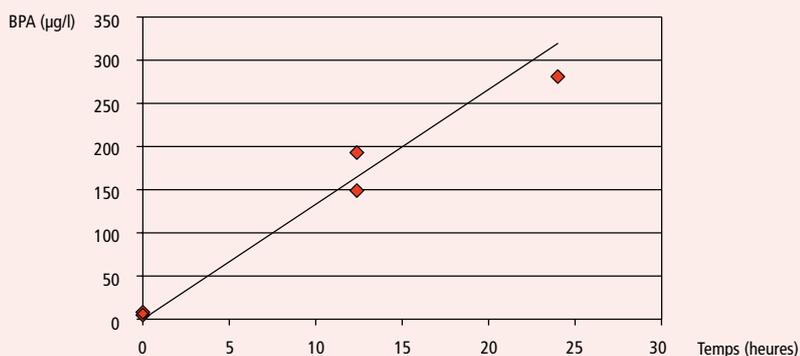


Figure 2 Relargage de bisphénol A (BPA) dans les poches urinaires au cours du temps. Étude pilote Elfe, France, 2007 | Figure 2 Release of bisphenol A (BPA) in urine probes over time. ELFE pilot study, France, 2007



utilisées lors d'un acte chirurgical comme la césarienne et font partie des dispositifs médicaux pouvant contenir du BPA). Des analyses supplémentaires ont donc été réalisées sur les sondes urinaires utilisées lors des césariennes pour étudier le relargage du BPA au cours du temps. De l'urine a été placée dans les sondes et le taux de BPA mesuré à t=0, t=12h et t=24h. L'analyse a été effectuée sur deux sondes urinaires de trois maternités différentes. Cette analyse a confirmé la possibilité du relargage de BPA dans les poches urinaires au cours du temps à 0, 12 et 24 heures à température ambiante. La figure 2 montre le relargage au cours du temps de certaines poches urinaires utilisées dans quelques maternités.

## Discussion

Les biomarqueurs de BPA et de phtalates ont été retrouvés chez plus de 90% des sujets, ce qui concorde avec le caractère ubiquitaire de l'exposition à ces substances dans la population [12]. La distribution des concentrations montre une grande variabilité des valeurs au sein de la population étudiée, suggérant différentes sources potentielles et divers facteurs pouvant influencer ces concentrations. Les questionnaires et les mesures environnementales de l'étude Elfe devraient permettre de mieux cerner les sources d'exposition (aliments, médicaments, cosmétiques, habitat...) et mieux comprendre la variabilité observée. Compte tenu de la très forte variabilité des mesures et notamment de valeurs extrêmes sur ces données, la comparaison avec les données de la littérature se base sur les valeurs médianes obtenues (50<sup>ème</sup> percentile) en µg/l. Le dosage de créatinine a été réalisé pour ajuster les résultats, mais n'est pas montré ici. Ainsi, la médiane du BPA total observée dans notre étude (2,5 µg/l ; variance : 71 µg/l) est similaire à celle retrouvée dans la littérature (l'étude américaine NHANES – *National Health and Nutrition Examination Survey* – a montré une médiane de 2,8 µg/l [13]). Concernant les phtalates, les résultats montrent que, parmi les différents métabolites mesurés dans les urines (résultats non montrés pour les autres phtalates), les métabolites du DEHP sont ceux présentant les concentrations les plus importantes. Dans la plupart des études, le MEHP est le métabolite le plus important en concentration. Les valeurs des métabolites (5-OH-MEHP et 5-oxo-MEHP) du MEHP, ainsi que celles du métabolite primaire MEHP,

sont supérieures à celles décrites dans la littérature [14]. Du fait de la demi-vie assez courte du MEHP, cette concentration importante de MEHP dans les urines suggère une exposition récente au DEHP, à savoir à l'hôpital, quelques heures avant les prélèvements urinaires.

Les valeurs les plus hautes du BPA et des phtalates sont plus élevées qu'attendu, ce qui pourrait être dû à de possibles contaminations récentes. Le BPA libre exprime la proportion de bisphénol non métabolisé et biologiquement actif : on peut penser que, plus il est élevé, plus l'échantillon contient du bisphénol n'ayant pas subi les étapes hépatiques et rénales de métabolisation (hypothèse de contamination) [15]. Afin d'expliquer ces valeurs élevées, des analyses complémentaires ont été réalisées par type d'accouchement. En effet, une césarienne nécessite une rachianesthésie et donc la pose d'une poche urinaire (ce qui n'est pas forcément le cas dans les accouchements par voie naturelle). Or, les poches urinaires sont des dispositifs médicaux qui peuvent contenir du BPA. Il est apparu par la suite que certaines femmes ont été prélevées à partir de leurs poches urinaires, ce qui corrobore l'hypothèse d'une contamination récente par le matériel médical (perfusion, poches urinaires) bien que l'effet « maternité » paraisse inévitable dans la mesure où les pratiques diffèrent d'une maternité à l'autre. De plus, pour le BPA, une contamination des échantillons est possible via les poches urinaires, compte tenu du relargage potentiel du BPA dans ces poches. Les problèmes de contamination par des dispositifs médicaux que nous avons mis en évidence de façon fortuite, spécifiques de ces deux types de biomarqueurs, devront être pris en compte lors des études de biosurveillance dans cette population, et en particulier dans l'étude nationale Elfe. Les consignes aux sages-femmes en maternité devront être adaptées et la collecte biologique des urines recommandée avant tout geste médical (pose de perfusion...).

Toutefois, ces résultats soulèvent des interrogations sur les conséquences de l'exposition via les dispositifs médicaux, dans les pays où leur utilisation n'est pas bannie<sup>3</sup>, des femmes enceintes et de leurs nouveau-nés à ces substances, notamment lors de longs séjours hospitaliers (grossesses pathologiques, soins intensifs dans les unités de néonatalogie). Cette

<sup>3</sup> En France, l'interdiction des phtalates a été adoptée en première lecture par l'Assemblée nationale le 3 mai 2011.

question, déjà soulevée dans d'autres publications, nécessite des approfondissements. En effet, outre les risques déjà évoqués sur les fonctions reproductrices, les phtalates et le BPA sont suspectés d'être également des perturbateurs thyroïdiens [16;17], avec un possible retentissement sur le développement cérébral. Par exemple, une exposition foetale aux phtalates durant le dernier trimestre de la grossesse a été récemment associée à des modifications comportementales mesurées chez des enfants de 7 à 9 ans [18].

## Références

- [1] Diamanti-Kandaraki E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, *et al.* Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev.* 2009;30(4):293-342.
- [2] Wittassek M, Koch HM, Angerer J, Brüning T. Assessing exposure to phthalates - the human biomonitoring approach. *Mol Nutr Food Res.* 2011;55(1):7-31.
- [3] Booker SM. NTP center reports on phthalate concerns. *Environ Health Perspect.* 2001;109(6):A260-1.
- [4] Vom Saal FS, Myers JP. Bisphenol A and risk of metabolic disorders. *JAMA.* 2008;300(11):1353-5.
- [5] Latini G, De Felice C, Presta G, Del Vecchio A, Paris I, Ruggieri F, *et al.* In utero exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate and duration of human pregnancy. *Environ Health Perspect.* 2003;111(14):1783-5.
- [6] Swan SH, Main KM, Liu F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM, *et al.* Study for Future Families Research Team. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ Health Perspect.* 2005;113(8):1056-61. Erratum in: *Environ Health Perspect.* 2005 Sep;113(9):A583.
- [7] Institut national de la santé et de la recherche médicale. Reproduction et environnement. Expertise collective. Paris: Inserm ; 2011.
- [8] Koch HM, Rossbach B, Drexler H, Angerer J. Internal exposure of the general population to DEHP and other phthalates--determination of secondary and primary phthalate monoester metabolites in urine. *Environ Res.* 2003;93(2):177-85.
- [9] Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons WV. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reprod Toxicol.* 2007;24(2):139-77.
- [10] Vandentorren S, Bois C, Pirus C, Sarter H, Salines G, Leridon H; Elfe Team. Rationales, design and recruitment for the Elfe longitudinal study. *BMC Pediatr.* 2009;9:58.
- [11] Lee L, Helsel D. Statistical analysis of environmental data containing multiple detection limits: S-language software for regression on order statistics. *Comput Geosci.* 2005;31:1241-8.
- [12] Kortenkamp A. Ten years of mixing cocktails: a review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals. *Environ Health Perspect.* 2007;115 Suppl.1:98-105.
- [13] Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL. Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. *Environ Health Perspect.* 2008;116(1):39-44.
- [14] Peck JD, Sweeney AM, Symanski E, Gardiner J, Silva MJ, Calafat AM, *et al.* Intra- and inter-individual variability of urinary phthalate metabolite concentrations in Hmong women of reproductive age. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2010;20(1):90-100.
- [15] Twaddle NC, Churchwell MI, Vanlandingham M, Doerge DR. Quantification of deuterated bisphenol A in serum, tissues, and excreta from adult Sprague-Dawley rats using liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2010;24(20):3011-20.
- [16] Boas M, Frederiksen H, Feldt-Rasmussen U, Skakkebaek NE, Hegedüs L, Hilsted L, *et al.* Childhood exposure to phthalates: associations with thyroid function, insulin-like growth factor I, and growth. *Environ Health Perspect.* 2010;118(10):1458-64.
- [17] Miller MD, Crofton KM, Rice DC, Zoeller RT. Thyroid-disrupting chemicals: interpreting upstream biomarkers of adverse outcomes. *Environ Health Perspect.* 2009;117(7):1033-41.
- [18] Miodovnik A. Environmental neurotoxicants and developing brain. *Mt Sinai J Med.* 2011;78(1):58-77.

# Investigation d'une toxi-infection alimentaire collective à germes multiples. Stade Yves du Manoir, Montpellier (France), février 2010

Delphine Viriot<sup>1,2</sup> (d.viriot@invs.sante.fr), Amandine Cochet<sup>1</sup>, Marguerite Watrin<sup>1</sup>, Patrick Benoit<sup>3</sup>, Marie-Brigitte Moyano<sup>3</sup>, Franck Golliot<sup>1</sup>

1/ Cellule interrégionale d'épidémiologie Languedoc-Roussillon, Institut de veille sanitaire, Montpellier, France

2/ Programme de formation à l'épidémiologie de terrain – Profet

3/ Agence régionale de santé (ARS) du Languedoc-Roussillon, Délégation territoriale de l'Hérault, Montpellier, France

## Résumé / Abstract

**Objectifs** – Le samedi 20 février 2010, les pompiers de l'Hérault signalaient à la Délégation territoriale de l'Hérault de l'Agence régionale de santé (DT34-ARS) une quinzaine de personnes présentant douleurs abdominales, nausées et vomissements parmi les participants au cocktail servi lors d'un match de rugby au stade Yves du Manoir à Montpellier.

**Méthodes** – L'investigation de ce signalement a été réalisée conjointement par les équipes de veille sanitaire de l'ARS et de la Cellule interrégionale d'épidémiologie Languedoc-Roussillon (Cire LR) afin de confirmer l'épisode, d'identifier l'origine de la contamination et d'orienter les mesures de gestion.

Une enquête de type cas-témoins a été menée à l'aide d'un questionnaire standardisé. Parallèlement, des analyses biologiques et une enquête vétérinaire ont été réalisées avec prélèvements de plats-témoins et inspection des locaux du traiteur et du stade.

**Résultats** – Au total, 94 cas et 110 témoins ont été identifiés parmi les participants au cocktail. L'enquête épidémiologique a mis en évidence deux vagues épidémiques, l'une précoce et l'autre plus tardive, avec des symptomatologies distinctes et des durées médianes d'incubation respectivement de 3h30 et 30h.

Les résultats des investigations épidémiologiques, biologiques et vétérinaires étaient en faveur d'une intoxication des cas précoces par ingestion de minijambonneau contaminé par *Staphylococcus aureus* (OR : 3,75 ; IC95% [1,91-7,35]  $p=0,001$ ) et d'une intoxication des cas tardifs par consommation d'huîtres contaminées par norovirus (OR : 32,22 ; IC95% [7,09-146,34]  $p<0,001$ ).

**Conclusion** – Cette investigation a permis d'identifier les aliments et les agents pathogènes responsables de cette toxi-infection alimentaire collective. Cet épisode a été l'occasion de souligner l'importance du respect des pratiques d'hygiène en restauration collective et de la mise en place de mesures de contrôle précoces dès lors que les résultats des investigations épidémiologiques ou vétérinaires sont connus.

## Investigation of a collective polymicrobial foodborne outbreak, Yves du Manoir Stadium, Montpellier (France), February 2010

**Background** – On Saturday 20 February 2010, the local fire and rescue service from the Hérault district reported to the Regional Health Agency (DT34-ARS) about 15 cases presenting abdominal pain, nausea and vomiting among the participants at a cocktail served at a rugby match at the Yves du Manoir Stadium in Montpellier (France).

**Material and methods** – Investigations were conducted jointly by the teams of the Regional Health Agency and the Languedoc-Roussillon epidemiological unit (Cire LR) to confirm the episode, identify the origin of contamination, and guide control measures.

A case-control study was conducted using a standardized questionnaire. Meanwhile, laboratory tests and a veterinary investigation were performed with samples from control-dishes, and an inspection of both the local caterer and the stadium.

**Results** – Ninety-four cases and 110 controls were interviewed among the people taking part in the cocktail party. Two successive epidemic events were identified with different symptoms and incubation periods respectively equal to 3h30 and 30h.

The results of epidemiological, biological and veterinary investigations showed poisoning of the early cases due to the consumption of knuckle of ham pieces contaminated by *Staphylococcus aureus* (OR=3.75 ; CI=[1.91-7.35]  $p=0.001$ ) and poisoning of late cases due to consumption of oysters contaminated by norovirus (OR=32.22 ; CI=[7.09-146.34]  $p<0.001$ ).

**Conclusion** – In this investigation, food and pathogens at the origin of the contamination were identified. This outbreak stresses the importance of respecting the hygiene measures in collective catering and defining first management measures as soon as the results of the investigation are known.

## Mots clés / Key words

Toxi-infection alimentaire collective, restauration collective, enquête cas-témoins, norovirus, *Staphylococcus aureus* / Collective foodborne outbreak, collective catering, case-control study, norovirus, *Staphylococcus aureus*

## Introduction

Le 20 février 2010, l'astreinte de l'Agence régionale de santé du Languedoc-Roussillon<sup>1</sup> (ARS) a été contactée par les pompiers de l'Hérault, qui signalaient 18 personnes présentant douleurs abdominales, nausées et vomissements parmi les invités d'un match de rugby au stade Yves du Manoir à Montpellier. La situation a nécessité la mise en place, par le Service départemental d'incendie et de secours de l'Hérault et le Samu 34, d'un poste médical avancé dans le stade. En fin d'après-midi, on comptait une cinquantaine de personnes malades, dont 22 hospitalisées. Toutes avaient participé au buffet proposé pour le déjeuner à environ 1 500 personnes présentes dans les loges du stade.

Une investigation a été réalisée par la Cellule interrégionale d'épidémiologie Languedoc-Roussillon

(Cire LR) et la Délégation territoriale de l'Hérault de l'ARS (DT34-ARS) afin de confirmer la survenue d'une toxi-infection alimentaire collective (Tiac), d'identifier l'origine de la contamination et de proposer des mesures de gestion adaptées. Des investigations biologiques et vétérinaires ont été menées en parallèle par les services vétérinaires [1].

## Matériel et méthodes

### Investigation épidémiologique

La population d'étude comprenait l'ensemble des personnes (adultes ou enfants) ayant participé au buffet proposé pour le déjeuner du 20 février 2010

lors du match de rugby au stade Yves du Manoir. Devant l'impossibilité de mener une enquête de cohorte rétrospective auprès des 1 500 convives et compte tenu du nombre de cas signalés, il a été décidé de mettre en place une étude cas-témoins.

### Définition de cas

Un cas a été défini comme toute personne ayant assisté au buffet servi le 20 février 2010 pour le déjeuner au stade Yves du Manoir et ayant présenté au moins l'un des signes suivants : nausées, vomissements, diarrhées ou douleurs abdominales suite à la prise de ce repas.

L'observation de deux vagues épidémiques distinctes, identifiées au cours de l'interrogatoire alimentaire, a conduit à proposer rétrospectivement deux définitions de cas :

<sup>1</sup> L'ARS regroupe, depuis avril 2010, les anciennes Ddass (Direction départementale des affaires sanitaires et sociales) et Drass (Direction régionale des affaires sanitaires et sociales).

- **cas précoce** : cas dont au moins un de ces symptômes est survenu dans les 12 heures suivant le repas du 20 février 2010 ;
- **cas tardif** : cas dont au moins un de ces symptômes est survenu les 21 ou 22 février 2010, entre 12h et 60h après le repas.

Un témoin a été défini comme toute personne ayant assisté au buffet servi pour le déjeuner au stade Yves du Manoir le 20 février 2010 et n'ayant présenté aucun signe digestif dans les 2 jours qui ont suivi le repas.

Les membres abonnés disposant d'une table en loge ont reçu un courrier électronique du Montpellier Hérault Rugby Club (MHRC) les invitant à contacter la DT34-ARS pour participer à l'enquête épidémiologique. Lors des appels, une recherche active de personnes (cas et témoins) dans l'entourage et ayant participé au déjeuner du 20 février a été réalisée. Par ailleurs, la DT34-ARS a également contacté par téléphone les personnes admises aux urgences du CHRU de Montpellier.

Un questionnaire téléphonique standardisé a permis de recueillir auprès des convives les données démographiques (âge, sexe) et des informations sur les aliments et boissons consommés lors du cocktail. Pour les cas, la date et l'heure de début, le type et la durée des symptômes ainsi que les résultats d'analyses biologiques complétaient le questionnaire.

#### Méthodes statistiques

Le nombre de témoins à enquêter pour mettre en évidence un Odds ratio (OR) de 3 a été estimé à 100, avec un risque de première espèce de 5%, une puissance de 80% et une fréquence d'exposition de 50% chez les témoins [2].

Des analyses univariées ont été réalisées pour chaque aliment : la mesure d'association avec la maladie a été évaluée par le calcul d'un OR et de la valeur de p estimée par un test du chi2 (avec un seuil de signification fixé à 5%). En complément, une analyse multivariée par régression polytomique a été effectuée afin d'étudier les relations statistiques entre l'apparition des signes cliniques et la consommation de chaque aliment indépendamment

des autres. Cette méthode a permis d'intégrer dans un même modèle les trois modalités de la variable à expliquer : cas précoces, cas tardifs et témoins. Les expositions alimentaires conservées dans le modèle multivarié étaient celles pour lesquelles l'analyse univariée avait fourni une valeur de p inférieure à 10%.

#### Investigations microbiologiques cliniques

Une analyse bactériologique a été réalisée le 20 février pour 2 cas précoces, avec respectivement prélèvements de selles et de vomissements. Les recherches ont porté sur les pathogènes suivants : bactéries entérotoxiques, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas*.

La recherche de virus a été réalisée dans les selles de 6 cas tardifs prélevés les 27 et 28 février. Les pathogènes suivants ont été recherchés par le laboratoire du Centre national de référence des virus entériques : adénovirus, rotavirus A, astrovirus, sapovirus, norovirus, entérovirus, virus Aichi, virus de l'hépatite A.

#### Investigations vétérinaires et microbiologiques

Suite aux prélèvements des aliments chez le traiteur le 20 février, le laboratoire départemental vétérinaire de l'Hérault a réalisé le 22 février les analyses bactériologiques de plusieurs aliments prélevés : minijambonneau (plusieurs prélèvements le long de la chaîne de préparation), tortilla, sucette au poulet, gambas tempura, macaron au roquefort (recherche de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*) et huîtres (recherche d'*Escherichia coli*).

Une enquête de traçabilité a été menée par les services vétérinaires afin d'identifier le lieu de production des huîtres proposées au buffet. Les analyses virologiques ont été effectuées trois semaines après la survenue de la Tiac et sur des coquillages prélevés dans la même zone conchylicole et congelés par l'Ifremer le 1<sup>er</sup> mars. Les échantillons ont été adressés au Laboratoire national de référence Microbiologie des coquillages (Ifremer, Nantes) qui a recherché la présence de virus entériques par RT-PCR suivie de séquençages. Une

analyse bactériologique de l'eau du bassin de purification a également été réalisée.

Une inspection a été menée dans les locaux du traiteur et du stade.

## Résultats

### Investigation épidémiologique

La recherche active de cas a permis de recenser 94 cas et 110 témoins, ce qui a permis de répondre avec une puissance suffisante aux hypothèses de l'étude. Parmi les cas, 68 répondaient à la définition de cas précoce (72%) et 26 étaient des cas tardifs (28%).

Les âges médians étaient de 49 ans pour les cas précoces et 45 ans pour les cas tardifs. Les sex-ratios homme/femme des cas précoces et tardifs étaient respectivement de 2,2 et 1,6.

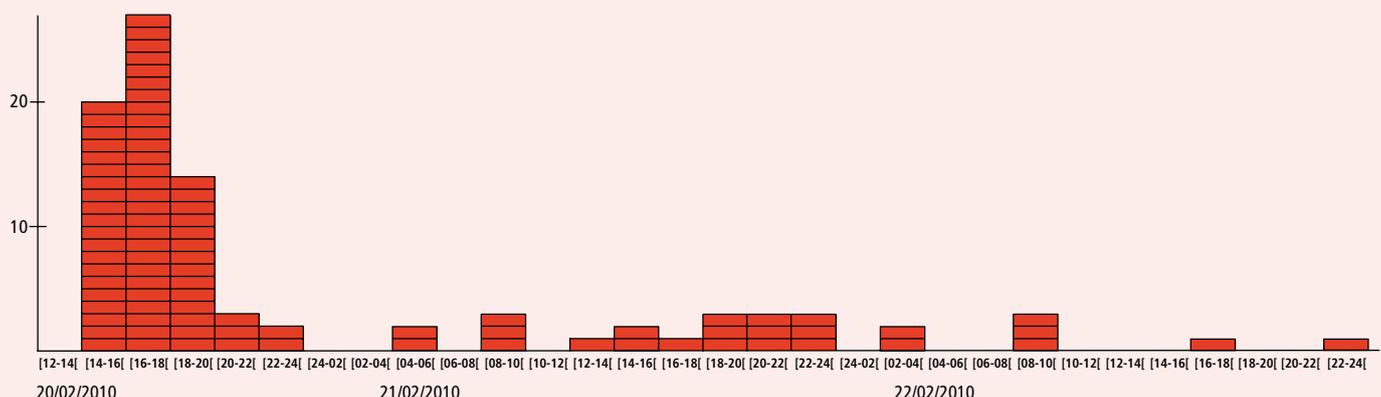
L'allure de la courbe épidémique a mis en évidence la présence de deux vagues épidémiques. La première vague correspondait à la survenue de cas précoces le 20 février, suivie d'une seconde vague plus étalée de cas tardifs du 21 février à 4h au 22 février en fin d'après-midi (figure).

Les durées médianes d'incubation étaient de 3h30 [min 1h-max 6h30] pour les cas précoces et de 30h [min 16h-max 56 h] pour les cas tardifs.

Pour les cas précoces, les principaux signes cliniques rapportés étaient les suivants : diarrhées (85%), vomissements (77%), nausées (68%) et douleurs abdominales (57%). Pour les cas tardifs, les signes cliniques étaient identiques à ceux des cas précoces mais la part des vomissements était nettement plus faible (38%). Au total, 22 cas précoces ont été admis aux urgences et sont rentrés à leur domicile soit dans la nuit du 20 au 21 février, soit le matin du 21 février. Aucun des cas tardifs recensés n'a été hospitalisé.

Pour les cas précoces, la durée d'incubation et la symptomatologie étaient en faveur d'une contamination par *Staphylococcus aureus* ou *Bacillus cereus*. Pour les cas tardifs, la durée d'incubation et les signes cliniques étaient plutôt en faveur d'une contamination par un agent de type viral.

**Figure** Toxi-infection alimentaire collective au stade Yves du Manoir, Montpellier (France), février 2010. Courbe épidémique avec un pas de temps de 2h (n=91 ; 3 cas pour lesquels l'heure d'apparition de signes n'est pas connue) / **Figure** Collective foodborne illness at the Yves du Manoir stadium in Montpellier (France), February 2010. Epidemic curve with a 2 hours time step (n=91; 3 cases with unknown time of symptoms onset)



## Analyse univariée

Pour les cas précoces, la survenue des signes cliniques était significativement associée à la consommation de plusieurs aliments (tableau 1). L'association était particulièrement significative pour le minijambonneau (OR=4,60 ; IC95% [2,29-9,32]) et les huîtres (OR=3,54 ; IC95% [1,77-7,05]).

Pour les cas tardifs, une association a également été mise en évidence entre la survenue des signes cliniques et différents aliments, association particulièrement significative pour les huîtres (OR=33,5, IC95% [7,36-301,61]) (tableau 2).

## Analyse multivariée

Après ajustement sur les autres aliments consommés, seules les consommations de minijambonneau et d'huîtres étaient associées à la survenue des cas (tableau 3) :

– les consommations de minijambonneau (OR=3,75 ; IC95% [1,91-7,35]) et d'huîtres (OR=2,68 ; IC95% [1,36-5,27]) étaient significativement associées à la survenue des signes cliniques chez les cas précoces, avec 62% des consommateurs de minijambonneau qui avaient également consommé des huîtres ;

– seule la consommation d'huîtres était significativement associée à la survenue des signes cliniques chez les cas tardifs (OR=32,22 ; IC95% [7,09-146,34]).

## Investigations microbiologiques cliniques

Des entérotoxines à *Staphylococcus aureus* ont été détectées dans les selles du cas précoce prélevé. Les selles prélevées auprès de 6 cas tardifs contenaient toutes du norovirus avec trois souches différentes. La présence de sapovirus, astrovirus, entérovirus et

**Tableau 1.** Toxi-infection alimentaire collective au stade Yves du Manoir, Montpellier (France), février 2010 : effectifs et pourcentages de consommation des aliments parmi les cas précoces (n=68) et les témoins (n=110) ; indicateurs d'association (Odds ratio : OR ; intervalle de confiance : IC et p-value : p<0,10). / **Table 1.** Collective foodborne outbreak, Yves du Manoir Stadium, Montpellier (France), February 2010: numbers and proportion of food intake among early cases (n=68) and controls (n=110) ; indicators (Odds ratio: OR; confidence interval: CI; p-value: p<0.10).

Aliment consommé	Cas précoces (68)		Témoins (110)		OR	[IC95%]	p
	n	%	n	%			
Minijambonneau	47	69	36	33	4,60	[2,29-9,32]	<0,001*
Huîtres	38	56	29	26	3,54	[1,77-7,05]	<0,001*
Verrine guacamole, tomate, crabe	47	69	54	50	2,24	[1,13-4,48]	0,013*
Tortilla oignons confits	32	47	32	29	2,17	[1,10-4,26]	0,015*
Soupe potimarron	16	26	14	14	2,16	[0,90-5,23]	0,056
Miniburger	49	72	62	56	2,00	[1,00-4,07]	0,036*
Financier à la framboise	41	60	48	44	1,93	[1,00-3,75]	0,035*
Sushi au surimi	39	57	46	42	1,84	[0,95-3,56]	0,050*
Minicaille au foie gras	42	62	54	49	1,68	[0,87-3,26]	0,099

\* Degré de signification p<0,05

**Tableau 2.** Toxi-infection alimentaire collective au stade Yves du Manoir, Montpellier (France), février 2010 : effectifs et pourcentages de consommation des aliments parmi les cas tardifs (n=26) et les témoins (n=110) ; indicateurs d'association (Odds ratio : OR ; intervalle de confiance : IC et p-value : p<0,10). / **Table 2.** Collective foodborne outbreak, Yves du Manoir Stadium, Montpellier (France), February 2010: numbers and proportion of food intake among late cases (n=26) and controls (n=110); indicators (Odds ratio: OR; confidence interval: CI; p-value: p<0.10).

Aliment consommé	Cas tardifs (26)		Témoins (110)		OR	[IC95%]	p
	n	%	n	%			
Huîtres	24	92	29	26	33,52	[7,36-301,61]	<0,001*
Brochette de Saint-Jacques au lard	25	96	86	78	6,98	[1,02-298,15]	0,033*
Minicaille au foie gras	21	81	54	49	4,36	[1,45-15,70]	0,004*
Soupe champignons	6	24	8	8	3,71	[0,93-13,7]	0,021*
Soupe potimarron	8	32	14	14	2,92	[0,91-8,86]	0,032*
Verrine guacamole, tomate, crabe	19	73	54	50	2,71	[0,98-8,23]	0,034*
Sushi au surimi	16	62	46	42	2,19	[0,84-5,90]	0,075
Minijambonneau	13	50	36	33	2,06	[0,78-5,34]	0,099

\* Degré de signification p<0,05

**Tableau 3.** Toxi-infection alimentaire collective au stade Yves du Manoir, Montpellier (France), février 2010 : indicateurs d'association - régression logistique polytomique (Odds ratio : OR ; intervalle de confiance : IC et p-value : p). / **Table 3.** Collective foodborne outbreak, Yves du Manoir Stadium, Montpellier (France), February 2010: indicators - polytomous logistic regression (Odds ratio: OR; confidence interval: CI; p-value: p).

		OR	[IC95%]	p
Cas précoces	Minijambonneau	3,75	[1,91-7,35]	0,001*
	Huîtres	2,68	[1,36-5,27]	0,004*
Cas tardifs	Huîtres	32,22	[7,09-146,3]	<0,001*
	Minijambonneau	1,23	[0,47-3,24]	0,670

\* Degré de signification p<0,05

du virus Aichi a également été mise en évidence pour respectivement 4 cas tardifs.

Aucune information concernant la réalisation des examens de selles des cuisiniers et des serveurs n'a pu être obtenue.

## Investigations vétérinaires et microbiologiques

Les analyses réalisées sur le minijambonneau consommé lors du buffet ont révélé la présence de *Staphylococcus aureus* ( $41 \times 10^6$  staphylocoques/g à 37°C, supérieur au seuil de diagnostic de  $10^5$ /g [3]. Ce pathogène a également été identifié dans d'autres aliments mais en quantités nettement moins importantes. L'enquête de traçabilité a montré que le lot avait été séparé en deux parties, dont l'une utilisée par le traiteur du stade de rugby. L'autre partie n'a fait l'objet d'aucun signalement de Tiac. Une augmentation de la teneur en toxines staphylococciques a été mise en évidence le long de la chaîne de préparation chez le traiteur, où le jambonneau avait été façonné à la main, conservé à température ambiante, puis découpé manuellement en minijambonneaux avant d'être replacé au frais. Les huîtres consommées ont été produites dans la lagune de Thau à Bouzigues. Dans la zone de production, une surveillance microbiologique de la qualité des coquillages (indicateur *E. coli*) est réalisée par l'Ifremer avec deux points Remi<sup>2</sup>. Depuis 2004, un classement sanitaire B a été attribué à la lagune de Thau, ce qui implique une concentration maximale dans les coquillages de 4 600 *E. coli*/100 g de CLI (chair et liquide intervalvaire) et l'utilisation de bassins de purification des coquillages avant commercialisation.

La présence d'*E. coli* n'a pas été détectée dans les huîtres du buffet. Les analyses réalisées sur des huîtres prélevées au niveau du site de production le 1<sup>er</sup> mars 2010 ont mis en évidence la présence de norovirus. Ces résultats ont été disponibles le 17 mars. La qualité de l'eau et des huîtres du bassin de purification dans lequel les huîtres avaient passé 24h était conforme aux normes microbiologiques en vigueur. Enfin, l'inspection des locaux du stade a mis en évidence des non-conformités aux normes sanitaires

<sup>2</sup> Remi : réseau de contrôle microbiologique des zones de production conchylicoles.

réglementaires, avec absence de lave-mains et nettoyage insuffisant des locaux.

## Discussion-conclusion

Ces investigations ont permis de documenter la survenue d'une toxi-infection alimentaire collective de grande ampleur et à germes multiples, ce type de toxi-infection étant peu décrit dans la littérature [4-6].

La courbe épidémique a mis en évidence deux pics suggérant deux événements distincts. La présence d'entérotoxines dans les selles d'un cas précoce, la présence de norovirus dans les selles des cas tardifs, les mesures d'association entre la maladie et les expositions alimentaires et les investigations vétérinaires permettent d'évoquer :

- d'une part, un syndrome digestif brutal dû à la contamination par du *Staphylococcus aureus* des minijambonneaux au moment de leur préparation chez le traiteur ;
- d'autre part, un syndrome digestif tardif dû à une contamination virale des huîtres (deuxième vague de cas plus étalée).

Malgré une recherche active parmi les invités au buffet, le recensement des cas n'a probablement pas été exhaustif, en particulier pour les cas tardifs. Le pathogène *Staphylococcus aureus* a conduit à la survenue d'une part importante des cas précoces. Il est tout à fait envisageable que des cas précoces aient été co-infectés ou infectés suite à la consommation des huîtres contaminées par des virus mais avec une incubation plus courte qu'habituellement, de l'ordre de 10h [7]. Ceci expliquerait l'association statistique significative également mise en évidence entre survenue des cas précoces et consommation d'huîtres infectées par norovirus.

Des analyses virales n'ont pas été réalisées directement sur les huîtres du buffet mais sur un lot de la même zone de production. Cependant, pour les cas tardifs, la diversité des souches virales isolées chez les cas est caractéristique d'épisodes épidémiques attribués à des consommation de coquillages contaminés [8].

En conclusion, cet épisode permet de rappeler l'importance du respect des mesures d'hygiène pour prévenir la survenue d'une toxi-infection alimentaire

majeure en collectivité, la manipulation des aliments étant la principale source de contamination par staphylocoques [3]. Par ailleurs, des recherches virologiques dans les coquillages devraient être réalisées sur des échantillons témoins dès lors que l'enquête épidémiologique oriente vers ce type de contamination afin de permettre, le cas échéant, un retrait de commercialisation rapide des lots contaminés. Cet épisode s'inscrit dans un contexte de nombreuses autres Tiac déclarées en France à la même période et impliquant des coquillages de cette zone de production.

## Remerciements

Les auteurs remercient la Direction départementale de la protection des populations de l'Hérault, le Laboratoire départemental vétérinaire de l'Hérault, les laboratoires d'analyses, le Laboratoire national de référence Microbiologie des coquillages de l'Ifremer, le Centre national de référence des virus entériques et le Montpellier Hérault Rugby Club (MHRC) pour leur collaboration dans cette investigation.

## Références

- [1] Viriot D, Watrin M, Cathala P, Moyano MB, Benoit P, Cochet A. Investigation d'une toxi-infection alimentaire collective multipathogène - Stade Yves du Manoir, Montpellier, février 2010. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire; 2010. 20 p. Disponible à : <http://www.invs.sante.fr>
- [2] Dabis F, Drücker J, Moren A. Épidémiologie d'intervention. Paris : Éditions Arnette. 1992. pp. 173-6.
- [3] Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments : *Staphylococcus aureus* et entérotoxines staphylococciques. Staphylocoque doré. Maisons-Alfort : Afssa; 2009. 4 p. Disponible à : <http://www.afssa.fr/Documents/MIC-Fi-StaAureus.pdf>
- [4] Rooney RM, Cramer EH, Mantha S, Nichols G, Bartram JK, Farber JM, et al. A review of outbreaks of foodborne disease associated with passenger ships: evidence of risk management. Public Health Rep. 2004;119(4):427-34.
- [5] Berkelman RL, Cohen ML, Yashuk J, Barrett T, Wells JG, Blake PA. Traveler's diarrhea at sea : two multi-pathogen outbreaks caused by food eaten on shore visits. Am J Public Health. 1983;73(7):770-2.
- [6] Guinard A, Pouey J, Schwoebel V. Investigation d'une toxi-infection alimentaire collective en milieu scolaire en Haute-Garonne et dans le Tarn. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire; 2009. 33 p. Disponible à : <http://www.invs.sante.fr>
- [7] Glass RI, Parashar UD, Estes MK. Norovirus gastroenteritis. Review. N Engl J Med. 2009;361(18):1776-85.
- [8] Westrell T, Dusch V, Ethelberg S, Harris J, Hjertqvist M, Jourdan Da Silva N, et al. Norovirus outbreaks linked to oyster consumption in the United Kingdom, Norway, France, Sweden and Denmark, 2010. Euro Surveill. 2010;15(12):pii=19524. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19524>