Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE

Direction générale de l'alimentation **Sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments** **Bureau de la surveillance des denrées alimentaires et des alertes sanitaires** Adresse : 251, rue de Vaugirard 75 732 PARIS CEDEX 15 Dossier suivi par : Mathieu PINSON Tél. : 01 49 55 54.61 Réf. interne :	**NOTE DE SERVICE** **DGAL/SDSSA/N2006-8281** **Date: 05 décembre 2006** Classement : SSA 134.2

Le Ministre de l'agriculture
et de la pêche
à
Mesdames et Messieurs les Préfets de
départements

Date de mise en application : 2 janvier 2007
Abroge et remplace :
Date limite de réponse :
Nombre d'annexes: 3
Degré et période de confidentialité : Plan de diffusion restreint aux destinataires

Objet : Plan de surveillance de la résistance aux antibiotiques de certaines bactéries sentinelles dans les denrées animales et d'origine animale.

Base juridique :
- règlement (CE) n° 178/2002
- règlement (CE) n° 882/2004
- Directive 2003/99/CE du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003 sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques.

MOTS-CLES : antibiorésistance, plan de surveillance, denrées.

Résumé :
La présente note de service a pour objet la mise en place du plan d'échantillonnage de denrées animales et d'origine animale, en vue de surveiller la sensibilité des *E. coli* à certains antibiotiques autorisés comme médicaments vétérinaires ou additifs dans l'alimentation des animaux. Cette surveillance se situe dans le prolongement du programme de surveillance mis en place sur les animaux à l'abattoir.

/...

Destinataires	
Pour exécution : - Directions départementales des services vétérinaires - Laboratoires vétérinaires départementaux	Pour information : - Préfets - DDAF - Inspecteurs généraux vétérinaires interrégionaux - Brigade nationale d'enquêtes vétérinaires phytosanitaires - AFSSA / INVS - DGS - DGCCRF

1. Stratégie d'échantillonnage

1.1 Plan de surveillance

La surveillance de la résistance aux antibiotiques en France est réalisée depuis 1999 par la DGAL en collaboration avec l'AFSSA.

La directive 2003/99/CE « zoonoses » a désormais inscrit explicitement la résistance aux antibiotiques comme un paramètre à surveiller. A ce titre, les Etats membres ont pour obligation de mettre en place des plans de surveillance et de transmettre chaque année à la Commission européenne un rapport des résultats de ces plans. Pour répondre aux exigences communautaires, la France doit mettre en place le plan de surveillance défini dans la présente note.

1.2 Définition du nombre national de prélèvements retenu

Le nombre total de prélèvements à effectuer dans les denrées est fixé à 1000 dans la filière avicole et la filière porcine.

La répartition entre les départements est réalisée en vue d'obtenir un échantillonnage globalement représentatif de la production française en tonnage d'animaux abattus.

1.3 Couples analytes / matrices

Les prélèvements consistent à rechercher certaines bactéries sentinelles dans des produits de découpe, produits avec ou sans peau pour la volaille (poulet et dinde), produits de type escalope ou « côte » pour les porcins.

Les isolements de bactéries sentinelles et les tests d'antibiorésistance sont menés de la façon suivante :

- isolement d'*Escherichia coli* sur milieu sélectif par un laboratoire vétérinaire départemental,

- évaluation des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de certains antibiotiques d'intérêt en médecine humaine ou vétérinaire par l'AFSSA-Fougères.

1.4 Lieux de prélèvement

Les prélèvements doivent être effectués de préférence en atelier de découpe afin de minimiser la dépréciation des produits faisant l'objet de prélèvements. Les départements qui ne disposent pas d'ateliers de découpe pour les espèces concernées doivent prélever les échantillons de viande dans un ou plusieurs abattoirs du département.

1.5 Critères de ciblage

Les prélèvements sont effectués par les agents des directions départementales des services vétérinaires (DDSV). Les produits à prélever sont choisis autant que possible de façon aléatoire.

Lorsque plusieurs prélèvements sont réalisés le même jour, il convient de répartir les prélèvements entre des produits issus de plusieurs lots d'abattage différents. L'obligation de mise en place de la traçabilité devrait vous permettre de disposer des informations nécessaires au niveau des chaînes d'abattage et des ateliers de découpe.

2. Mode opératoire des prélèvements

2.1 Période de réalisation des prélèvements

Les prélèvements devront être réalisés du 2 janvier 2007 au 30 novembre 2007.

2.2 Réalisation des prélèvements en atelier de découpe

2.2.1 Nombre de départements concernés

46 départements sont concernés par ce plan.

2.2.2 Répartition des prélèvements au niveau départemental

La répartition des prélèvements par département figure en annexe I. Au sein de chaque département, vous veillerez à répartir les prélèvements dans différents établissements de découpe ou le cas échéant dans différents abattoirs.

2.2.3 Nature des analytes recherchés

Les analyses réalisées sur les prélèvements de viandes de découpe consistent en un isolement de souches d' *Escherichia coli* sur milieu sélectif*.*

2.2.4 Types d'échantillons

Chaque prélèvement est constitué de **40 g minimum** de viande, avec ou sans peau.

2.2.5 Modalités de prélèvement

Les modalités pratiques de prélèvement sont identiques à celles qui sont mises en œuvre en vue d'une analyse microbiologique classique, soit en respectant les règles d'asepsie, soit quand c'est possible, en prélevant une unité déjà conditionnée par l'exploitant.

2.2.6 Laboratoires destinataires des prélèvements

Les prélèvements effectués sont envoyés au laboratoire départemental d'analyse de votre choix, en mesure de réaliser l'isolement *d'E. coli.*

Les souches, mises sur milieu de transport (microtube de gélose de conservation ou écouvillons de charbon actif) seront envoyées à l'AFSSA Fougères (LERMVD La haute marche 35133 JAVENE) qui réalise la caractérisation de l'antibiorésistance, accompagnées des renseignements prévus à l'annexe III et des renseignements sur les prélèvements inscrits sur le DAP[1] par les DDSV.

Les laboratoires réalisant l'isolement sélectif des *E. coli* doivent regrouper les souches isolées et réaliser des envois groupés en particulier lorsque les prélèvements prévus sont nombreux. Il convient cependant de réaliser ces envois en les répartissant régulièrement dans le temps (une fois par mois au minimum) afin que le laboratoire de l'AFSSA Fougères puisse organiser son travail dans les meilleures conditions.

2.3 Identification des échantillons

Les échantillons sont identifiés à l'aide des étiquettes auto-collantes présentes sur le pré-DAP. Une étiquette du pré-DAP est collée sur le pot plastique ou le sac plastique stérile contenant le prélèvement, ou sur le sac plastique contenant les produits déjà conditionnés par l'exploitant.
Toutes les rubriques du pré-DAP puis du DAP doivent être renseignées soigneusement.

2.4 Facturation des analyses :

Le 1er laboratoire concerné facture à la DDSV (qui lui a fait parvenir des échantillons) la prestation d'isolement et les frais d'envoi des souches bactériennes.

[1] DAP : Document d'accompagnement du prélèvement.

3. Analyse : exigences minimales

Méthode d'isolement d'E. coli.

Deux méthodes d'isolement sont possibles :

- la méthode de routine NF V 08-053.

- une méthode non normalisée proposée par l'AFSSA Fougères et présentée en annexe II qui comporte une étape d'enrichissement.

4. Transmission des résultats

Le suivi de réalisation de ce plan sera effectué sous SIGAL. Les DDSV n'ont aucun résultat d'antibiorésistance à transmettre à la DGAL.

Les résultats de ce programme sont diffusés sous la forme d'un rapport national regroupant l'ensemble des travaux effectués pour la surveillance de la résistance aux antibiotiques de certaines souches bactériennes.

°

Je vous demande de bien vouloir accorder une attention particulière au bon déroulement de ce plan de surveillance, qui est l'un des outils essentiels mis en place par la Direction générale de l'Alimentation pour assurer la surveillance des antibiorésistances, en vue de leur maîtrise, chez les bactéries d'origine animale. Je vous invite à faire part à la DGAL (Sous-Direction de la sécurité sanitaire des aliments, bureau de la surveillance des denrées alimentaires et des alertes sanitaires), des difficultés éventuelles que vous pourriez rencontrer dans la mise en œuvre de ce plan.

Le Directeur Général de l'Alimentation

Jean Marc BOURNIGAL

ANNEXE I

LIEUX DE L'ECHANTILLONNAGE

Nombre de prélèvements à effectuer

N°	Département	Région	Nb de prélèvements de découpes de poulet	Nb de prélèvements de découpes de dindes	Nb de prélèvements de découpes de porcs
67	Bas-Rhin	Alsace	3	0	5
24	Dordogne	Aquitaine	5	0	5
33	Gironde		2	0	0
40	Landes		6	1	0
64	Pyrénées-Atlantiques		3	0	12
03	Allier	Auvergne	3	0	13
43	Haute-Loire		3	0	0
63	Puy-de-Dôme		3	0	5
14	Calvados	Basse-Normandie	2	0	0
50	Manche		0	0	15
61	Orne		3	5	0
58	Nièvre	Bourgogne	2	0	0
71	Saône-et-Loire		10	5	0
89	Yonne		5	4	0
22	Côtes-d'Armor	Bretagne	22	20	76
29	Finistère		28	25	69
35	Ille-et-Vilaine		14	0	71
56	Morbihan		48	42	60
18	Cher	Centre	2	4	0
28	Eure-et-Loir		5	6	0
37	Indre-et-Loire		2	3	0
41	Loir-et-Cher		6	7	0
45	Loiret		2	2	7
25	Doubs	Franche-Comté	0	0	5
70	Haute-Saône		0	0	5
11	Aude	Languedoc-Roussillon	0	0	5
87	Haute-Vienne	Limousin	0	0	5
12	Aveyron	Midi-Pyrénées	0	0	7
32	Gers		3	0	5
31	Haute-Garonne		2	0	4
81	Tarn		3	0	5
59	Nord	Nord-Pas-de-Calais	3	6	5
62	Pas-de-Calais		5	8	6
44	Loire-Atlantique	Pays de la Loire	10	4	0
49	Maine-et-Loire		13	7	6
53	Mayenne		13	7	33
72	Sarthe		4	2	15
85	Vendée		52	23	0
02	Aisne	Picardie	0	0	5
60	Oise		0	0	5
16	Charente	Poitou-Charentes	0	4	0
79	Deux-Sèvres		4	8	25
01	Ain	Rhône-Alpes	3	0	11
26	Drôme		3	3	5
38	Isère		3	4	0
42	Loire		0	0	5
Total			**300**	**200**	**500**

ANNEXE II

Plan de surveillance de la résistance aux antibiotiques de certaines bactéries sentinelles dans les denrées animales et d'origine animale : produits de découpe de volailles et de porc

PROTOCOLE d'ISOLEMENT des *E. coli* dans les viandes

1 Si les échantillons de viande arrivent congelés au laboratoire, au moment de l'analyse les laisser décongeler à température ambiante jusqu'à avoir un produit suffisamment réchauffé pour être assez mou et permette le prélèvement, mais à une température aux environs de O°C ; soit surveiller très attentivement les produits en décongélation.

2 Si les échantillons de viande arrivent réfrigérés au laboratoire et ne sont pas analysés immédiatement, ils seront stockés entre 0 et 4°C jusqu'à analyse.

3 Peser 10 g d'échantillon de viande dans un récipient stérile ou directement dans le sac stomacher.

4 Diluer au ¼ dans de l'**eau peptonée tamponnée** et bien homogénéiser à l'aide du Stomacher.

5 D'une part faire un pré-enrichissement sélectif en **bouillon BLBVB** ou équivalent (Lauryl Sulfate, bouillon glutamate…), en inoculant 1 ml dans 9 ou 10 ml de bouillon. Incuber le tube pendant 18-24 heures à 37°C.

6 D'autre part faire un isolement direct en surface sur **gélose TBX,** si possible avec la méthode spirale (50 µl) afin d'obtenir des colonies isolées en périphérie si l'échantillon est fortement contaminé, ou sinon faire un isolement de 100 µl en surface au râteau. Incuber la boite d'isolement pendant 18-24 heures à 37°C ou à 44°C suivant les habitudes.

7 Si des colonies sont apparues sur l'isolement direct, il est possible de réaliser l'isolement d'une souche. Le dénombrement n'est pas obligatoire.

8 Si rien n'a poussé sur la boite d'isolement direct, refaire un isolement en surface sur **gélose TBX** à partir du bouillon BLBVB et incuber de nouveau pendant 18-24 heures à 37°C ou 44°C.

9 Sélectionner une colonie isolée caractéristique d'*E. coli* au hasard sur **gélose TBX** (à partir de l'isolement direct ou après pré-enrichissement) et la réisoler sur ce même milieu. Incuber pendant 18-24 heures à 37°C ou 44°C.

10 Si l'isolement est pur, gratter la surface de la gélose soit avec un écouvillon conservé dans du charbon actif ou soit par piqûre centrale en microtube de gélose de conservation.

11 Envoyer une souche d'*E. coli* par prélèvement de viande, accompagnées de sa fiche de prélèvement et sa fiche d'isolement à l'AFSSA Fougères pour identification par PCR et étude de la sensibilité aux antibiotiques.

ANNEXE III

Plan de surveillance de la résistance aux antibiotiques de bactéries sentinelles dans les denrées animales et d'origine animale : produits de découpe de volailles et de porc

FICHE d'ISOLEMENT

PRELEVEMENT

Envoi d'une copie du DAP transmis par la DDSV au laboratoire avec le prélèvement.

ANALYSE

- Nom du laboratoire :
- Nom de la personne responsable :
- Date d'arrivée au laboratoire : .....
- Numéro de la souche isolée : .....
- Dates d'analyse :
- Milieu sélectif d'isolement utilisé :
- Bouillon de pré-enrichissement :
- Dénombrement bactérien éventuel :
- Moyen de conservation :
  - ☐ gélose de conservation
  - ☐ écouvillon de charbon actif
  - ☐ autre

Remarques (modifications éventuelles par rapport au protocole proposé) :