

**> Prévention des intoxications
par la bactérie pathogène : *Bacillus cereus***

**Meilleure connaissance de la bactérie
et amélioration des méthodes d'hygiène**

2021
Christophe Nguyen-thé
Marie Brossier
Hal-03245061

Etude réalisée pour le département Microbiologie et Chaîne Alimentaire (MICA) d'INRAE,
avec l'appui méthodologique de l'équipe ASIRPA

Résumé

Bacillus cereus est une bactérie responsable de toxi-infections d'origine alimentaire représentant depuis 2011 la deuxième cause de TIAC en France. Pourtant l'impact en santé publique de *B. cereus* était auparavant très largement sous-estimé. En outre, *B. cereus* étant une bactérie pathogène principalement transmise par les aliments, elle représente un enjeu important pour les filières agro-alimentaires. Dans les années 1990s, plusieurs laboratoires d'INRAE ont orienté leurs recherches sur *B. cereus*, constituant la base du réseau éponyme porté par le département Microbiologie et Chaîne Alimentaire. Afin de mieux répondre aux questions que posaient la bactérie pour l'hygiène, la sécurité des aliments, et la santé humaine, le réseau a été étendu en France à des chercheurs de l'Anses, de l'Institut Pasteur, et à des laboratoires européens. Des projets de recherche collaboratifs impliquant l'Anses, des industriels, des centres techniques, ainsi que des formations, la participation à l'élaboration de normes et d'avis d'autorités sanitaires, ont permis une circulation des connaissances entre tous les acteurs de la sécurité sanitaire des aliments.

Les recherches conduites par INRAE et ses partenaires ont eu un impact important sur la politique de santé publique, dans le cadre du suivi de la sécurité sanitaire des aliments. Il découle d'une prise de conscience par les acteurs du risque que représentait *B. cereus*, dans un contexte de sous déclaration de ce pathogène dans les années 1990s, le développement de méthodes de caractérisation de la bactérie reposant sur de nouvelles connaissances, et plus récemment de normes pour les appliquer. Un impact en santé publique a été obtenu par l'amélioration de l'hygiène dans les industries agro-alimentaires et la réduction des contaminations des aliments. Une nouvelle génération d'impacts se dessine, par la contribution d'INRAE et ses partenaires à une prise de conscience de risques sous-estimés que pose *B. cereus* à la santé publique.

Contexte

Bacillus cereus, *Bacillus thuringiensis*, des enjeux de santé publique

B. cereus est une bactérie responsable de toxi-infections d'origine alimentaire qui se traduisent par des vomissements, des nausées, des douleurs abdominales et des diarrhées. Les malades guérissent généralement spontanément mais des formes plus graves peuvent nécessiter une hospitalisation (4% des cas en 2018) et quelques décès ont été rapportés. *B. cereus* peut aussi causer d'autres types d'infections, notamment chez les nouveau-nés où il a été identifié comme cause de décès dans des maternités/ néo maternité. Dans les années 1990s en France, *B. cereus* était rarement déclarée comme cause de toxi-infection alimentaire collective (TIAC, définies comme l'apparition d'au moins deux cas similaires, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire). Pourtant, depuis 2011 il représente la deuxième cause de TIAC. *B. cereus* était donc une bactérie pathogène dont l'impact en santé publique était très largement sous-estimé.

Une espèce très proche de *B. cereus*, l'espèce *Bacillus thuringiensis*, dont certaines souches rendent de grands services en agriculture comme bio-insecticide (il s'agit du bio-insecticide le plus utilisé dans le monde), ne se distingue de *B. cereus* que par la capacité à produire des toxines létales pour certains insectes. Ces toxines étant codées par des gènes plasmidiques, les deux bactéries partagent une grande partie de leur fond génétique et la question se pose de savoir si elles ont les mêmes capacités à causer des maladies chez l'être humain. Autrement dit, une bactérie largement pulvérisée sur des cultures alimentaires est-elle aussi capable d'induire des toxi-infections alimentaires ? Ce paradoxe souligne le manque de connaissance sur le pouvoir pathogène de ces bactéries. Toutes les souches de *B. cereus* sont-elles pathogènes ? certaines souches de *B. thuringiensis* le sont-elles aussi ? Comment distinguer des *B. cereus* ou *B. thuringiensis* pathogènes de ceux qui ne le seraient pas ?

Des enjeux économiques

B. cereus est une bactérie pathogène et d'altération principalement transmise chez les humains par les aliments et représente un enjeu important pour les filières agro-alimentaires. Dans les années 1990s deux évolutions majeures vont créer des conditions favorables à la bactérie. D'une part le développement de produits alimentaires avec un traitement thermique minimal, préservant au mieux les qualités organoleptiques, mais insuffisant pour éliminer une bactérie produisant des formes de résistance (spores) comme *B. cereus*. D'autre part le développement du conditionnement aseptique ou « ultra-propre » nécessitant une hygiène parfaite des équipements, alors que *B. cereus* est particulièrement résistante aux procédés de nettoyage et désinfection.

En outre, les années 1990s correspondent à un changement profond dans la réglementation en hygiène des aliments, qui passe d'une obligation de moyens, fixés par la réglementation, à une obligation de résultats, les moyens pour les obtenir étant de la responsabilité des industriels. Cette nouvelle réglementation, associée à une importante innovation dans les aliments et les procédés, a incité les industriels à s'intéresser à l'écologie microbienne de leurs produits et aux pathogènes en menaçant la sécurité comme *B. cereus*.

Inputs et situation productive

Dans les années 1990s, plusieurs laboratoires de l'INRA¹ ont orienté leurs recherches sur *B. cereus*, afin de répondre aux questions que posaient la bactérie pour l'hygiène, la sécurité des aliments, et la santé humaine.

Bacillus cereus et sécurité sanitaire de nouveaux produits alimentaires

A la fin des années 1990, à l'issue de leurs premières études sur la microbiologie des produits de 5^{ème} gamme (aliments pasteurisés dans leur emballage final, nécessitant une conservation sous chaîne du froid), mettant en évidence l'importance de *B. cereus*, les microbiologistes de l'Unité INRA de Technologie des Produits Végétaux² et les industriels pionniers dans le domaine, se posaient la question du risque que cela représentait et des moyens de le maîtriser. Les chercheurs ont monté un projet européen afin de réunir un réseau de laboratoire et d'industriels à même de répondre efficacement aux questions posées (2001-2004). Ils ont ainsi constitué une large collection de souches de *B. cereus* d'origines diverses, aliments, environnement, toxi-infections alimentaires et mobilisé les compétences pour la caractériser d'un point de vue génétique, phylogénique, virulence et capacité d'adaptation.

Bacillus cereus, un outil pour la conception hygiénique des équipements

Dans la même période, les scientifiques du Laboratoire INRA Génie des Procédés et Technologies Alimentaires³ de Villeneuve d'Ascq s'orientaient vers l'étude des surfaces des équipements et aux interfaces équipements-aliments. Dans le cadre d'un projet européen, ils cherchaient à caractériser l'efficacité de pratiques de nettoyage-désinfection ou la conception hygiénique des équipements et ont mis au point une méthode utilisant *B. cereus*/*B. thuringiensis*. Dans le cadre d'un projet UNIR, projet national réunissant plusieurs industriels du secteur laitier, ils ont appliqué leurs compétences sur l'hygiène des équipements pour caractériser plusieurs souches de *B. cereus* isolées d'usines de transformation, dont certaines particulièrement persistantes et difficiles à éliminer.

¹ INRAE depuis janvier 2020

² Désormais UMR Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale

³ Désormais équipe PIHM de l'UMR UMET.

Bacillus cereus, cause d'altération des ovoproduits

En 2003 Les microbiologistes de l'UMR INRA-Agrocampus Ouest STLO travaillaient avec une association d'industriels des ovoproduits et ont identifié une bactérie du groupe *B. cereus* dans un bidon d'ovoproduits altérés. Les ovoproduits subissaient une pasteurisation permettant d'éliminer des bactéries pathogènes comme *Salmonella*, mais qui n'avait aucun effet sur les spores de bactéries comme *B. cereus*. Très peu de données scientifiques existaient à cette époque sur *B. cereus* dans les ovoproduits. L'UMR STLO a alors monté avec la profession, le centre technique concerné (ITAVI), l'ADRIA et des partenaires académiques plusieurs projets de recherche pour identifier les sources de contamination et comprendre les mécanismes de persistance de *B. cereus* dans la filière des ovoproduits.

Génétique et virulence de *Bacillus cereus* / *Bacillus thuringiensis*

L'unité INRA⁴ Génétique Microbienne et Environnement était historiquement pionnière dans la génomique et la génétique du groupe *B. cereus* / *B. thuringiensis*. Dès la fin des années 1980, elle était à l'origine de plusieurs outils génétiques qui ont été ensuite indispensables aux recherches menées par la communauté scientifique sur *B. cereus*. A partir de la fin des années 1990 l'unité s'est intéressée à la virulence de *B. cereus*/*B. thuringiensis* pour l'homme, et a découvert le rôle d'un régulateur clé de la virulence, qui a fourni une toile de fond aux recherches qui ont suivi sur le pouvoir pathogène de la bactérie. Elle a ensuite mis au point une méthode de mesure de la virulence par voie orale chez l'insecte, à ce jour l'unique méthode reproduisant l'infection du tube digestif humain dans un modèle animal pour *B. cereus*/*B. thuringiensis*. L'unité Génétique Microbienne de l'INRA⁵ a participé et initié les premiers séquençages complets des génomes de souches de *B. cereus* représentatives de sa diversité, référence pour les études ultérieures.

Une recherche collaborative fédérée par le département Microbiologie et Chaîne Alimentaire de l'INRA

A sa création en 2004, le département Microbiologie et Chaîne Alimentaire de l'INRA fédère les recherches sur *B. cereus* par la mise en place d'un réseau regroupant les laboratoires concernés. Le réseau est étendu en France à des chercheurs de l'AFSSA⁶ et de l'Institut Pasteur, et en Europe à l'Université de Louvain La Neuve en Belgique et l'Université d'Oslo en Norvège.

L'INRA avait alors acquis de ses premiers travaux sur *B. cereus* un ensemble de compétences reconnues sur la diversité, les capacités d'adaptation, d'adhésion aux surfaces, la virulence, la génétique de *B. cereus*. Le réseau a permis de renforcer les liens entre l'INRA et l'AFSSA pour l'étude de *B. cereus* et de monter des projets collaboratifs avec l'AFSSA, des industriels, des centres techniques en agroalimentaire (ADRIA Normandie⁷, ADRIA développement) en élevage (ITAVI) et équipements (CETIM), valorisant ce large panel de compétences.

Pour les industriels, les collaborations avec l'INRA leur permettaient de prendre connaissance d'une bactérie pathogène et/ou d'altération, à laquelle ils ne s'étaient pas encore intéressés et d'aborder son écologie dans leurs produits (prévalence, sources de contamination, pistes de voies de maîtrise). Des chercheurs de L'AFSSA s'intéressaient depuis plusieurs années à *B. cereus*. L'AFSSA avait notamment enquêté en 1998 sur une TIAC à *B. cereus* ayant causé plusieurs décès, et en avait identifié (en collaboration avec un chercheur Norvégien) une nouvelle toxine. Leur question était de mieux connaître la prévalence des TIACs à *B. cereus* en France et de disposer d'outils pour mieux les caractériser. Une question commune aux industriels et à l'AFSSA provenait de la diversité des souches de *B. cereus* isolées

⁴ Désormais équipe GME de l'UMR Micalis. Les chercheurs concernés sont rattachés au département MICA.

⁵ Les chercheurs sont maintenant dans l'UMR Micalis, et rattachés au département MICA.

⁶ Anses « Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail » depuis 2010.

⁷ Désormais ACTALIA

des aliments, de la chaîne de production, lors des investigations de TIACs, et de savoir quelles étaient celles représentant un risque pour le produit ou quelles étaient celles ayant causé la TIAC.

Bacillus cereus cause d'infections nosocomiales

Plus récemment, à partir de 2013, des chercheurs de l'INRA (UMR Micalis) se sont intéressés, avec des médecins hospitaliers, aux infections nosocomiales à *B. cereus*.

Outputs des recherches

Bacillus cereus et aliments

L'INRA et ses partenaires ont apporté une connaissance sur la prévalence, les voies de contamination, les mécanismes de persistances de *B. cereus* dans les filières alimentaires, ses conséquences pour les risques sanitaires et d'altération des produits, dans les projets collaboratifs impliquant des industriels et des centres techniques (Choma et al. 2000, Baron et al. 2007). Par exemple, ils ont montré le rôle de certains ingrédients participants à la formulation d'aliments comme source de contamination et le rôle des biofilms dans certaines parties des équipements de transformation pour la persistance de la bactérie. La présence de *B. cereus* dans les aliments ou la chaîne de production était difficile à interpréter pour les industriels compte tenu de sa très large diversité de virulence et capacités d'adaptation. L'INRA a par exemple montré que les souches de *B. cereus* possédaient des caractéristiques différentes suivant leurs origines. Les scientifiques de l'institut ont développé des connaissances (Guinebretière et al. 2008) permettant d'attribuer à toute souche de *B. cereus* un potentiel de virulence et de déterminer sa capacité de croissance au froid, deux facteurs déterminants pour le risque dans des produits réfrigérés. Une base de donnée, accessible gratuitement sur le site vitrine de Sym'Previus⁸, a été développée à partir de ces connaissances par ADRIA développement et l'INRA (Guinebretière et al. 2010).

Bacillus cereus et hygiène des équipements en agro-alimentaires

L'INRA a mis au point à partir de spores de *B. cereus/B.thuringiensis*, une méthode pour caractériser la conception hygiénique et la nettoyabilité d'équipements en agro-alimentaires (Faille et al. 2000). Elle permet de quantifier très précisément le risque de dépôt de spores bactériennes dans les différentes parties des équipements testés. Inversement elle permet aussi de quantifier l'efficacité d'un nettoyage/désinfection sur toutes les zones d'un équipement. Des applications peuvent être de repérer des défauts de conception créant des zones facilement encrassables et/ou difficiles à nettoyer, ou de tester de nouveaux produits de nettoyage et de désinfection. Les chercheurs ont aussi utilisé les exceptionnelles propriétés d'adhésion des spores de *B. cereus/B. thuringiensis* pour déterminer les paramètres pertinents permettant de caractériser la nettoyabilité d'un acier inoxydable. (Faille et al. 1999).

Bacillus cereus et toxi-infections alimentaires collectives

L'INRA et l'AFSSA ont mis au point une grille pour caractériser les souches de *B. cereus* isolées lors des investigations de TIACs (De Buyser et al. 2008). Cette grille utilisait des méthodes développées par l'INRA pour repérer les souches génétiquement identiques, assigner les souches à des groupes phylogénétiques, caractériser leur potentiel de virulence et leur aptitude à se développer au froid. L'INRA et l'AFSSA (puis l'Anses) ont ensuite affiné la caractérisation de *B. cereus* en y ajoutant de nouveaux facteurs de virulence (Cadot et al. 2010).

⁸ <https://www.tools.symprevius.org/Bcereus/english.php>

Bacillus cereus et environnement hospitalier

Plus récemment l'INRA, avec des médecins hospitaliers et des chercheurs de l'Anses, a appliqué ses connaissances à l'étude d'infections nosocomiales à *B. cereus* en hôpital, notamment en néonatalogie. *B. cereus* était une bactérie peu connue et peu prise en considération dans les hôpitaux français. Si l'origine des infections n'a pu être identifiée, les études ont mis en évidence des pratiques à risques potentiels et des contaminations croisées intra et inter hôpitaux (Glasset et al. 2018).

Circulation des connaissances et intermédiaires

La circulation des connaissances a été facilitée par des projets de recherche collaboratifs impliquant les acteurs de la sécurité sanitaire des aliments, des formations à l'attention des industriels et la participation de chercheurs à l'élaboration de normes et d'avis d'autorités et agences sanitaires.

Industriels

Dès les années 1990, les industriels ont montré leur intérêt pour participer à des projets collaboratifs, dont plusieurs montés à l'initiative de l'INRA, sur *B. cereus* pour affiner leurs connaissances. L'INRA en a retiré une connaissance fine des questions que posaient *B. cereus* pour la sécurité sanitaire des aliments et des ateliers de transformation, et a constitué des collections de souches possédant des propriétés particulièrement intéressantes. Pour les industriels, ces projets ont été l'occasion de mieux connaître le risque que représentait la bactérie pour leurs produits et de comprendre l'origine des contaminations. La participation de scientifiques INRA à des formations dédiées aux industriels a permis une large diffusion des connaissances acquises sur *B. cereus*.

Instituts techniques

Des Instituts techniques tels que l'ADRIA, ACTALIA, L'ITAVI et le CETIM ont régulièrement participé aux projets collaboratifs sur *B. cereus* avec l'INRA, permettant ainsi une plus large diffusion des connaissances à la profession, et la mise en place d'outils et de services aux industriels à partir de résultats de projets de recherche. Les instituts techniques y ont gagné de nouvelles compétences et prestations, tandis que l'INRA a bénéficié d'une meilleure valorisation de ses résultats. Par exemple, l'ADRIA a développé avec l'INRA en 2010 une base de données et un outil en ligne permettant d'assigner des souches de *B. cereus* aux groupes phylogénétiques découverts par l'INRA. Elle utilise cet outil, en association à d'autres connaissances issues de l'INRA, pour développer des services aux industriels afin de caractériser le risque que représentent les souches de *B. cereus* isolées de leurs produits.

Agences et autorités sanitaires

A la fin des années 1990s, les relations entre l'AFSSA et l'INRA étaient informelles, basées sur des échanges de souches isolées de TIACs, de connaissances, de conseils pour connaître la proximité génétique des bactéries isolées (déterminer si une seule ou plusieurs souches étaient impliquées dans la TIAC), et leur potentiel de virulence (les souches isolées sont-elles bien la cause des symptômes ?). En 2005, un projet collaboratif coordonné par l'INRA ayant pour objectif d'étudier l'émergence de *B. cereus* comme agent de TIACs en France, a permis la collecte des souches issues de TIAC en France. Ce projet formalisait la première collaboration, suivi par de multiples autres, INRA-AFFSA pour développer des outils de caractérisation des souches impliquées dans des TIACs. L'AFSSA puis l'Anses en a retiré une meilleure identification des agents responsables des TIACs dans lesquels *B. cereus* était suspecté, et l'INRA une valorisation en santé publique de ses connaissances et de ses méthodes sur la bactérie. Dans le cadre de ce même projet, l'AFSSA, via la Direction Générale de l'Alimentation, a transmis une demande officielle accompagnée d'instructions, aux Directions Départementales des Services

Vétérinaires (DDSV⁹) pour la transmission des souches de *B. cereus* issues de TIAC. La connaissance sur *B. cereus* a ainsi circulée du ministère jusqu'aux acteurs de terrain en charge de l'investigation des TIACs.

Les agences et autorités sanitaires ont un rôle majeur d'expertise en appui aux politiques publiques. L'Anses pour la France et l'EFSA pour l'Union Européenne ont été saisies à plusieurs reprises sur les risques que posent *B. cereus* et *B. thuringiensis* dans les aliments. Des chercheurs INRA ont en particulier participé à l'élaboration des deux avis scientifiques de l'EFSA sur *B. cereus* et *B. thuringiensis* en 2005 et 2016, contribuant à une circulation des connaissances acquises sur ces bactéries vers les services compétents de la Commission Européenne.

Normalisation

Les connaissances produites par l'INRA et l'expertise de ses scientifiques ont été valorisées dans l'élaboration de normes, par leur participation à la mise à jour d'avril 2020 de la norme NF EN ISO 7932 sur le dénombrement de *B. cereus* dans les aliments, assurant ainsi une diffusion et une valorisation des connaissances au niveau des laboratoires réalisant les contrôles, autocontrôles des aliments, et les enquêtes en cas de TIACs. De façon plus indirecte, des connaissances acquises par l'INRA sur l'hygiène des équipements (Faille *et al.* 1999), ont été reprises par des organismes professionnels et intégrées à la Norme NF EN 13951 de 2003 sur la conception hygiénique des pompes à liquide en agro-alimentaires, ce qui a permis la diffusion de ces connaissances vers les fabricants d'équipements pour les industries alimentaires.

La formation ciblée vers les entreprises

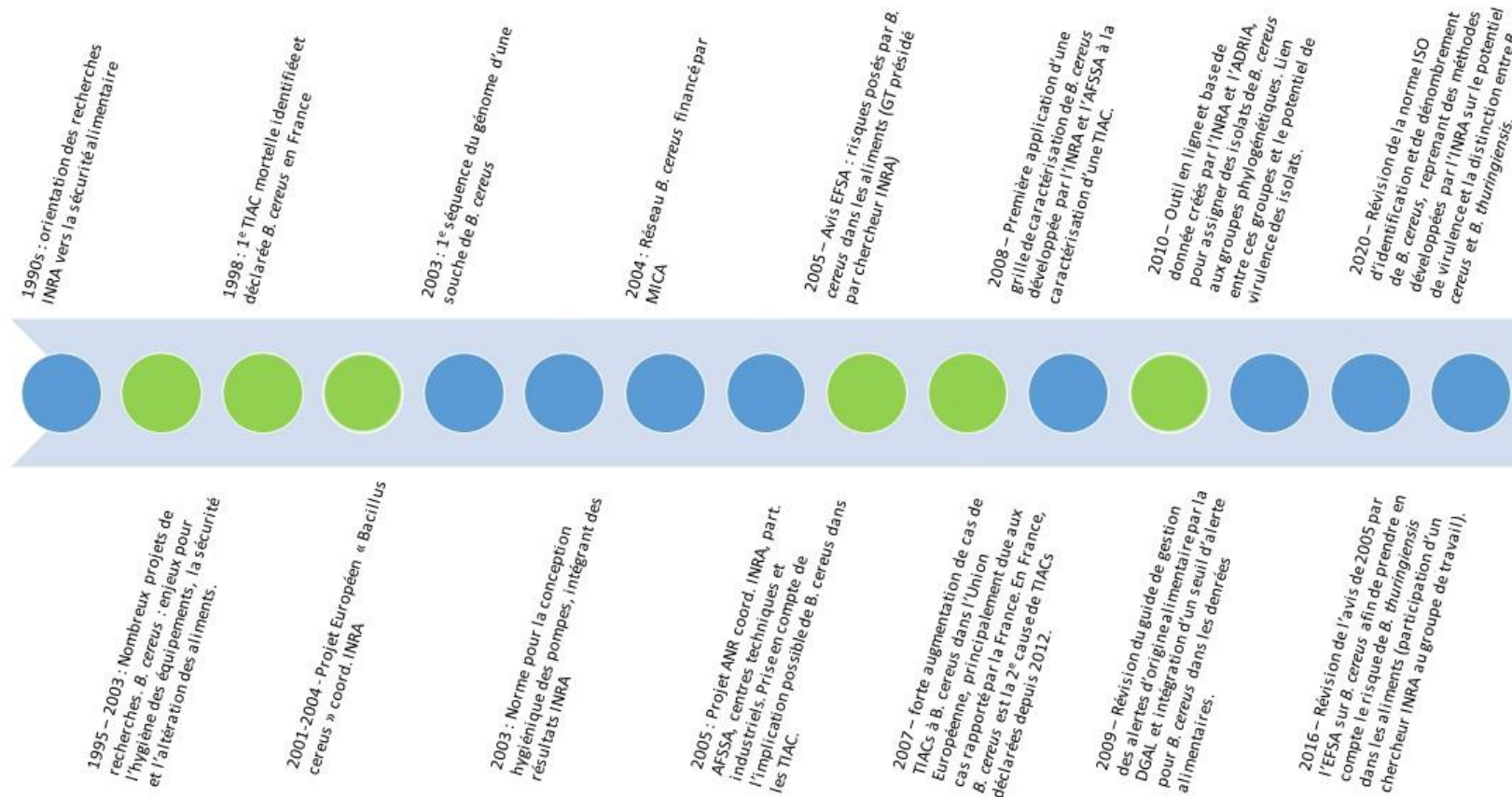
En France, dans le cadre spécifique de l'accompagnement des industriels, l'INRA a participé à la création de formations intra ou interentreprises à la demande et en lien avec des organismes de formation en hygiène dans les IAA, ou avec le CETIM (centre des industries mécaniques), principalement sur la conception hygiénique des équipements.

Diffusion de la connaissance auprès du corps médical

Récemment, du fait de son expertise sur le sujet, l'INRA est intervenu pour des problèmes liés à *B. cereus* en milieu hospitalier, pour élucider la cause d'une contamination de solution anesthésiante injectable. L'INRA et l'Anses sont intervenus pour l'investigation d'infections nosocomiales en néonatalogie. Sur ce dernier point, un communiqué de presse de l'INRA sur une publication relatant l'étude d'infections nosocomiales a été repris par la presse médicale. Les chercheurs INRA concernés sont depuis régulièrement sollicités par le milieu médical.

⁹ Les DDSV ont été intégrées en 2010 aux Directions Départementales de la Cohésions Sociales et de la Protection des Populations (DDCSPP)

Chronologie



En bleu : évènement impliquant l'inra
 En vert : contexte

Impacts 1 :

Impact politique de santé publique : suivi de la sécurité sanitaire des aliments

Les principaux impacts des recherches conduites par l'INRA et ses partenaires concernent la santé publique, sur son aspect sécurité sanitaire des aliments. Il découle d'une prise de conscience des acteurs du risque que représentait *B. cereus*, dans un contexte de sous déclaration de ce pathogène dans les années 1990s, du développement de méthodes de caractérisation de la bactérie reposant sur de nouvelles connaissances, et de normes pour les appliquer.

Meilleure capacité d'investigation des TIACs lors d'une suspicion à *B. cereus*.

Grâce à l'utilisation par l'AFSSA puis l'Anses de méthodes développées avec l'INRA, permettant de classer les souches selon un référentiel phylogénétique robuste, d'apprécier leurs aptitudes écologiques et leur potentiel de virulence, l'AFSSA puis l'Anses a pu améliorer ses méthodes d'investigation des TIACs à *B. cereus*. La grille de caractérisation des souches de *B. cereus* mise au point par l'AFSSA et l'INRA en 2008, basée sur des connaissances développées par l'INRA, a ensuite été utilisée par l'AFSSA puis l'Anses lors de l'investigation de TIACs à *B. cereus*. La France dispose ainsi d'une connaissance s'appuyant sur une collection unique de souches de *B. cereus* associées à des TIACs (Glasset et al. 2016).

Meilleur suivi des TIACs à *B. cereus*.

Le courrier adressé par l'AFSSA, dans le cadre d'un projet coordonné par l'INRA entre 2005 et 2008, aux DDSV demandant la transmission des souches issues de TIAC s'est traduit par une augmentation des TIAC à *B. cereus* signalées à l'AFSSA et a initié une meilleure déclaration des TIACs en France, révélant une forte augmentation en quelques années. Dès 2007 l'augmentation des TIACs à *B. cereus* déclarés par la France se fait sentir au niveau des statistiques Européennes et confère une meilleure visibilité à ce pathogène dans les rapports épidémiologiques européens. D'une simple mention dans une rubrique « autres agents bactériens » il fait depuis l'objet d'une rubrique à part entière avec les autres agents de TIACs producteurs de toxines. En France, à partir de 2011 *B. cereus* devient la 2^{ème} cause de TIAC déclarées. De 2006 à 2011 les TIACs déclarées à *B. cereus* ont augmenté de 50 à environ 250 TIACs par an, pour atteindre 339 TIACs notifiées en 2018.

Cette augmentation des TIACs à *B. cereus* est certainement en partie due au rattrapage de la sous déclaration passée. Ce meilleur suivi des TIACs traduit avant tout une plus grande vigilance vis-à-vis du pathogène et entraîne une meilleure application des mesures de maîtrise.

Intégration de *B. cereus* au guide des alertes

La meilleure visibilité de *B. cereus* comme cause de TIACs, sa prise en compte par plusieurs industriels dans leurs autocontrôles ont abouti à son inclusion dans le guide des alertes lors d'une révision opérée par la DGAL en 2009 (note de service du 7 juillet 2009). L'ajout de *B. cereus* dans les alertes (2009) crée une obligation de prendre en compte *B. cereus* par les fabricants d'aliments concernés puisque le dépassement de la valeur seuil entraîne un rappel des produits. Elle permet aussi une meilleure connaissance du risque *B. cereus* par les autorités en mettant en lumière des cas de contamination importante. Par exemple, un lot de persil dépassant le seuil d'alerte s'est révélé être contaminé par *B. thuringiensis*, alertant les autorités compétentes sur la question de la proximité *B. cereus/B. thuringiensis*, motivant une saisine de l'Anses en 2011 et la constitution d'un groupe de travail AFNOR (Impact 2).

Impacts de santé publique et économique : amélioration de l'hygiène et réduction des contaminations

Amélioration de la conception hygiénique des équipements en agro-alimentaire.

Les résultats INRA définissant les paramètres à retenir pour définir le caractère hygiénique des matériaux ont été utilisés dans la norme AFNOR NF EN 13951 de mai 2003 « Pompes pour liquides - prescriptions de sécurité - Matériel agroalimentaire — Règles de conception pour assurer l'hygiène à l'utilisation », ainsi que dans sa dernière version (AFNOR NF EN 13951 2012). L'INRA a ainsi contribué à améliorer la conception hygiénique des pompes utilisées en agro-alimentaire. Hors normalisation, plusieurs fabricants ont mis sur le marché des équipements modifiés pour améliorer leur nettoyabilité ou leur étanchéité suite aux études réalisées par l'INRA utilisant la méthode développée avec les spores de *B. cereus/B. thuringiensis*.

Normes pour la caractérisation de *B. cereus/B. thuringiensis* isolés d'aliments.

Deux scientifiques INRA spécialistes de *B. cereus* et *B. thuringiensis* ont participé à la révision de la norme ISO de dénombrement de *B. cereus* dans les aliments (NF EN ISO 7932, révision d'avril 2020) qui intègre des méthodes de caractérisation de la virulence de *B. cereus* et de distinctions *B. cereus / B. thuringiensis* développées par ou avec l'INRA. Cette norme révisée permettra une meilleure prise en compte de la virulence des souches de *B. cereus* et de mieux connaître le rôle de *B. thuringiensis* dans la contamination des aliments et les TIACs.

Maîtrise de la contamination de produits alimentaires (impact sanitaire et économique)

La meilleure maîtrise de la contamination de produits alimentaires par *B. cereus* chez les industriels a un double impact, en réduisant le risque économique pour les industriels (rappel de produits défectueux) d'une part, et en réduisant le risque sanitaire pour les consommateurs d'autre part. Les produits alimentaires concernés sont principalement les produits transformés de la gamme des « plats traiteurs frais », représentant une production en 2020 d'environ 1 million de tonnes (Adepale) et leurs ingrédients comme par exemple les ovoproduits qui représentent 39% des œufs consommés en France (CNPO). La restauration collective, qui sert en moyenne 7,3 milliards de repas par an en France (Ministère de l'agriculture) est aussi concernée par *B. cereus*.

Les industriels ayant collaboré avec l'INRA ont pu modifier leurs procédés pour éliminer *B. cereus* des produits étudiés et plus généralement intégrer *B. cereus* dans leur plan d'assurance qualité. Par exemple, le laboratoire qualité de l'un des acteurs majeurs des plats cuisinés et produits traiteurs réfrigérés en France réalise actuellement 13000 analyses/an de *B. cereus* en autocontrôle à toutes les étapes de la chaîne de fabrication, ce qui en fait l'une de ses principales cibles microbiologiques. Autre exemple, l'un des principaux acteurs des ovoproduits a développé à partir des recherches conduites avec des enseignants chercheurs d'une UMR INRA-Agrocampus Ouest un savoir-faire unique lui permettant de maîtriser la contamination en *B. cereus*, de répondre au cahier des charges pour des clients fabriquant des produits particulièrement sensibles à l'altération par *B. cereus*, et d'acquérir ainsi un avantage concurrentiel.

Autres impacts 1 et impact 2

Impact politique européenne de sécurité sanitaire des aliments

De par sa compétence sur *B. cereus*, un chercheur INRA a présidé le groupe de travail ayant rédigé l'avis d'experts de l'EFSA sur les *Bacillus* spp, avis ayant servi de base scientifique à la rédaction du règlement européen 2073/2005 sur les critères microbiologiques et sa modification 1441/2007. L'avis de l'EFSA reprenait largement les recherches menées à l'époque par l'INRA et ses partenaires, mentionnait l'importance du risque que représente *B. cereus* pour toute une catégorie de produits, en insistant sur ceux destinés à des populations sensibles comme les formules infantiles, mais ne recommandait pas la définition de critères généraux pour *B. cereus* car d'une part seuls certains aliments, selon leur procédé de fabrication et de conservation était concernés, et d'autre part il subsistait trop d'incertitude sur la relation dose ingérée/risque et sa diversité au sein de l'espèce *B. cereus*. Conformément à l'avis, le règlement de 2005 n'a pas défini de critères généraux pour *B. cereus* à l'exception des formules infantiles à risques dans la modification de 2007.

Impacts en santé publique française dans le domaine hospitalier

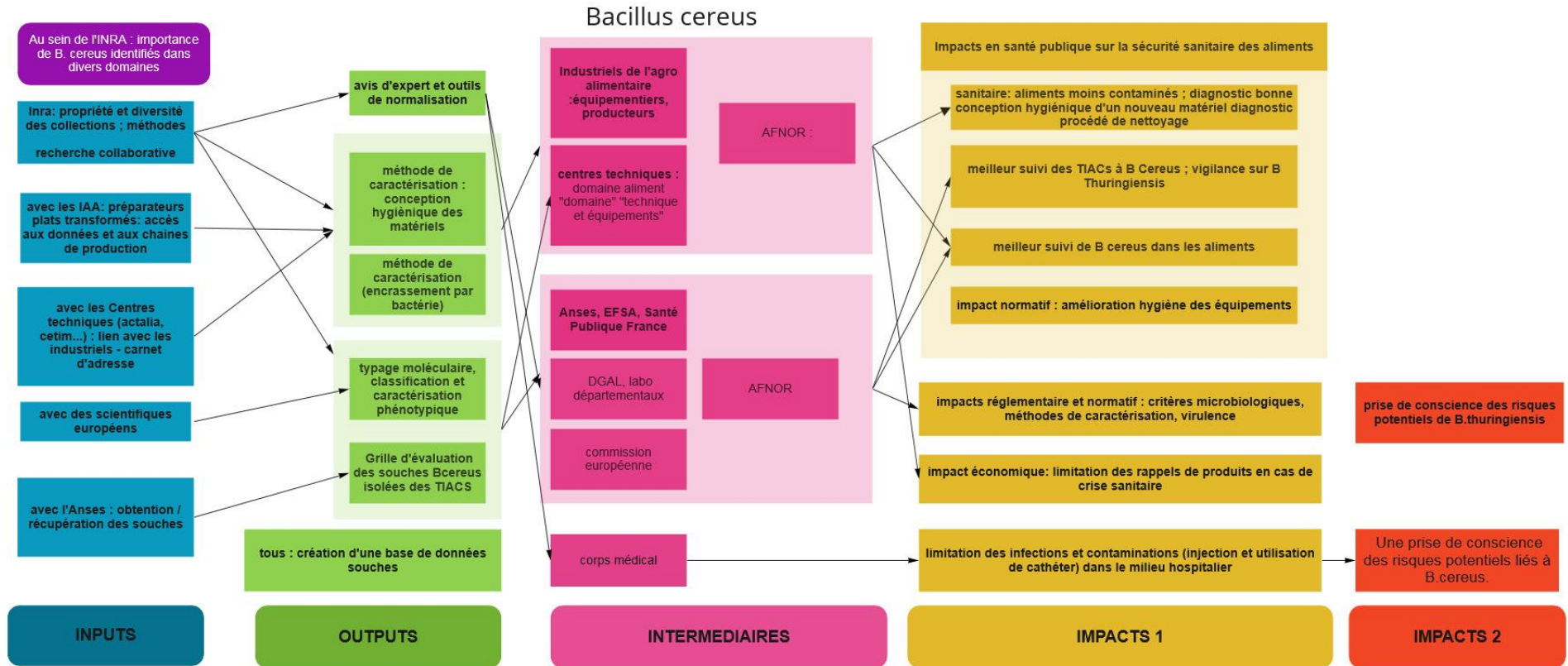
Les compétences et les recherches conduites par l'INRA ont contribué à résoudre des problèmes sanitaires posés par *B. cereus* à l'hôpital. Une enquête conduite par l'INRA avec les hospitaliers sur les cas d'infection de prématurés à *B. cereus* dans des services de néonatalogie a conduit à une amélioration des modalités d'administration du lait aux prématurés en hôpital. Dans un autre domaine, l'INRA a permis la résolution des problèmes de contamination par *B. cereus* d'équipements d'injection d'anesthésiants pour péridurale. Les chercheurs INRA ont aussi participé à la conception d'une mousse désinfectante à destination du milieu hospitalier à l'aide des méthodes qu'ils avaient développé avec *B. cereus/B. thuringiensis*.

Alerte sur des dangers sous-estimés dans la politique de santé publique (impacts 2)

Une prise de conscience de la présence en grand nombre de *B. thuringiensis* dans certains produits alimentaires, et la question du risque que cela pourrait représenter pour le consommateur du fait de sa très forte proximité avec *B. cereus*, résulte du meilleur suivi de *B. cereus* dans les aliments (Impact 1).

Dans le domaine hospitalier, les premières études conduites par l'INRA, l'Anses et leurs partenaires dans le domaine médical, ont conduit à une prise de conscience du rôle de *B. cereus* comme cause d'infections nosocomiales, comme l'illustre par exemple le communiqué de presse sur le sujet, commun à l'INRA, l'Anses, l'Inserm et l'APHP.

Chemin d'impact



Vecteur d'impacts

Résumé des impacts par dimension

Dimension d'impact	Importance (notation à consolider)	
Impact politique	4/5	<p>Politique de santé publique française sur la sécurité sanitaire des aliments Meilleure capacité d'investigation des TIAC à <i>B. cereus</i>. Meilleure déclaration des TIACs à <i>B. cereus</i> Plus grande vigilance sur <i>B. cereus</i> dans les aliments (Intégration de <i>B. cereus</i> au guide des alertes).</p> <p>Alerte sur des dangers sous-estimés Prise de conscience sur la question de l'innocuité de <i>B. thuringiensis</i> dans les aliments. Prise de conscience sur les infections nosocomiales à <i>B. cereus</i></p> <p>Politique européenne dans le domaine alimentaire Contribution à l'avis de l'EFSA sur <i>B. cereus</i> et sa prise en compte dans le règlement européen sur les critères microbiologiques dans les aliments.</p>
Impacts sanitaires	4/5	<p>Amélioration de l'hygiène et réduction des contaminations dans le domaine alimentaire Amélioration de la conception hygiénique des équipements en agro-alimentaire Contribution à la mise à jours de la norme pour l'identification de <i>B. cereus</i> isolé des aliments Elimination/réduction de <i>B. cereus</i> dans les produits alimentaires par les industriels. Dans le domaine hospitalier Amélioration de la conception hygiénique de certains équipements en milieu hospitaliers.</p>
Impacts économiques	(majeur mais difficile à estimer)	<p>Pour les industriels Eviter les rappels de produits : gros impact économique Meilleure capacité des IAA à répondre aux spécifications de leurs clients sur <i>B. cereus</i>.</p>

Interviews (2019)

Qui	Date discussion
C Faille et T Benezech INRA – UMET (ex LGPTA)	13 juin
N RamaRao INRA - Micalis	20 juin
S Jan INRA – STLO	21 juin
D Lereclus et V Sanchis INRA- Micalis	26 juin
F Postellec ADRIA	8 octobre
J Puterflam Itavi	10 octobre
Responsable au sein d'un groupe agro-alimentaire	17 octobre
E Bille Lactarium Necker	22 octobre
V Rigourd AP-HP	12 novembre
A Brisabois Anses	29 novembre
D Cassin ADRO Ouest et groupe AVRIL	29 novembre

Références externes corroborant les impacts, les sources des données chiffrées (10 maximum), les lettres de soutien...

Intitulé	Auteurs	Date
Avis relatif aux risques en termes de sécurité sanitaire liés à l'utilisation de souches de <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt) en tant que substances actives dans des insecticides biologiques	Anses	Avis de l'Anses Saisine n° 2013-SA-0039
Risks for public health related to the presence of <i>Bacillus cereus</i> and other <i>Bacillus</i> spp. including <i>Bacillus thuringiensis</i> in foodstuffs.	EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ)	SCIENTIFIC OPINION ADOPTED: 9 June 2016 doi: 10.2903/j.efsa.2016.4524
Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on <i>Bacillus cereus</i> and other <i>Bacillus</i> spp in foodstuffs.	EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ)	(Question N° EFSA-Q-2004-010) Adopted on 26-27 January 2005
Brevet : Method of screening antibacterial compounds as inhibitor of Mfd		WO 2017/191184 A1
<i>Bacillus cereus</i> a jusqu'ici manqué de considération sur son rôle dans les infections nosocomiales	HOSPIMEDIA	Publié le 25/05/18 - 14h34
Infections nosocomiales : <i>Bacillus cereus</i> , une bactérie à surveiller de près, en particulier chez les prématurés	Charlène Catalifaud, Interview N RamaRao	Le Quotidien du médecin 25/05/2018
Bactériémies à <i>Bacillus cereus</i> en réanimation néonatale à l'AP-HP en 2016	Sandra Fournier, et al.	17 juillet 2018, BEH 25-26
Norme NF EN 13951 Mai 2003. Pompes pour liquides. Prescriptions de sécurité ; Matériel agroalimentaire — Règles de conception pour assurer l'hygiène à l'utilisation	AFNOR	Mai 2003

Références scientifiques citées

BARON, F., COCHET, M.-F., GROSSET, N., MADEC, M.-N., BRIANDET, R., DESSAIGNE, S., . . . JAN, S. (2007). Isolation and Characterization of a Psychrotolerant Toxin Producer, *Bacillus weihenstephanensis*, in Liquid Egg Products. *Journal of Food Protection*, 70(12), 2782-2791. doi: 10.4315/0362-028x-70.12.2782

Cadot, C., Tran, S. L., Vignaud, M. L., De Buyser, M. L., Kolsto, A. B., Brisabois, A., . . . Ramarao, N. (2010). InhA1, NprA, and HlyII as Candidates for Markers To Differentiate Pathogenic from Nonpathogenic *Bacillus cereus* Strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(4), 1358-1365. doi: 10.1128/jcm.02123-09

- Choma, C., Guinebretiere, M. H., Carlin, F., Schmitt, P., Velge, P., Granum, P. E., & Nguyen-The, C. (2000). Prevalence, characterization and growth of *Bacillus cereus* in commercial cooked chilled foods containing vegetables. *Journal of Applied Microbiology*, 88(4), 617-625. doi: 10.1046/j.1365-2672.2000.00998.x
- de Buyser, M. L., Guinebretiere, M. H., Aujames, M., Schiaulini, M. A., Théry-Chamard, B., Langlois, R., . . . Guignard, A. (2008). Investigation d'une TIAC en maison de retraite: un cocktail de *Bacillus cereus*. *Bulletin Epidémiologique*, 27-28/Mars-Juin 2008, 6-9.
- Faille, C., Dennin, L., Bellon-Fontaine, M. N., & Bénézech, T. (1999). Cleanability of stainless steel surfaces soiled by *Bacillus thuringiensis* spores under various flow conditions. *Biofouling*, 14(2), 143-151.
- Faille, C., Membré, J. M., J. M., Tissier, J. P., Bellon-Fontaine, M. N., Carpentier, B., Laroche, M. A., & Bénézech, T. (2000). Influence of physicochemical properties on the hygienic status of stainless steel with various finishes. *Biofouling*, 15(4), 261-274.
- Glasset, B., Herbin, S., Granier, S. A., Cavalié, L., Lafeuille, E., Guerin, C., . . . Rama Rao, N. (2018). *Bacillus cereus*, a serious cause of nosocomial infections: Epidemiologic and genetic survey. *PLoS ONE*, 13(5). doi: 10.1371/journal.pone.0194346
- Guinebretiere, M. H., Thompson, F. L., Sorokin, A., Normand, P., Dawyndt, P., Ehling-Schulz, M., . . . De Vos, P. (2008). Ecological diversification in the *Bacillus cereus* Group. *Environmental Microbiology*, 10(4), 851-865. doi: 10.1111/j.1462-2920.2007.01495.x
- Guinebretiere, M. H., Velge, P., Couvert, O., Carlin, F., Debuyser, M. L., & Nguyen-The, C. (2010). Ability of *Bacillus cereus* Group Strains To Cause Food Poisoning Varies According to Phylogenetic Affiliation (Groups I to VII) Rather than Species Affiliation. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(9), 3388-3391. doi: 10.1128/jcm.00921-10
- Glasset, B., Herbin, S., Guillier, L., Cadel-Six, S., Vignaud, M.-L., Grout, J. Brisabois, A. (2016). *Bacillus cereus*-induced food-borne outbreaks in France, 2007 to 2014: epidemiology and genetic characterisation. *Eurosurveillance*, 21(48), 30413. doi: doi:https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.48.30413

Table des sigles :

Unité INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) :

MICALIS : microbiologie de l'alimentation au service de la santé - <https://www.micalis.fr/>

STLO : Science et Technologie du Lait et de l'Oeuf - <https://www6.rennes.inrae.fr/stlo>

UMET : Unité Matériaux et Transformation - <http://umet.univ-lille1.fr/>

LGPTA : Laboratoire de Génies des Procédés et Technologies Alimentaires

SQPOV : sécurité et qualité des produits d'origine végétale - <https://www6.paca.inrae.fr/sqpov>

Autres :

AP-HP : Assistance Publique – Hôpitaux de Paris - <https://www.aphp.fr/>

CETIM : centre technique des industries mécaniques - <https://www.cetim.fr/>

ITAVI : institut technique de l'aviculture - <https://www.itavi.asso.fr/>

Cette étude de cas a été réalisée selon la méthode ASIRPA (Analyse de l'impact sociétal de la recherche) mise au point par INRAE.

Pour en savoir plus sur la méthode : <https://www6.inrae.fr/asirpa/>

Auteurs principaux : Christophe Nguyen-the, Marie Brossier.

Ce document est sous licence Creative Commons BY NC SA : Attribution – Utilisation non commerciale - Partage dans les Mêmes Conditions.



> Pour citer ce document : Nguyen-The C., Brossier M., *Prévention des intoxications par la bactérie pathogène : Bacillus cereus. Meilleure connaissance de la bactérie et amélioration des méthodes d'hygiène*, Rapport ASIRPA, 2021, INRAE, 17 pages.

> hal-03245061

> Contact : asirpa@inrae.fr

> Photo de couverture : Biofilm de *Bacillus cereus*, Centre de recherche : Hauts-de-France, UMR UMET ex-LGPA.
Référence : 6500-0227, © INRAE.