Ordre de service d'inspection

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE
DE L'AGRICULTURE
DE L'AGROALIMENTAIRE
ET DE LA FORÊT

Direction générale de l'alimentation **Sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments** **Bureau d'appui à la surveillance de la chaîne alimentaire** **251 rue de Vaugirard** **75 732 PARIS CEDEX 15** **0149554955**	**Instruction technique** **DGAL/SDSSA/2014-1063** **30/12/2014**

Date de mise en application : 01/01/2015
Diffusion : Tout public

Date limite de mise en œuvre : 15/02/2016
Cette instruction n'abroge aucune instruction.
Cette instruction ne modifie aucune instruction.
Nombre d'annexes : 6

Objet : Plan de surveillance de la contamination des mollusques bivalves par Escherichia coli et norovirus au stade de la distribution - 2015

Destinataires d'exécution
DRAAF : Toutes DD(CS)PP concernées

Résumé : Ce plan de surveillance est destiné à apprécier la contamination par Escherichia coli et norovirus des huîtres creuses mises sur le marché en France. 1224 échantillons (n=1) seront prélevés au stade de la distribution et seront répartis sur le territoire proportionnellement à la population humaine. La période de réalisation des prélèvements s'étend du 2 janvier au 31 décembre 2015. Les résultats d'analyse devront être enregistrés dans SIGAL et disponibles au plus tard le 15 février 2016.

Textes de référence :- Instruction technique DGAL/SDPRAT/2014-898 du 17 novembre 2014 concernant les dispositions générales relatives aux plans de surveillance et aux plans de contrôle de la contamination des productions primaires animale et végétale, des denrées alimentaires d'origine animale et de l'alimentation animale pour l'année 2015
- Règlement (CE) n°882/2004 du Parlement Européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif aux contrôles officiels effectués pour s'assurer de la conformité avec la législation sur les aliments pour

animaux et les denrées alimentaires et avec les dispositions relatives à la santé animale et au bien-être des animaux
- Règlement (CE) n°853/2004 du Parlement Européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale
- Règlement (CE) n°854/2004 du Parlement Européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine
- Règlement (CE) n°2073/2005 de la Commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires
- Instruction technique DGAL/SDPRAT/2014-983 du 10 décembre 2014 relative à la gestion des plans de surveillance et plans de contrôle dans SIGAL

Je vous demande de réaliser le plan cité en objet sur la base de l'ensemble des dispositions spécifiques explicitées dans la présente instruction (notamment répartition des prélèvements par région, conditions de réalisation des prélèvements et modalités de transmission des résultats).

I - Plan d'échantillonnage

A - Stratégie d'échantillonnage : plan de surveillance

Ce plan consiste à assurer la surveillance de la contamination des mollusques bivalves, d'une part par *Escherichia coli* (*E. coli*), et d'autre part par norovirus, au stade de la distribution.

Le règlement (CE) n°2073/2005 fixe un critère de sécurité pour *E. coli* dans les mollusques bivalves vivants, échinodermes, tuniciers et gastéropodes vivants, au stade de leur mise sur le marché.

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organisme	Plan d'échantillonnage		Limites		Méthodes d'analyse de référence	Stade d'application du critère
		n	c	m	M		
1.25 Mollusques bivalves vivants, échinodermes, tuniciers et gastéropodes vivants	*E. coli*	1	0	230 NPP[1] / 100 g de chair et liquide intervalvaire (CLI)		ISO/TS 16649-3	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation

En réalité, il s'agit davantage d'un critère d'hygiène reflétant une contamination fécale de l'eau de production. Sa présence effective témoigne d'un défaut de maîtrise de la qualité du milieu et des procédures de purification ultérieures éventuelles.

Norovirus est responsable de gastro-entérites aiguës. De plus, la majorité des intoxications liée à la consommation de mollusques bivalves est dûe à la contamination par norovirus, notamment lors de déversements accidentels d'eaux usées.
Pour le moment, norovirus ne fait pas l'objet d'un critère microbiologique réglementé par l'Union européenne. Cependant, la mise en place d'un tel critère est à l'étude. Ce plan de surveillance va permettre d'acquérir des données de prévalence de norovirus dans les mollusques bivalves, dans les huîtres creuses dans un premier temps, complémentaires à celles acquises lors d'alertes ou de TIAC, qui seront utilisées dans les négociations relatives aux modalités de gestion de ce risque avec la Commission européenne et les représentants de la filière de production de coquillages.

Les objectifs de ce plan sont :

- de répondre aux objectifs et aux obligations fixés par le règlement (CE) n°854/2004 et de vérifier le respect du critère établi par le règlement (CE) n°2073/2005 pour *E. coli* ;
- d'acquérir des données de prévalence de norovirus dans les huîtres creuses distribuées en France ;
- de déterminer s'il existe une corrélation, a priori faible, entre la contamination d'un lot par *E. coli* et par norovirus.

Le choix des établissements et des échantillons à prélever doit être réalisé de façon aléatoire.

1 NPP : Nombre le plus probable

B - Nombre de prélèvements et leur répartition

1 - Définition du nombre national de prélèvements

Le nombre total d'échantillons à prélever est fixé à 1224, à raison de 1 unité analysée par échantillon (soit 1224 analyses au total).

2 - Répartition des prélèvements

Au total, 22 régions sont concernées par ces prélèvements. Le nombre d'échantillons à prélever par région, établi proportionnellement à la population humaine[2], est présenté en annexe I.

Chaque région est chargée de la répartition des prélèvements, au prorata de la population humaine, dans les différents départements de son territoire, conformément à la prescription nationale édictée. Une proposition de répartition par département est présentée en annexe I bis. Elle peut être réajustée par les régions si besoin.

La région doit saisir la prescription départementale en début d'année dans SIGAL, c'est-à-dire le nombre d'interventions à réaliser par chaque département.

Sur la base de la prescription régionale reçue, chaque département doit, dans le cadre de la préparation des prélèvements à réaliser, dupliquer l'intervention modèle (IM) du plan pour disposer du nombre d'interventions prévisionnelles correspondant au nombre de prélèvements dont il a la charge.

Chaque région peut préciser à chaque département la ou les périodes de prélèvement pour ce qui le concerne, en fonction de la réalité de l'offre dans ce département, en respectant au niveau régional la répartition par tiers édictée dans la présente instruction (cf. chapitre II.A).

C - Couples analyte / matrice

Les prélèvements concernent exclusivement des huîtres creuses (*Crassostrea gigas*).
En effet, l'essai inter-laboratoire d'aptitude des laboratoires nouvellement agréés pour la recherche de norovirus n'a porté que sur cette matrice. L'extension de l'agrément à d'autres matrices (ex. moules) sera réalisée courant 2015.

Les prélèvements des 1224 échantillons sont répartis de la manière suivante :

- 612 échantillons pour une recherche d'*E. coli* (isolement et dénombrement) ;
- 612 échantillons pour une recherche d'ARN de norovirus de génotypes I et II (détection et, *a posteriori*, quantification).

D - Lieux de prélèvement

Les prélèvements sont réalisés au stade de la distribution.

Pour les départements littoraux, les prélèvements sont effectués exclusivement au niveau des circuits courts (marchés, ventes directes par le producteur...).

Pour les départements non littoraux, les prélèvements peuvent être réalisés dans les grandes et moyennes surfaces (GMS), les magasins de détail (poissonneries) ou au niveau des circuits courts quand ils existent.

2 A défaut de données disponibles sur la consommation de ces coquillages par région administrative

II - Mode opératoire des prélèvements

A - Période de réalisation des prélèvements sur le terrain

Les prélèvements seront réalisés entre le 2 janvier et le 31 décembre 2015.
J'appelle votre attention sur le fait que les prélèvements de ce plan devront s'étaler jusqu'au 31 décembre 2015, afin de prendre en compte les fortes périodes d'activité que représentent les fêtes de fin d'année.

Dans chaque région, les prélèvements doivent être réalisés conformément à la consigne suivante :

- 1/3 des prélèvements attribués réalisés entre le 2 janvier et le 30 avril 2015 ;
- 1/3 des prélèvements attribués réalisés entre le 1er mai et le 30 octobre 2015 ;
- 1/3 des prélèvements attribués réalisés entre le 1er novembre et le 31 décembre 2015.

B - Réalisation et conservation des prélèvements

Les prélèvements sont réalisés selon les modalités de l'instruction technique générale DGAL/SDPRAT/2014-898.
Ces prélèvements doivent se faire en dehors de toute enquête mise en œuvre dans le cadre de suspicion de non-conformité ou de TIAC.

A chaque déplacement, l'inspecteur doit effectuer 2 prélèvements du même lot ; l'un des prélèvements sera utilisé pour le dénombrement d'*E. coli*, l'autre pour la recherche de norovirus. Cela permettra de déterminer s'il existe une corrélation entre la contamination d'un lot par *E. coli* et par norovirus. Il est donc indispensable, pour les 2 analyses, d'effectuer 2 prélèvements d'huîtres creuses du même lot.
Remarque : Les 2 prélèvements du même lot sont enregistrés dans SIGAL comme 2 interventions distinctes (l'une au niveau du plan prévisionnel *E. coli*, l'autre au niveau du plan prévisionnel norovirus). Le lien entre les 2 prélèvements sera fait par la DGAL à l'aide du descripteur commun « Identification du lot » (cf annexe II). Celui-ci doit donc être rempli consciencieusement par les DD(CS)PP.

Chaque prélèvement effectué est constitué d'une unité (n=1). Pour chaque unité, le prélèvement, réalisé en divers points du lot, est composé de 12 à 14 huîtres entières vivantes, permettant d'extraire un poids minimum de 100 g de chair et liquide intervalvaire (CLI) (pour le dénombrement en *E. coli*) ou de 2 g de tissus digestifs (pour la recherche de norovirus).
Il est donc nécessaire, pour chaque lot, de prélever au total entre 24 et 28 huîtres entières vivantes.
J'insiste sur la nécessité de prélever au minimum ces quantités, afin que les laboratoires puissent réaliser les différentes analyses. Les laboratoires peuvent refuser de réaliser les analyses si tel n'est pas le cas.

Les coquillages doivent être maintenus dans des conditions de stockage adaptées afin qu'ils restent vivants jusqu'à la livraison aux laboratoires d'analyses. Plus précisément, le transport doit être réalisé en coffret isotherme, disposant d'accumulateurs de froid.

Les échantillons sont acheminés immédiatement : les méthodes de dénombrement d'*E.coli* recommandent que l'analyse commence dans les 24 heures suivant le prélèvement**.** D'après le laboratoire national de référence (LNR), ce délai entre le prélèvement et le début de l'analyse peut être étendu à 48 heures en cas de force majeure liée aux conditions de transport, à condition que les échantillons soient maintenus à une température inférieure ou égale à +10°C durant leur acheminement jusqu'au laboratoire d'analyse.

J'insiste sur la nécessité de respecter ces températures et délais de transport, afin que les laboratoires puissent réaliser les différentes analyses selon les méthodes officielles. Les laboratoires peuvent refuser de réaliser les analyses si tel n'est pas le cas.

NB : Tout prélèvement non analysé pour des raisons liées au délai ou aux conditions d'acheminement doit être de nouveau réalisé.

L'annexe III récapitule les conditions de prélèvement et les méthodes d'analyse.

C - Laboratoires destinataires des prélèvements

- Dénombrement d'*E. coli*

L'analyse est réalisée par les laboratoires d'analyse agréés en microbiologie des aliments pour la recherche d'*E. coli* dans les mollusques bivalves et qualifiés pour les échanges de données informatisées.

- Recherche de norovirus

L'analyse est réalisée par les laboratoires d'analyse agréés pour la recherche de norovirus dans les huîtres.

La liste des laboratoires agréés pour la réalisation des analyses officielles dans le cadre des plans de surveillance et plans de contrôle, ainsi que leurs coordonnées, sont consultables à l'adresse suivante :
agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-methodes-officielles-alimentation-568
(annexes 3 et 4 de l'instruction technique générale DGAL/SDPRAT/2014-898).

D - Identification des échantillons

Chaque échantillon doit être identifié sans ambiguïté (notamment par son numéro de lot) immédiatement après prélèvement de manière à garantir sa traçabilité.

Les modalités de gestion des plans dans SIGAL sont précisées dans l'instruction DGAL/SDPRAT/2014-983.

Les libellés, types et valeurs des descripteurs de l'intervention sont précisés en annexe II. Celle-ci est un élément d'aide à la réalisation des prélèvements sur le terrain et à la saisie des informations dans SIGAL. Toutes les rubriques du pré-DAP puis du DAP doivent être soigneusement renseignées.
Si elle est connue, la zone de production d'origine doit être renseignée. Les informations plus précises que les zones proposées dans le menu déroulant du descripteur « Zone d'origine COQ conchyliculture » sont à renseigner au niveau du descripteur « Zone d'origine COQ pêche ».

Chaque échantillon est identifié à l'aide des étiquettes autocollantes présentes sur le pré-DAP. Il doit être transmis au laboratoire accompagné du DAP papier, qui identifie la nature et l'origine du prélèvement.

III - Analyse

A - Méthodes d'analyses

Le laboratoire enregistre dans SIGAL la température de l'échantillon à réception.

- Dénombrement d'*E. coli*

Les laboratoires utilisent les méthodes d'analyses officielles précisées dans le tableau A disponible sur le site intranet de la DGAL, section MSI (http://10.200.91.241/MSI/, suivre Référentiel > EDI – laboratoires > Documents de production > Documents complémentaires PSPC – PRODUCTION).

Deux méthodes d'analyses sont proposées pour effectuer les analyses de ce plan :

- méthode de référence : Nombre le plus probable (NPP) ISO/TS 16649-3 ;
- méthode inpédancemétrique NF V 08-106.

◆ Recherche de norovirus

La méthode d'analyse utilisée est : CEN ISO/TS 15216-2 (2013) « Microbiology of food and animal feed - Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus in food using real-time RT-PCR - Part 2 : Method for qualitative detection ».

Il est demandé aux laboratoires agréés pour la recherche de norovirus dans les huîtres :

- d'effectuer préférentiellement la dissection des huîtres dès réception, les tissus digestifs ainsi disséqués pouvant être ensuite congelés pour, de préférence, regrouper les analyses (moindre variabilité analytique) ;
- d'envoyer au LNR les extraits d'acide nucléique dans lesquels de l'ARN de norovirus a été détecté (échantillons positifs), selon les consignes formulées en annexe IV, accompagnés de la « fiche de renseignement échantillon positif en norovirus » présentée en annexe VI. Le LNR procédera ultérieurement à la quantification pour tous les échantillons.

Les coordonnées du LNR sont les suivantes :

IFREMER
Laboratoire de Microbiologie - LNR
A l'attention de Soizick Le Guyader
Rue de l'Ile d'Yeu
B.P. 21105
44311 NANTES CEDEX 03

Tel : 02 40 37 40 52

B - Délai de réponse du laboratoire

◆ Dénombrement d'*E. coli*

Afin de prendre des mesures de gestion immédiates sur les lots non conformes, voire sur les zones de production (si elles ont été correctement identifiées), les DD(CS)PP doivent :

- adresser sans délai aux laboratoires les échantillons à l'état vivant (cf. exigences décrites précédemment sur les délais et températures de transport) ;
- demander aux laboratoires destinataires d'analyser les échantillons en priorité et de leur signifier les résultats non conformes immédiatement.

◆ Recherche de norovirus

Pour norovirus, en l'absence de mesure de gestion associée, les analyses peuvent être réalisées regroupées au maximum en quelques séries (pour une moindre variabilité analytique), jusqu'en fin de campagne (fin 2015-début 2016), après congélation des tissus digestifs qui auront été disséqués dès réception des échantillons.

C - Expression des résultats : unités, rapport d'analyse

◆ Dénombrement d'*E. coli*

Les laboratoires d'analyse sélectionnés, nécessairement qualifiés pour les échanges de données informatisées, renvoient les résultats d'analyse sous SIGAL, conformément à la fiche de plan correspondante en vigueur.

◆ Recherche de norovirus

Pour chaque échantillon analysé, les résultats seront exprimés sous la forme « Absence » ou

« Présence » d'ARN de norovirus dans 2 g de tissu digestif, selon la « fiche de rendu de résultats du plan de surveillance dans les coquillages » (cf annexe V).

Pour mémoire, la détection d'ARN de norovirus ne constitue pas, en soi, une non-conformité (cf. chapitre V – Suites éventuelles à donner).

IV - Transmission des résultats

Le suivi du taux de réalisation des prélèvements pour ce plan de surveillance sera effectué via SIGAL en fonction des informations saisies au niveau des interventions.

- Dénombrement d'*E. coli*

Les résultats seront transmis par les laboratoires agréés sous forme informatisée, dans SIGAL, au fur et à mesure de leur obtention, et disponibles au plus tard le 15 février 2016.

- Recherche de norovirus

Les résultats seront transmis par les laboratoires agréés aux DD(CS)PP, au fur et à mesure de leur obtention, par l'intermédiaire de la « fiche de rendu de résultats du plan de surveillance dans les coquillages » (cf annexe V).
Les DD(CS)PP devront alors saisir les résultats dans SIGAL, à l'aide du descripteur « Contamination par norovirus » (cf annexe II) :

- « oui » en cas de présence d'ARN de norovirus de génotype I (GI) ou II (GII) ;
- « non » en cas d'absence d'ARN de norovirus.

En cas de résultat positif (présence d'ARN de norovirus dans 2 g de tissu digestif), la DD(CS)PP indiquera le(s) génotype(s) concerné(s) (GI et/ou GII) au niveau du descripteur « Commentaires ».

Ultérieurement, lorsque le LNR aura procédé à la quantification en norovirus des échantillons positifs et transmis les résultats aux DD(CS)PP, celles-ci devront saisir dans SIGAL, au niveau du descripteur « Quantification en norovirus » (cf annexe II), la quantité de virus détectés dans 2 g de tissu digestif.

Ces deux descripteurs, créés spécifiquement pour ce plan, devront être renseignés au fur et à mesure de la réception des résultats par les DD(CS)PP, et dans tous les cas, au plus tard le 15 février 2016.

V - Suites éventuelles à donner

- Dénombrement d'*E. coli*

Les modalités de signalement en cas de détection d'une non-conformité en *E. coli*, ainsi que les actions à mener, sont définies dans l'instruction technique générale DGAL/SDPRAT/2014-898.

Il est rappelé qu'un résultat non conforme est un résultat strictement supérieur à 230 *E. coli* / 100 g de CLI.

- Recherche de norovirus

La recherche de norovirus consistant en une détection du seul ARN, elle n'informe pas sur l'infectiosité du virus. En l'absence de critère réglementaire, cette détection est considérée comme un simple facteur de risque à mettre en perspective avec d'autres éléments d'appréciation de la situation, conformément à la note de service DGAL/SDSSA/N2013-8187.
Ainsi, en cas de résultat positif (présence d'ARN de norovirus dans 2 g de tissu digestif), aucune mesure de gestion ne sera mise en œuvre. Le signalement à la DGAL/MUS n'est donc pas demandé.

Par contre, le travail de quantification des échantillons positifs que réalisera *a posteriori* le LNR étant supervisé par la DGAL/BPMED, les laboratoires agréés devront leur adresser, par mail bpmed.sdssa.dgal@agriculture.gouv.fr, une copie des documents suivants :

- « fiche de rendu de résultats du plan de surveillance dans les coquillages » (cf annexe V) pour l'ensemble des échantillons analysés ;
- « fiche de renseignement échantillon positif en norovirus » (cf. annexe VI) pour l'ensemble des échantillons positifs.

VI - Dispositions financières

Les frais liés aux transports des échantillons et aux analyses des laboratoires agréés sont à imputer sur le budget opérationnel de programme BOP n°20609M, sous-action n°35.

Je vous remercie de me faire part de toute difficulté que vous pourriez rencontrer dans l'application de la présente note.

Le Directeur Général de l'Alimentation

Patrick DEHAUMONT

ANNEXE I

Répartition des prélèvements par région

Région	Nombre d'échantillons à prélever	
	Dénombrement d'*E. coli*	**Recherche de norovirus**
Alsace	18	18
Aquitaine	32	32
Auvergne	14	14
Basse-Normandie	12	12
Bourgogne	18	18
Bretagne	32	32
Centre	24	24
Champagne-Ardenne	12	12
Corse	4	4
Franche-Comté	12	12
Haute-Normandie	18	18
Ile-de-France	114	114
Languedoc-Roussillon	24	24
Limousin	8	8
Lorraine	22	22
Midi-Pyrénées	28	28
Nord-Pas-de-Calais	38	38
Pays de la Loire	34	34
Picardie	20	20
Poitou-Charentes	18	18
PACA	48	48
Rhône-Alpes	62	62
Total	**612**	**612**

ANNEXE I bis

Proposition de répartition des prélèvements par département

Région	Département	Nombre d'échantillons à prélever	
		Dénombrement d'*E. coli*	Recherche de norovirus
Alsace	67	10	10
	68	8	8
Aquitaine	24	4	4
	33	14	14
	40	4	4
	47	4	4
	64	6	6
Auvergne	03	4	4
	15	2	2
	43	2	2
	63	6	6
Basse-Normandie	14	6	6
	50	4	4
	61	2	2
Bourgogne	21	6	6
	58	2	2
	71	6	6
	89	4	4
Bretagne	22	6	6
	29	8	8
	35	10	10
	56	8	8
Centre	18	2	2
	28	4	4
	36	2	2
	37	6	6
	41	4	4
	45	6	6
Champagne-Ardenne	08	2	2
	10	2	2
	51	6	6
	52	2	2
Corse	2A	2	2
	2B	2	2
Franche-Comté	25	6	6
	39	2	2
	70	2	2
	90	2	2
Haute-Normandie	27	6	6
	76	12	12
Ile-de-France	75	22	22
	77	12	12
	78	14	14
	91	12	12
	92	16	16
	93	14	14
	94	12	12
	95	12	12

Région	Département	Nombre d'échantillons à prélever	
		Dénombrement d'*E. coli*	**Recherche de norovirus**
Languedoc-Roussillon	11	4	4
	30	6	6
	34	10	10
	48	0	0
	66	4	4
Limousin	19	2	2
	23	2	2
	87	4	4
Lorraine	54	6	6
	55	2	2
	57	10	10
	88	4	4
Midi-Pyrénées	09	2	2
	12	2	2
	31	12	12
	32	2	2
	46	2	2
	65	2	2
	81	4	4
	82	2	2
Nord-Pas-de-Calais	59	24	24
	62	14	14
Pays de la Loire	44	12	12
	49	8	8
	53	2	2
	72	6	6
	85	6	6
Picardie	02	6	6
	60	8	8
	80	6	6
Poitou-Charentes	16	4	4
	17	6	6
	79	4	4
	86	4	4
PACA	04	2	2
	05	2	2
	06	10	10
	13	18	18
	83	10	10
	84	6	6
Rhône-Alpes	01	6	6
	07	4	4
	26	4	4
	38	12	12
	42	8	8
	69	16	16
	73	4	4
	74	8	8
Total		**612**	**612**

ANNEXE II

Commémoratifs du prélèvement

Libellé	Type	Valeur	Observations	Obligatoire
Etablissement de dernière manipulation « ETAMANIP »	ALPHA		A saisir par DD	Oui
Etablissement de production d'origine « ETAPRODORI »	ALPHA		A saisir par DD	Oui
Pays d'origine « PAYORIG »	LCU	Code ISO pays	A saisir par DD	Oui
Type d'établissement (ST15) « TYPETST15 »	LCU	« Grande distribution » - « Circuit court »	A saisir par DD	Oui
Classement de la zone d'origine « CLSSTORG »	LCU	« Zone A » - « Zone B » - « Zone non classée »	A saisir par DD	Oui
Zone d'origine COQ conchyliculture « CORDZONECONC »	LCU		A saisir par DD	Oui
Zone d'origine COQ pêche « CORDZONEPECH »	ALPHA		A saisir par DD Si des informations plus précises que les zones proposées au niveau du descripteur « Zone d'origine COQ conchyliculture » sont disponibles, il faut les renseigner au niveau de ce descripteur	Non
Identification du lot « IDLOTAX »	ALPHA		A saisir par DD	Oui
Taille du lot « TAILOT »	NUM		A saisir par DD	Oui
Taille échantillon « TAILECH »	NUM	En kilogrammes	A saisir par DD	Oui
Contamination par norovirus « CNTM_NVRS » A renseigner uniquement pour les prélèvements faisant l'objet d'une recherche de norovirus	LCU	« Oui » - « Non »	A saisir par DD	Oui Pour les prélèvements faisant l'objet d'une recherche de norovirus
Quantification en norovirus « QTF_NVRS » A renseigner uniquement pour les prélèvements positifs en norovirus	ALPHA		A saisir par DD	Non
Commentaires « CMNT »	ALPHA		A saisir par DD Si le prélèvement effectué est contaminé par norovirus, indiquer le nom du (des) génotype(s) concerné(s) au niveau de ce descripteur	Non
Date de l'envoi des prélèvements	DATE		A saisir par DD	Oui

Libellé	Type	Valeur	Observations	Obligatoire
« DTENVPREL »				
Date de réception des prélèvements « DATRECPREL »	DATE		A saisir par DD / labo	Non
Suite non-conformité PSPC « STNCFPSPC »			A saisir par DD	Non
Numéro sous-action budgétaire « CODBUD »			Sous-action n°35	Non

Types de descripteurs : LCU = liste à choix unique / ALPHA = alphanumérique

ANNEXE III

Modalités de prélèvement

Analytes recherchés	*E. coli* norovirus
Produits alimentaires concernés	Huîtres creuses (*Crassostrea gigas*)
Quantité minimum à prélever	100 g de chair et liquide intervalvaire ou 2 g de tissus digestifs, soit : 12 à 14 animaux vivants
Nombre d'unités (n) par échantillon prélevé	1
Conditionnement	Stérile
Conservation avant analyse	Froid positif, inférieur à 10°C
Délai d'acheminement au laboratoire	24 heures maximum (48h en cas de force majeure exceptionnelle)
Laboratoires de première intention (destinataires des prélèvements)	Dénombrement d'*E. coli* : Laboratoires agréés pour la recherche d'*E. coli* pour les PSPC (http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-methodes-officielles-alimentation) Recherche de norovirus : Laboratoires agréés pour la recherche de norovirus pour les PSPC (http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-methodes-officielles-alimentation)
Types de technique	Microbiologie / Biologie moléculaire
Matrices analysées	Huîtres creuses (*Crassostrea gigas*)
Prise d'essai pour analyse	100 g de chair et liquide intervalvaire ou 2 g de tissus digestifs
Méthodes de référence pour le dépistage	Dénombrement d'*E. coli* : ISO/TS 16649-3 ou NF V 08-106 Recherche de norovirus : CEN ISO/TS 15216-2 (2013) - Part 2
Limites critères règlement (CE) n°2073/2005	*E. coli* : > 230 NPP / 100 g de chair et liquide intervalvaire Norovirus : sans objet

ANNEXE IV

Consignes à l'attention des laboratoires destinataires des prélèvements pour la recherche des norovirus dans les coquillages

A réception des échantillons, vérifier l'état des huîtres et éventuellement éliminer les mortes.

Ouvrir 12 huîtres, les égoutter avant de disséquer les tissus digestifs (si le nombre d'huîtres est inférieur, le noter dans le tableau).

Rassembler les tissus dans un même contenant (par exemple boite de pétri) et les couper en petits morceaux de façon à homogénéiser l'échantillon : cette étape doit être effectuée le plus rapidement possible.

Répartir en tube de 2 g, noter le poids total obtenu dans la « fiche de rendu de résultats du plan de surveillance norovirus dans les coquillages » (cf annexe V).

A cette étape, il est possible de congeler les tissus à -20 ± 5 °C.

Analyse :

Suivre le protocole ISO/CEN : digestion protéinase K (noter le volume de surnageant qui sera à rapporter dans la « fiche de rendu de résultats du plan de surveillance norovirus dans les coquillages » (cf annexe V).

Extraire le mengovirus avec le kit Nuclisens.

Remplir la « fiche de rendu de résultats du plan de surveillance norovirus dans les coquillages » (cf annexe V).

En cas de résultat positif, un aliquot de l'échantillon doit être envoyé au LNR-microbiologie des coquillages. Chaque échantillon envoyé doit être accompagné de la « fiche de renseignement échantillon positif en norovirus » complétée (cf. annexe VI). Les envois peuvent être groupés.

Envoyer préférentiellement les acides nucléiques extraits, conservés à -20°C, 50µl minimum à l'attention de :

IFREMER
Laboratoire de Microbiologie – LNR
A l'attention de Soizick Le Guyader
Rue de l'Ile d'Yeu
B.P. 21105
44311 NANTES CEDEX 03

ANNEXE V

Fiche de rendu de résultats du plan de surveillance norovirus dans les coquillages

La présente fiche doit être remplie par les laboratoires agréés.

Elle concerne l'ensemble des résultats du plan (négatifs ou positifs).

Une fois complétée, elle est transmise aux DD(CS)PP, et à la DGAL/BPMED en copie.

Laboratoire ayant réalisé l'analyse (Nom et adresse) **:**

…….
…….
…….
…….
…….

Identification des échantillons :

Numéro d'identification *(interne au laboratoire)*	**Numéro d'intervention** *(attribué par la DD(CS)PP)*	**Numéro de lot** *(tel que renseigné par la DD(CS)PP)*	**Date de prélèvement**	**Zone conchylicole d'origine ou, si non disponible, N° d'agrément de l'établissement de production** *(telle que renseignée par la DD(CS)PP)*

Résultats :

Prélèvement		Méthode				Résultat**		Date d'envoi au LNR en cas de présence d'ARN de norovirus
Numéro d'identification (labo)	Poids TD* (en g)	Volume surnageant (en µl)	Eff. extraction	% inhibition NoV GI	% inhibition NoV GII	Génotype I	Génotype II	

* poids de tissus digestifs obtenus pour les 12-14 huîtres

** en cas d'absence d'ARN de norovirus, indiquer "Absence" ; en cas de présence d'ARN de norovirus, indiquer "Présence"

Rappel à destination des laboratoires agréés :

En cas de résultat positif, un aliquot de l'échantillon doit être envoyé au LNR pour la contamination bactériologique et virale des coquillages (Ifremer). Chaque échantillon positif ainsi envoyé doit être accompagné de la « fiche de renseignement échantillon positif en norovirus »[3] complétée. Les envois peuvent être groupés.

3 Présentée en annexe VI

ANNEXE VI

Fiche de renseignement échantillon positif en norovirus

La présente fiche doit être remplie par les laboratoires agréés.

Elle concerne les échantillons positifs (présence d'ARN de norovirus).

Une fois complétée, elle est transmise au LNR avec tout envoi d'acides nucléiques extraits. Elle est également transmise à la DGAL/BPMED en copie.

<u>Fiche à joindre avec tout envoi au LNR</u> : 1 fiche par échantillon positif

IFREMER
Laboratoire de Microbiologie – LNR
A l'attention de Soizick Le Guyader
Rue de l'Ile d'Yeu
B.P. 21105
44311 NANTES CEDEX 03

Envoyer préférentiellement les acides nucléiques extraits, conservés à –20°C, 50µl minimum

Laboratoire expéditeur de l'échantillon (nom et adresse) **:**

……
……
……
……
……

Echantillon :

Numéro d'identification *(interne au laboratoire)*	**Numéro d'intervention** *(attribué par la DD(CS)PP)*	**Numéro de lot** *(tel que renseigné par la DD(CS)PP)*	**Date de prélèvement**	**Zone conchylicole d'origine ou, si non disponible, N° d'agrément de l'établissement de production** *(telle que renseignée par la DD(CS)PP)*

Résultat :

Extraction			**NoV GI**			**NoV GII**			**Commentaire**
Date	Vol. surn. PK (en µl)	Eff. Ext.	% inhib.	C_T pure	C_T 1/10	% inhib.	C_T pure	C_T 1/10	

Echantillon congelé disponible (en sus de celui joint à cette fiche) :

Coquillages □ **Tissus digestifs** □