Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE
DE L'AGRICULTURE
ET DE
L'ALIMENTATION

Ordre de service d'inspection

Direction générale de l'alimentation **Service 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/2018-9** **29/12/2017**

Date de mise en application : 01/01/2018
Diffusion : Tout public

Date limite de mise en œuvre : 01/02/2019
Cette instruction n'abroge aucune instruction.
Cette instruction ne modifie aucune instruction.
Nombre d'annexes : 4

Objet : Plan de surveillance de la contamination des fromages au lait cru par Listeria monocytogenes, par Salmonella spp. et par E. coli STEC au stade de la production - 2018

Destinataires d'exécution
DRAAF DD(CS)PP

Résumé : Ce plan de surveillance est destiné, d'une part, à estimer la contamination par Listeria monocytogenes, par Salmonella spp. et par Escherichia coli producteurs de Shiga toxines (STEC) des fromages au lait cru identifiés comme les plus à risque (fromages au lait cru hors pâtes pressées cuites) produits en France, et, d'autre part, à recueillir des données relatives aux fromages issus de la filière fermière.
1000 échantillons (500 échantillons de 5 unités (n=5) pour la recherche de Listeria monocytogenes et Salmonella, et 500 échantillons d'une unité (n=1) pour la recherche de STEC) seront prélevés en toute fin de production ou en cours d'affinage ; ces prélèvements seront répartis proportionnellement aux volumes de production dans les 13 régions métropolitaines.
La période de réalisation des prélèvements s'étend du 2 janvier au 31 décembre 2018.
Les résultats d'analyse seront saisis dans SIGAL par les laboratoires agréés au fur et à mesure de leur obtention et devront être disponibles au plus tard le 1er février 2019.

Textes de référence :- Instruction technique DGAL/SDPRAT/2017-1019 du 20 décembre 2017 concernant les dispositions générales relatives à la campagne 2018 des plans de surveillance et plans de contrôle (PSPC)
- Directive 2003/99/CE du Parlement Européen et du Conseil du 17 novembre 2003 sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques, modifiant la décision 90/424/CEE du Conseil et abrogeant la directive 92/117/CEE du Conseil
- 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°2073/2005 de la Commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires
- Règlement (CE) n°178/2002 du Parlement européen et du Conseil du 28 janvier 2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires
- Instruction technique DGAL/MUS/2015-888 du 23 décembre 2015 concernant les mesures de gestion relatives aux viandes hachées dans lesquelles des souches de STEC considérées comme hautement pathogènes ont été détectées
- Guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire entre les exploitants de la chaîne alimentaire et l'administration lorsqu'un produit ou un lot de produits est identifié – Version révisée du 2 juillet 2009
- Instruction technique DGAL/SDPAL/2017-324 du 7 avril 2017 relative aux dispositions applicables aux réseaux de laboratoires agréés pour la réalisation des analyses officielles dans le domaine de la microbiologie des aliments
- Instruction technique DGAL/SDPAL/2017-327 du 7 avril 2017 concernant les dispositions applicables aux réseaux de laboratoires agréés pour la réalisation d'analyses officielles de détection des Escherichia coli productrices de shigatoxines (STEC) et de confirmation par isolement de la souche bactérienne STEC

La directive 2003/99/CE impose aux États Membres de mettre en place un système de surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques. *Escherichia coli* productrices de Shiga toxines (STEC), *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) et *Salmonella* font partie de la liste des agents à surveiller, énumérés à l'annexe I, partie A, de cette directive.

Certaines souches de STEC sont pathogènes pour l'Homme. Elles sont responsables d'affections rares mais graves, en particulier pour les enfants de moins de 15 ans, telles que le syndrome hémolytique et urémique (SHU) (insuffisance rénale sévère) ou des complications neurologiques graves pouvant entraîner la mort des patients.
Les ruminants, notamment les bovins, sont le réservoir principal des STEC. Chez cette espèce, le portage digestif de ces pathogènes pour l'Homme est asymptomatique.

L. monocytogenes est responsable d'une infection rare mais grave : la listériose, qui peut entraîner des septicémies, méningites, infections locales ou, pour les femmes enceintes, des symptômes grippaux, avortements spontanés, morts in utero ou prématurités. La listériose, mortelle dans 20 à 30 % des cas, est particulièrement grave chez les femmes enceintes et les personnes âgées ou immunodéprimées. Depuis plusieurs années, le nombre de listérioses est en augmentation en Europe.
La transmission de la bactérie à l'Homme se fait principalement par voie alimentaire (99 % des cas). Les aliments considérés comme présentant le plus de risque sont ceux consommés en l'état, permettant la croissance de *L. monocytogenes* et conservés un certain temps sous température dirigée.

En Europe, *Salmonella spp.* constitue la seconde cause de toxi-infections alimentaires signalée chez l'Homme et demeure la cause la plus fréquente de toxi-infections alimentaires collectives d'origine bactérienne.
Le réservoir principal de *Salmonella spp.* est constitué par le tractus gastro-intestinal des mammifères et des oiseaux. La transmission à l'Homme se fait essentiellement (95 % des cas) par la consommation d'aliments contaminés crus ou peu cuits.

Ainsi, les fromages au lait cru, et particulièrement les pâtes molles, les pâtes persillées et les pâtes pressées non cuites, font partie des produits « à risque » susceptibles d'être contaminés par STEC, *L. monocytogenes* et *Salmonella spp*.

Pour *L. monocytogenes* et *Salmonella*, le règlement (CE) n°2073/2005 fixe des critères de sécurité pour les fromages au lait cru :

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organisme	Plan d'échantillonnage		Limites		Méthodes d'analyse de référence	Stade d'application du critère
		n	c	m	M		
1.2 Denrées alimentaires prêtes à être consommées permettant le développement de *L. monocytogenes*, autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales	*Listeria monocytogenes*	5	0	100 ufc/g[1] [2]		EN/ISO 11290-2	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
		5	0	Absence[3] dans 25 g		EN/ISO 11290-1	Avant que la denrée n'ait quitté le contrôle immédiat de l'opérateur qui l'a fabriquée
1.3 Denrées alimentaires prêtes à être consommées ne permettant pas le développement de *L. monocytogenes*, autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales[4]	*Listeria monocytogenes*	5	0	100 ufc/g		EN/ISO 11290-2	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation

1 ufc/g = unités formant colonies par gramme

2 Ce critère est applicable lorsque le fabricant est en mesure de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant toute la durée de conservation. L'exploitant peut fixer, pendant le procédé, des valeurs intermédiaires suffisamment basses pour garantir que la limite de 100 ufc ne sera pas dépassée au terme de la durée de conservation.

3 Ce critère est applicable aux produits avant qu'ils ne quittent le contrôle immédiat de l'exploitant du secteur alimentaire, lorsque celui-ci n'est pas en mesure de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant toute la durée de conservation.

1.11 Fromages, beurre et crème fabriqués à partir de lait cru ou de lait traité à une température inférieure à celle de la pasteurisation[5]	*Salmonella*	5	0	Absence dans 25 g	EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation

En revanche, il n'existe aucun critère microbiologique réglementaire concernant la présence de STEC dans les fromages. Néanmoins, un fromage détecté positif vis-à-vis de la présence d'une souche STEC hautement pathogène est considéré comme « dangereux » au sens de l'article 14 du règlement (CE) n°178/2002. A ce titre, le guide d'aide à la gestion des alertes définit un seuil d'alerte pour les souches STEC hautement pathogènes, dans toutes les denrées alimentaires, qui est « présence dans 25 g ».

Les prélèvements réalisés dans le cadre de ce plan de surveillance concernent les fromages identifiés comme les plus « à risque » (fromages au lait cru hors pâtes pressées cuites) et sont :

- représentatifs de la production nationale pour 40 % d'entre eux,
- issus de la filière fermière pour 60 % d'entre eux.

Les objectifs de ce plan de surveillance sont multiples :

- vérifier la conformité des fromages au lait cru par rapport à la réglementation,
- estimer le taux de contamination par STEC, *L. monocytogenes* et *Salmonella spp.* des fromages les plus à risque et comparer ces données avec celles obtenues lors des plans de surveillance similaires mis en place les années précédentes,
- disposer de données relatives aux fromages issus de la filière fermière,
- disposer de données qui seront utilisées dans le cadre de l'exportation de fromages au lait cru vers les pays tiers.

Les résultats de ce plan de surveillance seront transmis à l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) conformément à la directive 2003/99/CE, pour être publiés dans le rapport annuel sur les zoonoses et les agents zoonotiques en Europe.

I - Plan d'échantillonnage

DD(CS)PP

1.1. Nombre d'échantillons à réaliser au niveau national

Le nombre total d'échantillons de fromages au lait cru à prélever est fixé à 1000 :

- 500 échantillons prélevés pour la recherche de *L. monocytogenes* **et** de *Salmonella spp.*, à raison de 5 unités analysées par échantillon,
- 500 échantillons prélevés pour la recherche de STEC, à raison de 1 unité analysée par échantillon.

Cela correspond à un total de 5500 analyses.

1.2. Répartition régionale des prélèvements

Les 13 régions métropolitaines sont concernées par ces prélèvements.

Le nombre d'échantillons à prélever par région est présenté en annexe I.

Pour les 60 % d'échantillons issus de la filière fermière, la répartition régionale a été établie proportionnellement au nombre de producteurs de fromages fermiers.

Pour les 40 % d'échantillons représentatifs de la production nationale, la répartition régionale a été établie proportionnellement aux volumes de production.

4 Les produits pour lesquels pH ≤ 4,4 ou aw ≤ 0,92, les produits pour lesquels pH ≤ 5,0 et aw ≤ 0,94, les produits à durée de conservation inférieure à 5 jours appartiennent automatiquement à cette catégorie. D'autres genres de produits peuvent aussi appartenir à cette catégorie, sous réserve d'une justification scientifique.

5 Excepté les produits pour lesquels le fabricant peut démontrer, à la satisfaction des autorités compétentes, qu'en raison du temps d'affinage et de la valeur aw du produit le cas échéant, il n'y a aucun risque de contamination par les salmonelles.

Une répartition plus précise en fonction de la matrice à prélever est présentée en annexe I bis.

1.3. Programmation départementale

Chaque région est chargée de la répartition des prélèvements dans les différents départements de son territoire, conformément à la prescription nationale édictée :

- pour les 60 % d'échantillons issus de la filière fermière, la répartition départementale est établie proportionnellement au nombre de producteurs de fromages fermiers,
- pour les 40 % d'échantillons représentatifs de la production nationale, la répartition départementale est établie proportionnellement aux volumes de production.

Pour les 60 % d'échantillons issus de la filière fermière, les prélèvements sont réalisés dans des ateliers de production ou d'affinage de fromages au lait cru. La proportion entre établissements agréés, dérogataires à l'agrément ou en remise directe sera appréciée au niveau départemental en vue d'être la plus représentative possible des spécificités locales.

Pour les 40 % d'échantillons représentatifs de la production nationale, les prélèvements sont réalisés dans des ateliers de production ou d'affinage de fromages au lait cru agréés.

Les prélèvements sont effectués entre le 2 janvier et le 31 décembre 2018, en veillant à les échelonner de façon régulière tout au long de l'année. Il convient néanmoins de tenir compte de la disponibilité des laboratoires réalisant les analyses.

1.4. Stratégie d'échantillonnage

Les échantillons sont prélevés de manière aléatoire.

1.5. Nature des couples analyte/matrice recherchés

Les échantillons prélevés sont des **fromages au lait cru, <u>à l'exception des pâtes pressées cuites.</u>**

Les 1000 échantillons à prélever sont répartis de la manière suivante :

- 694 fromages au lait cru de vache (347 pour la recherche de *L. monocytogenes* et de *Salmonella spp.* et 347 pour la recherche de STEC),
- 160 fromages au lait cru de brebis (80 pour la recherche de *L. monocytogenes* et de *Salmonella spp.* et 80 pour la recherche de STEC),
- 146 fromages au lait cru de chèvre (73 pour la recherche de *L. monocytogenes* et de *Salmonella spp.* et 73 pour la recherche de STEC).

L. monocytogenes et *Salmonella spp.* sont recherchées dans 500 échantillons (n=5). Pour *L. monocytogenes*, un dénombrement est mis en œuvre simultanément à la recherche. Pour *Salmonella*, en cas de présence, un sérotypage des souches est effectué.

Dans les 500 autres échantillons prélevés (n=1), les souches STEC suivantes sont recherchées :

- souches considérées comme hautement pathogènes[6] pour l'Homme, c'est-à-dire possédant les gènes de virulence *stx* (codant pour les Shiga toxines) <u>et</u> *eae* (codant pour l'intimine) <u>et</u> appartenant à l'un des 5 sérotypes suivants : O157:H7, O26:H11, O103:H2, O145:H28 ou O111:H8,
- souches possédant les gènes de virulence *stx* <u>et</u> *eae* <u>et</u> appartenant au sérotype O80:H2, en raison de la recrudescence du nombre de SHU associés à ce sérotype en France.

Des souches AEEC des sérotypes ciblés peuvent également être isolées.

6 Saisine Anses n°2016-SA-0121

Une fiche « mémo » pour le préleveur, synthétisant l'ensemble des éléments à prendre en compte, est présentée en annexe IV.

2.1. Mode opératoire pour la réalisation des prélèvements

Cf. instruction technique générale DGAL/SDPRAT/2017-1019 et mode opératoire « Gestion des prélèvements » (OPE Prélèvement)

A chaque déplacement, l'inspecteur doit effectuer **2 prélèvements appartenant au même lot de fabrication** :

- le premier, constitué de 5 unités (n=5), sera utilisé pour la recherche de *L. monocytogenes* et de *Salmonella spp.*,
- le second, constitué de 1 unité (n=1), sera utilisé pour la recherche de STEC.

Le poids de chaque unité prélevée doit être au minimum de 100 grammes.

Les prélèvements concernent :

- soit des produits non conditionnés, auquel cas les prélèvements doivent être effectués dans les conditions d'hygiène appropriées afin d'éviter toute contamination,
- soit des échantillons conditionnés directement par le fabricant.

Selon les technologies, les prélèvements sont réalisés en toute fin de production ou en cours d'affinage, sur des **produits prêts à être mis sur le marché**.

Il est recommandé aux établissements producteurs de ne pas mettre sur le marché les lots de fromages dont sont issus les prélèvements, dans l'attente des résultats.

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

2.2. Identification des échantillons et recueil des commémoratifs

Cf. instruction technique générale DGAL/SDPRAT/2017-1019 et mode opératoire « Gestion des prélèvements » (OPE Prélèvement)

IMPORTANT

Chaque déplacement correspond à 2 prélèvements (*cf. paragraphe 2.1*) et donc à **2 interventions dans SIGAL**. Ainsi, à chaque déplacement, l'inspecteur crée une première intervention rattachée aux plans d'analyse PLISTMC et PSALMM (plan prévisionnel 555, 557 ou 559 selon la matrice prélevée) et une seconde intervention rattachée au plan d'analyse PSTEC (plan prévisionnel 556, 558 ou 560 selon la matrice prélevée).

Chaque échantillon doit être identifié sans ambiguïté immédiatement après le prélèvement à l'aide des étiquettes autocollantes présentes sur le pré-DAP, de manière à garantir sa traçabilité. Il doit être transmis au laboratoire accompagné du DAP papier, qui identifie la nature et l'origine du prélèvement.

La liste des descripteurs d'intervention à renseigner est présentée en annexe II.

Les descripteurs d'intervention à renseigner juste après le prélèvement sont :

- type établissement (MICROBIO) : fermier ou non fermier,
- agrément sanitaire UE : oui ou non,
- dénomination du produit,
- type de fromage (ST09) : fromage à pâte molle, fromage à pâte persillée ou pâte pressée non cuite,
- appellation d'origine protégée (AOP) : oui ou non,

- identification du lot : **il est indispensable de renseigner ce descripteur de manière identique pour les 2 interventions relatives au même déplacement**,
- date de l'envoi des prélèvements.

2.3. Conservation et envoi des prélèvements

Cf. instruction technique générale DGAL/SDPRAT/2017-1019 et mode opératoire « Gestion des prélèvements » (OPE Prélèvement)

Les échantillons prélevés sont maintenus au froid positif (température comprise entre +1°C et +5°C) jusqu'à leur arrivée au laboratoire (y compris pendant le transport).

Ils sont acheminés immédiatement (délai maximal de 36 heures) à un laboratoire d'analyses agréé :

- les échantillons faisant l'objet d'une recherche de *L. monocytogenes* et de *Salmonella spp.* sont transmis à un laboratoire agréé pour la recherche de *L. monocytogenes* et de *Salmonella spp.* (laboratoire disposant de l'agrément A),
- les échantillons faisant l'objet d'une recherche de STEC sont transmis à un laboratoire agréé pour la recherche de STEC.

2.4. Laboratoires destinataires des prélèvements

Cf. annexe 2 de l'instruction technique générale DGAL/SDPRAT/2017-1019

La liste et les coordonnées des laboratoires agréés pour la réalisation des analyses officielles dans le cadre des plans de surveillance et plans de contrôle sont consultables à l'adresse suivante :
agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-reconnus-methodes-officielles-en-alimentation
(*cf. fichier intitulé « PSPC annexe 4 – Liste des laboratoires agréés et données techniques générales par couple analyte matrice »*)

III - Gestion des échantillons

Laboratoires analystes

3.1. Critères d'acceptabilité des échantillons

En cas de non-respect de la température (température à cœur comprise entre +1°C et +5°C pour les produits réfrigérés – température d'ambiance au cours du transport comprise entre +1°C et +5°C pour les fromages prélevés en cave d'affinage) et/ou du délai d'acheminement (36 heures maximum) requis, les laboratoires agréés refusent les échantillons et en informent l'expéditeur.

3.2. Méthodes officielles

Cf. tableau A mis à disposition des laboratoires sur le portail Resytal https://alim.agriculture.gouv.fr/sial-portail/

Les analyses sont mises en œuvre par les laboratoires agréés dans les 36 heures suivant la réception des échantillons (maximum 72 heures entre le prélèvement et le début de l'analyse).

- *L. monocytogenes* et *Salmonella spp.*

Pour chacune des 5 unités qui constituent l'échantillon, les laboratoires agréés procèdent :

- à la recherche de *L. monocytogenes* dans 25 g selon la norme NF EN ISO 11290-1 « Microbiologie de la chaîne alimentaire – Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *L. monocytogenes* et *Listeria spp.* – Partie 1 : méthode de recherche »,

– au dénombrement de *L. monocytogenes* selon la norme NF EN ISO 11290-2 « Microbiologie de la chaîne alimentaire – Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *L. monocytogenes* et de *Listeria spp.* : Partie 2 – méthode de dénombrement »,
– à la recherche de *Salmonella spp.* dans 25 g selon la norme NF EN ISO 6579-1 « Microbiologie de la chaîne alimentaire – Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1 : recherche des *Salmonella spp.* »,
– au sérotypage des souches de *Salmonella* isolées, selon les recommandations techniques du Fascicule de Documentation FD CEN ISO/TR 6579-3 « Microbiologie de la chaîne alimentaire – Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et la sérotypie des *Salmonella* - Partie 3 : lignes directrices pour la sérotypie des *Salmonella spp.* ».

Les méthodes alternatives validées par rapport à la méthode de référence et certifiées par une tierce partie conformément au protocole défini dans la norme NF EN ISO 16140 (2003) ou la norme NF EN ISO 16140-2 (2016) ou à d'autres protocoles analogues reconnus au niveau international peuvent être utilisées, dans la mesure où la validation est réalisée par rapport à la méthode de référence sans aucune restriction (*cf. fichier « Microbiologie alimentaire – Liste des méthodes officielles »* à l'adresse http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-reconnus-methodes-officielles-en-alimentation). Il convient d'être vigilant sur l'existence d'éventuelles restrictions d'emploi, précisées sur l'attestation de validation correspondante. Ce cas concerne en particulier la non-détection des salmonelles immobiles lorsque le principe de la méthode alternative est fondé sur la mobilité des souches, alors que la méthode de référence détecte à la fois les souches mobiles et immobiles.

Le dénombrement de *L. monocytogenes* doit être mis en œuvre de façon simultanée à la recherche. Le seuil minimal de dénombrement est fixé à 10 ufc/g.

- STEC

Les méthodes officielles autorisées sont disponibles à l'adresse suivante :
http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-reconnus-methodes-officielles-en-alimentation

A partir de 2018, les analyses de dépistage et de confirmation sont réalisées par les laboratoires agréés, à l'exception de la recherche du sérotype O80:H2 (*cf paragraphe « Cas particulier de la recherche du sérotype O80:H2 » ci-dessous*).

Lors de l'étape de dépistage (ou analyse de première intention), les laboratoires agréés pour la recherche de STEC recherchent dans l'aliment les gènes *stx*, *eae* et les marqueurs associés à l'un des sérogroupes recherchés (hors O80).

Pour les échantillons « positifs présomptifs », c'est-à-dire présentant l'ensemble des facteurs recherchés à l'étape de dépistage (gènes *stx*, *eae* et marqueurs associés à l'un des sérogroupes recherchés), les laboratoires agréés pour la confirmation de STEC mettent ensuite en œuvre des analyses de confirmation (isolements sur géloses, confirmations sur colonies).
Lors de cette étape de confirmation, des souches AEEC des sérotypes ciblés peuvent être isolées (dans les bouillons positifs pour les gènes *stx* et *eae*).

Les méthodes alternatives validées et certifiées par une tierce partie conformément au protocole défini dans la norme ISO 16140-2 (2016) peuvent être utilisées pour les analyses officielles lorsqu'elles seront disponibles sur le marché.

Les laboratoires qui utilisaient la méthode Pall GeneDisc par autorisation temporaire en attente de validation selon le protocole ISO 16140-2 peuvent continuer à l'utiliser jusqu'à fin 2018, date à laquelle AFNOR Certification aura validé les premières méthodes alternatives.

IMPORTANT

En accord avec la DGAL, et dans le cadre des activités d'épidémiosurveillance du Laboratoire National de Référence (LNR), **tout échantillon ayant révélé la présence du gène *stx*, avec ou sans la présence du gène *eae*, doit obligatoirement être envoyé au LNR** pour confirmation de la présence de souches STEC au sens large.

Ainsi, les bouillons d'enrichissement (eau peptonée tamponnée, minimum de 10 mL) et les extraits d'ADN doivent être transmis au LNR sans délai, sous régime du froid positif (2°C/8°C), accompagnés de la fiche de demande d'analyse en vigueur du LNR disponible à l'adresse suivante : http://www.vetagro-sup.fr/services/espace-entreprises/%C3%A9quipements-scientifiques/plateaux-techniques/lmap (rubrique « analyses »).
Les coordonnées du LNR sont les suivantes :

Laboratoire d'études des Micro-organismes Alimentaires Pathogènes (LMAP) / LNR STEC
VetAgro Sup – Campus vétérinaire de Lyon
Bâtiment GALTIER Niveau 0
69280 MARCY L'ÉTOILE
Tél : 04 78 87 25 51 / Fax : 04 78 87 26 59

Cet envoi **systématique** est d'autant plus important que **la recherche du sérotype O80:H2 par le LNR se fait à partir de ces échantillons**.

Le laboratoire agréé ayant réalisé l'analyse de première intention doit prévenir le LNR du nombre d'échantillons envoyés, par messagerie électronique, aux trois adresses suivantes :
umap-diagnostic@vetagro-sup.fr
christine.mazuycruchaudet@vetagro-sup.fr
delphine.sergentet@vetagro-sup.fr

Cas particulier de la recherche du sérotype O80:H2 :
Les laboratoires agréés ne disposent pas à l'heure actuelle des outils permettant d'effectuer la recherche du sérotype O80:H2.
C'est donc le LNR qui doit rechercher spécifiquement le sérotype O80:H2 dans tous les échantillons ayant révélé la présence des gènes *stx* et *eae* (bouillons d'enrichissement) transmis par les laboratoires agréés (*cf encadré « Important » ci-dessus*).

3.3. Expression des résultats

Cf. fiches de plan PSTEC, PLISTMC et PSALMM

Les laboratoires d'analyses sélectionnés, qualifiés pour les échanges de données informatisés, expriment les résultats d'analyses conformément aux fiches de plan en vigueur.

3.4. Transmission des résultats

Cf. instruction technique générale DGAL/SDPRAT/2017-1019

Dans l'hypothèse où des mesures de gestion spécifiques devraient être mises en œuvre après confirmation d'une souche STEC ou AEEC cible, il convient que les résultats non négatifs (= « positifs présomptifs »), obtenus lors des analyses de première intention, soient communiqués aux DD(CS)PP dans un délai maximum de 48 heures à compter de la réception des échantillons par le laboratoire agréé (hors week-end). Les résultats des analyses complémentaires et de confirmation sont transmis aux DD(CS)PP. Un délai moyen de 24 à 72 heures (hors week-end et jours fériés) est nécessaire pour les étapes de confirmation, d'isolement et de caractérisation des souches suspectes.

En cas de résultat non-conforme (présence de *L. monocytogenes* ou de *Salmonella spp.* ou d'une souche STEC ou AEEC cible), les laboratoires avertissent immédiatement (par téléphone ou e-mail) la DD(CS)PP « donneur d'ordre ».

Tous les résultats (y compris ceux relatifs à la recherche des souches STEC O80:H2 mise en œuvre par le LNR) sont saisis par les laboratoires agréés dans SIGAL, au fur et à mesure de leur obtention, et doivent être disponibles au plus tard le 1er février 2019.

3.5. Transmission des souches identifiées

- *L. monocytogenes*

Une souche par échantillon de *L. monocytogenes* isolée lors des recherches et dénombrements (quels que soient les résultats de ces dénombrements) devra être transmise au LNR avec la fiche de renseignement spécifique (contact : lnr.listeria-monocytogenes@anses.fr), à l'adresse suivante :

Anses
Laboratoire de Sécurité des Aliments, site de Maisons-Alfort
Unité SEL « *Salmonella* et *Listeria* »
Équipe Référence et Surveillance
Bâtiment Monod, 2nd étage
22 rue Pierre et Marie Curie
94701 MAISONS-ALFORT CEDEX

- *Salmonella spp.*

Une souche par sérotype et par échantillon devra être transmise par les laboratoires agréés au laboratoire associé au LNR, avec la fiche de renseignements spécifique du réseau *Salmonella* (contact : reseau.salmonella@anses.fr), à l'adresse suivante :

Anses
Laboratoire de Sécurité des Aliments, site de Maisons-Alfort
Unité SEL « *Salmonella* et *Listeria* »
Équipe Référence et Surveillance
Bâtiment Monod, 2nd étage
22 rue Pierre et Marie Curie
94701 MAISONS-ALFORT CEDEX

Pour *Listeria* et *Salmonella*, pour permettre une meilleure utilisation des données épidémiologiques disponibles et la réalisation d'examens complémentaires, les laboratoires agréés veilleront à indiquer sur la fiche de renseignements :
- que la souche a été isolée dans le cadre d'un plan de surveillance,
- les références de la présente instruction,
- le numéro du DAP correspondant,
- la date d'isolement de la souche.

- STEC

Les souches STEC isolées par les laboratoires agréés doivent être transmises au LNR pour un typage plus fin (*cf coordonnées du LNR au point 3.2*).

Les laboratoires agréés veilleront à préciser :
- que la souche a été isolée dans le cadre d'un plan de surveillance,
- les références de la présente instruction,
- le numéro du DAP correspondant.

Avant envoi, les souches doivent être conservées en géloses longue conservation par les laboratoires agréés.
Afin de limiter les coûts, un envoi groupé peut être réalisé, en fin de plan par exemple.
Le transport des souches STEC doit être réalisé dans des conditions particulières (UN2814).

IV - Gestion des échantillons non-conformes et mise en œuvre des mesures de gestion

DD(CS)PP

Cf. instruction technique générale DGAL/SDPRAT/2017-1019

Remarque préalable concernant la recherche de STEC :
En cas de résultat « positif présomptif », il est demandé aux DD(CS)PP d'informer la Mission des urgences sanitaires (MUS) par simple courriel, afin de mobiliser les équipes en cas de confirmation.

Tout résultat non-conforme (présence de *L. monocytogenes* ou de *Salmonella spp.* ou d'une souche STEC ou AEEC cible dans 25g) doit être communiqué sans délai par la DD(CS)PP au professionnel.

Les modalités de signalement en cas de détection d'une non-conformité sont définies dans l'instruction technique générale DGAL/SDPRAT/2017-1019 (cf annexe 5 – action n°1).
Si les produits ne sont pas encore mis sur le marché, le signalement est effectué par mail au Bureau d'appui à la surveillance de la chaîne alimentaire (BASCA) (basca.sdssa.dgal@agriculture.gouv.fr).
En revanche, **si les produits sont sur le marché**, il s'agit d'une alerte et le signalement est effectué par mail à la MUS (alertes.dgal@agriculture.gouv.fr), avec copie au BASCA. Les mesures de gestion sont prises en concertation avec la MUS.
Dans tous les cas, des investigations devront être conduites pour rechercher l'origine de la contamination et des actions correctives devront être mises en place par l'opérateur.

Attention : Certains cas correspondant à des fromages contaminés par *L. monocytogenes* à des concentrations inférieures à 100 ufc/g, ne sont pas des non-conformités et ne nécessitent pas de signalement à la DGAL. C'est le cas :

- si le fabricant est en mesure de démontrer par une étude de durée de vie que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant la durée de conservation, en particulier s'il peut fixer des valeurs intermédiaires, pendant le procédé, suffisamment basses pour garantir que cette limite ne sera pas dépassée au terme de la durée de conservation (cf. note de bas de page n°5 de la catégorie 1.2 du règlement (CE) n°2073/2005) ;
- pour les fromages ne permettant pas la croissance de *L. monocytogenes* (cf. note de bas de page n°8 de la catégorie 1.3 du règlement (CE) n°2073/2005) :
  - fromage ayant pH ≤ 4,4 ou a_w ≤ 0,92 ou pour lequel pH ≤ 5,0 et a_w ≤ 0,94 ;
  - fromage à durée de conservation ≤ 5 jours ;
  - présence d'éléments de justification scientifique.

V - Dispositions financières

DD(CS)PP, laboratoires analystes

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, groupe marchandise 430103.
Le financement des analyses réalisées par le LNR STEC est assuré par la DGAL par l'intermédiaire d'une convention établie avec VetAgro Sup.

Je vous demande de réaliser le plan cité en objet sur la base de l'ensemble des dispositions spécifiques explicitées dans la présente instruction.

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

Le directeur général adjoint de l'alimentation
Chef du service de la gouvernance et de l'international – CVO
Loïc EVAIN

ANNEXE I

Répartition des prélèvements par région

Région	Nombre d'échantillons à prélever						
	Vache		Brebis		Chèvre		Total
	Recherche *L. monocytogenes* + *Salmonella*	Recherche STEC	Recherche *L. monocytogenes* + *Salmonella*	Recherche STEC	Recherche *L. monocytogenes* + *Salmonella*	Recherche STEC	
Auvergne-Rhône-Alpes	136	136	0	0	10	10	292
Bourgogne-Franche-Comté	74	74	0	0	5	5	158
Bretagne	7	7	0	0	0	0	14
Centre-Val de Loire	0	0	0	0	19	19	38
Corse	0	0	7	7	9	9	32
Grand-Est	21	21	0	0	0	0	42
Hauts-de-France	13	13	0	0	0	0	26
Île-de-France	6	6	0	0	0	0	12
Normandie	30	30	0	0	0	0	60
Nouvelle-Aquitaine	22	22	23	23	6	6	102
Occitanie	23	23	43	43	13	13	158
Pays de la Loire	8	8	0	0	3	3	22
Provence-Alpes-Côte d'Azur	7	7	7	7	8	8	44
Total	**347**	**347**	**80**	**80**	**73**	**73**	**1000**

ANNEXE I bis

Répartition des prélèvements par région et par matrice

Région	Nombre d'échantillons à prélever	Vache			Brebis			Chèvre	Total
		Pâte molle	Pâte persillée	Pâte pressée non cuite	Pâte persillée	Pâte molle	Pâte pressée non cuite		
Auvergne-Rhône-Alpes	Total	40	40	192	-	-	-	20	292
	représentatifs production nationale	*16*	*30*	*76*	-	-	-	-	*122*
	fermiers	*24*	*10*	*116*	-	-	-	*20*	*170*
Bourgogne-Franche-Comté	Total	72	-	76	-	-	-	10	158
	représentatifs production nationale	*48*	-	*50*	-	-	-	-	*98*
	fermiers	*24*	-	*26*	-	-	-	*10*	*60*
Bretagne	Total	-	-	14	-	-	-	-	14
	représentatifs production nationale	-	-	-	-	-	-	-	-
	fermiers	-	-	*14*	-	-	-	-	*14*
Centre-Val de Loire	Total	-	-	-	-	-	-	38	38
	représentatifs production nationale	-	-	-	-	-	-	*12*	*12*
	fermiers	-	-	-	-	-	-	*26*	*26*
Corse	Total	-	-	-	-	-	14	18	32
	représentatifs production nationale	-	-	-	-	-	-	-	-
	fermiers	-	-	-	-	-	*14*	*18*	*32*
Grand-Est	Total	36	-	6	-	-	-	-	42
	représentatifs production nationale	*16*	-	*2*	-	-	-	-	*18*
	fermiers	*20*	-	*4*	-	-	-	-	*24*
Hauts-de-France	Total	20	-	6	-	-	-	-	26
	représentatifs production nationale	-	-	-	-	-	-	-	-
	fermiers	*20*	-	*6*	-	-	-	-	*26*
Île-de-France	Total	12	-	-	-	-	-	-	12
	représentatifs production nationale	*8*	-	-	-	-	-	-	*8*
	fermiers	*4*	-	-	-	-	-	-	*4*
Normandie	Total	60	-	-	-	-	-	-	60
	représentatifs production nationale	*30*	-	-	-	-	-	-	*30*
	fermiers	*30*	-	-	-	-	-	-	*30*
Nouvelle-Aquitaine	Total	8	-	36	-	8	38	12	102
	représentatifs production nationale	*2*	-	*14*	-	-	*4*	-	*20*
	fermiers	*6*	-	*22*	-	*8*	*34*	*12*	*82*

Occitanie	Total	4	-	42	60	26	-	26	158
	représentatifs production nationale	-	-	*24*	*60*	-	-	*4*	*88*
	fermiers	*4*	-	*18*	-	*26*	-	*22*	*70*
Pays de la Loire	Total	6	-	10	-	-	-	6	22
	représentatifs production nationale	-	-	*2*	-	-	-	-	*2*
	fermiers	*6*	-	*8*	-	-	-	*6*	*20*
Provence-Alpes-Côte d'Azur	Total	12	-	2	-	4	10	16	44
	représentatifs production nationale	-	-	*2*	-	-	-	-	*2*
	fermiers	*12*	-	-	-	*4*	*10*	*16*	*42*
Total	**Total**	**270**	**40**	**384**	**60**	**38**	**62**	**146**	**1000**
	représentatifs production nationale	***120***	***30***	***170***	***60***	***0***	***4***	***16***	***400***
	fermiers	***150***	***10***	***214***	***0***	***38***	***58***	***130***	***600***

Sur les 1000 prélèvements à effectuer :
- la moitié (500 prélèvements) concerne la recherche de *L. monocytogenes* et *Salmonella* ;
- l'autre moitié (500 prélèvements) concerne la recherche de STEC.

ANNEXE II

Commémoratifs du prélèvement

Libellé	Type	Valeur	Observations	Obligatoire
Type établissement (MICROBIO) « TYPETABIO »	LCU	Fermier / Non fermier	A saisir par la DD(CS)PP	Oui
Agrément sanitaire UE « AGRT_UE »	LCU	Oui / Non	A saisir par la DD(CS)PP Il s'agit de préciser si l'établissement dans lequel a été effectué le prélèvement dispose d'un agrément sanitaire UE « lait et produits laitiers »	Oui
Dénomination du produit « PRODDENOM »	ALPHA		A saisir par la DD(CS)PP	Oui
Type de fromage (ST09) « TYPFRM »	LCU	Fromage à pâte molle / Fromage à pâte persillée / Pâte pressée non cuite	A saisir par la DD(CS)PP	Oui
Appellation d'origine protégée « AOP »	LCU	Oui / Non	A saisir par la DD(CS)PP	Oui
Identification du lot « IDLOTAX »	ALPHA		A saisir par la DD(CS)PP	Oui
Date de l'envoi des prélèvements « DTENVPREL »	DATE		A saisir par la DD(CS)PP	Oui
Commentaires « CMNT »	ALPHA		A saisir par la DD(CS)PP	Non
Suite non-conformité PSPC « STNCFPSPC »			A saisir par la DD(CS)PP	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 et d'analyse

Analytes recherchés	*Listeria monocytogenes* + *Salmonella spp.*	STEC (sérotypes O157:H7, O26:H11, O103:H2, O145:H28, O111:H8, O80:H2)
Produits alimentaires concernés	Fromages au lait cru (hors pâtes pressées cuites)	
Espèces	Bovine, ovine, caprine	
Quantité minimum à prélever	100 g	
Nombre d'unités (n) par échantillon prélevé	5	1
Conditionnement	Emballage d'origine ou conditionnement stérile	
Conservation avant analyse	Froid positif (température comprise entre +1°C et +5°C)	
Délai d'acheminement au laboratoire	36 heures maximum	
Laboratoires de première intention (destinataires des prélèvements)	Laboratoires agréés pour la recherche de *L. monocytogenes* **et** de *Salmonella spp.*	Laboratoires agréés pour la recherche de STEC
	(http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-reconnus-methodes-officielles-en-alimentation)	
Types de technique	Microbiologie	PCR + microbiologie
Matrices analysées	Fromages au lait cru (hors pâtes pressées cuites)	
Prise d'essai pour analyse	*L. monocytogenes* : 25 g *Salmonella spp.* : 25 g	25 g
Méthodes de référence	*L. monocytogenes* NF EN ISO 11290-1 et 11290-2 (ou méthode alternative validée et certifiée par tierce partie) *Salmonella spp.* Détection : NF EN ISO 6579-1 Sérotypage : FD CEN ISO/TR 6579-3 (ou méthode alternative validée et certifiée par tierce partie)	Dépistage : Méthode LNR adaptée de l'ISO TS 13136:2012 : Méthode LMAP/DGAL/Screening PCR STEC-al.2[7] Confirmation : Méthode LNR adaptée de l'ISO TS 13136:2012 : Méthode LMAP/DGAL/Confirmation isolement STEC-al.1 (http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-reconnus-methodes-officielles-en-alimentation)
Seuil de détection	*L. monocytogenes* : Présence dans 25 g *Salmonella spp.* : Présence dans 25 g	Présence dans 25 g
Seuil de numération	*L. monocytogenes* : 10 ufc/g	-
Limites critères règlement (CE) n°2073/2005	*L. monocytogenes* - Absence dans 25 g (n = 5, c = 0) à la production si aucun élément de justification - 100 ufc/g (n = 5, c = 0) tout au long de la durée de vie si justification[8] *Salmonella spp.* Absence dans 25 g (n = 5, c = 0)	-

7 Les laboratoires, qui utilisaient la méthode Pall GeneDisc par autorisation temporaire en attente de validation selon le protocole ISO 16140-2, peuvent continuer à l'utiliser jusqu'à fin 2018.
Les méthodes alternatives validées et certifiées par une tierce partie conformément au protocole défini dans la norme ISO 16140-2 (2016) peuvent être utilisées pour les analyses officielles lorsqu'elles seront disponibles sur le marché.

8 Éléments de justification définis dans les renvois aux notes de bas de page du chapitre 1 de l'annexe I du règlement (CE) n°2073/2005

ANNEXE IV

Fiche « mémo » pour le préleveur

Référence de l'instruction	DGAL/SDSSA/2018-9 du 29 décembre 2017
Plans prévisionnels associés dans SIGAL	✗ NAT – 555-pdts laitiers;transfo;fromages lait cru vache;Salmo Listeria ✗ NAT – 556-pdts laitiers;transfo;fromages lait cru vache;STEC ✗ NAT – 557-pdts laitiers;transfo;fromages lait cru brebis;Salmo Listeria ✗ NAT – 558-pdts laitiers;transfo;fromages lait cru brebis;STEC ✗ NAT – 559-pdts laitiers;transfo;fromages lait cru chèvre;Salmo Listeria ✗ NAT – 560-pdts laitiers;transfo;fromages lait cru chèvre;STEC
Objectifs du plan	✗ Vérifier la conformité des fromages au lait cru par rapport à la réglementation ✗ Estimer le taux de contamination par STEC, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella spp.* des fromages au lait cru les plus à risque et comparer les données avec celles des plans précédents ✗ Disposer de données relatives aux fromages issus de la filière fermière ✗ Disposer de données qui seront utilisées dans le cadre de l'exportation de fromages au lait cru vers les pays tiers
Période de prélèvement	Du 2 janvier au 31 décembre 2018
Stade de prélèvement	Production
Matrice à prélever	Fromages au lait cru de vache, de brebis et de chèvre (hors pâtes pressées cuites) → **Se référer à la répartition régionale établie**
Analytes recherchés	*Listeria monocytogenes* + *Salmonella spp.* + STEC (sérotypes O157:H7, O26:H11, O103:H2, O145:H28, O111:H8, O80:H2)
Sélection des prélèvements	Prélèvements aléatoires
Réalisation du prélèvement	A chaque déplacement, effectuer 2 prélèvements de fromages **appartenant au même lot de fabrication :** ✗ un prélèvement de **5 unités** pour la recherche de *L. monocytogenes* et de *Salmonella spp.* ✗ un prélèvement de **1 unité** pour la recherche de STEC Chaque unité prélevée pèse au minimum 100 g. Les prélèvements sont réalisés en toute fin de production ou en cours d'affinage, sur des **produits prêts à être mis sur le marché**. Si le produit prélevé n'est pas conditionné, le prélèvement est effectué dans les conditions d'hygiène appropriées afin d'éviter toute contamination.
Recueil des informations relatives au prélèvement	A récupérer **au moment du prélèvement** ✗ Dénomination du produit ✗ Type de fromage ✗ Appellation d'origine protégée : oui ou non ✗ Numéro de lot
Conservation du prélèvement	Froid positif : température comprise entre +1°C et +5°C
Saisie des descripteurs dans SIGAL	✗ Type établissement (MICROBIO) « TYPETABIO » : fermier ou non fermier ✗ Agrément sanitaire UE « AGRT_UE » : oui ou non ✗ Dénomination du produit « PRODDENOM » ✗ Type de fromage (ST09) « TYPFRM » : fromage à pâte molle ou fromage à pâte persillée ou pâte pressée non cuite ✗ Appellation d'origine protégée « AOP » : oui ou non ✗ Numéro de lot « IDLOTAX » ✗ Date de l'envoi des prélèvements « DTENVPREL »
Envoi du prélèvement	**Acheminement immédiat** (arrivée au laboratoire maximum 36h après le prélèvement) Froid positif Recherche de *L. monocytogenes* et *Salmonella spp.* Laboratoire destinataire = laboratoire agréé pour les analyses de *Listeria monocytogenes* et de *Salmonella* (agrément A) Recherche de STEC Laboratoire destinataire = laboratoire agréé pour les analyses de STEC (http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-reconnus-methodes-officielles-en-alimentation)
Gestion des résultats non-conformes	Résultat non conforme pour STEC = présence d'une souche STEC ou AEEC cible dans 25 g Résultat non conforme pour *L. monocytogenes* = présence dans 25 g si aucun élément de justification **ou** 100 ufc/g tout au long de la durée de vie si justification Résultat non conforme pour *Salmonella* = présence dans 25 g ✗ Produits non mis sur le marché : **Signalement à la DGAL/SDSSA/BASCA** ✗ Produits mis sur le marché : **Signalement à la DGAL/MUS** – copie DGAL/SDSSA/BASCA **Actions à mener** définies en concertation avec la MUS