**ORDRE DE SERVICE**

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTERE DE
L'AGRICULTURE
ET DE LA PECHE

| | |
|---|---|
| **Direction générale de l'alimentation**<br><br>**Sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments**<br><br>**Bureau de la surveillance des denrées alimentaires et des alertes sanitaires**<br><br>Adresse : 251, rue de Vaugirard<br>75 732 PARIS CEDEX 15<br>Dossier suivi par : Laurence GIULIANI<br>Tél. : 01.49.55.84.94 | **NOTE DE SERVICE**<br>**DGAL/SDSSA/N2007-8095**<br>**Date: 16 avril 2007**<br>Classement : SSA 134.2 |

Le Ministre de l'agriculture, et de la pêche
à

Date de mise en application :
Abroge et remplace :
Date limite de réponse :
Nombre d'annexe : 1
Degré et période de confidentialité : Public ciblé (plan de diffusion, organismes sous tutelle du MAP et établissements d'enseignement relevant du MAP)

**Objet : résultats du plan de surveillance 2006 de la contamination par *Escherichia coli* STEC (ex VTEC) dans les viandes hachées réfrigérées**

**Bases juridiques :** Note de service DGAL/SDSSA/N2006-8204 du 16 août 2006
Note de service DGAL/SDSSA/N2006-8220 du 11 septembre 2006

**MOTS-CLES :** plan de surveillance – viandes hachées - *E. coli* STEC

**Résumé :** Cette note présente le bilan des résultats des analyses de détection des *Escherichia coli* STEC effectuées à partir des échantillons de viandes hachées réfrigérées prélevés dans le cadre du plan de surveillance 2006.

| **Destinataires** | |
|---|---|
| Pour information :<br>- DDSV<br>- DDSV-R<br>- UMAP-ENVL<br>- AFSSA-LERQAP<br>- Laboratoires départementaux d'analyses<br>- Laboratoires nationaux de référence<br>- Laboratoire vétérinaire de Rungis | et :<br>- Préfets<br>- IGVIR<br>- BNEVP<br>- ENSV<br>- INFOMA<br>- InVS<br>- DGCCRF<br>- DGS |

## 1. CONTEXTE

### *1.1. Contexte réglementaire*

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.

### *1.2. Objectifs et motivation du plan*

L'objectif de ce plan est d'estimer la prévalence de la contamination des viandes hachées réfrigérées, préemballées ou préparées à la demande, par des *Escherichia coli* pathogènes producteurs de shigatoxines (STEC), et d'étudier la répartition des différents facteurs de pathogénicité.

### *1.3. Modalités de mise en œuvre du plan*

Ce plan est basé sur un échantillonnage aléatoire de 33 départements représentant 15 régions, associé à une pondération locale du nombre de prélèvements selon l'effectif de la population, le nombre total de prélèvements prévu ayant été fixé à 1 000 échantillons d'une unité.

Les prélèvements prévisionnels ont été répartis dans plusieurs établissements, entre deux catégories :

- 500 échantillons de viandes hachées préemballées, fabriquées dans un atelier non agréé annexé à une GMS, ou dans un établissement agréé,
- 500 échantillons de viandes hachées préparées à la demande, en provenance de bouchers détaillants et de GMS.

## 2. ANALYSES

### *2.1. Caractères de pathogénicité*

Les souches productrices de shigatoxines (STEC) considérées comme pathogènes sont les souches appartenant :

- au sérotype O157:H7,
- aux sérogroupes O26, O103, O111 ou O145, présentant les gènes de virulence *stx1* et/ou *stx2*, et *eae*.

### *2.2. Méthode d'analyse*

Compte tenu de la complexité de la caractérisation de la pathogénicité des souches d'*E. coli* STEC, la méthode d'analyse mise en œuvre comprend une étape d'enrichissement, suivie d'une extraction de l'ADN et d'une recherche des gènes *stx* codant pour les shigatoxines par technique PCR.

Les échantillons trouvés positifs en PCR *stx* donnent lieu :

- d'une part, à la recherche d'*E. coli* O157:H7 par la méthode validée AFNOR VIDAS-ECO,
- d'autre part, à la détection des marqueurs génétiques des sérogroupes O26, O103, O111 et O145 par PCR,

suivies, en cas de résultat(s) positif(s), de l'isolement par technique IMS (immuno-séparation magnétique), de l'identification et de la caractérisation des souches par la recherche des gènes de virulence *stx1*, *stx2*, *eae*, et *hly.*
Ils sont en parallèle analysés par la méthode d'hybridation sur colonies.

## 3. RESULTATS

### *3.1. Réalisation du plan*

Les prélèvements ont été effectués dans 33 départements (32 départements concernés par le tirage au sort et un département supplémentaire).

| Nombre d'unités analysées | Prévu | Réalisé | Taux de réalisation |
|---|---|---|---|
| VH préemballées | 500 | 363 | 73 % |
| VH préparées à la demande | 500 | 433 | 87 % |
| TOTAL | 1 000 | 796 | 80 % |

Le nombre d'unités prélevées et analysées est donc inférieur à celui prévu initialement. Le déficit concerne essentiellement la région Ile-de-France qui a fait l'objet de 42 prélèvements dans 2 départements au lieu des 218 programmés dans 3 départements, ce qui représente 86% des échantillons manquants.

La répartition entre les deux catégories n'a par ailleurs pas été respectée, le nombre d'unités préemballées étant nettement moins élevé que celui des viandes hachées préparées à la demande.

### *3.2. Répartition des prélèvements en fonction du type d'établissements de provenance*

| Type d'établissements de provenance | Nombre |
|---|---|
| VH préparées à la demande chez un boucher détaillant | 314 (39,4 %) |
| VH préparées à la demande en GMS | 119 (14,9 %) |
| VH préemballées fabriquées dans un atelier non agréé annexé à une GMS | 15 (1,9 %) |
| VH préemballées fabriquées dans un établissement agréé | 348 (43,7 %) |
| Nombre total d'échantillons analysés | 796 |

### *3.3. Récapitulatif des résultats obtenus*

| Nombre | Négatif | Positif | |
|---|---|---|---|
| | | Nombre | % et [intervalle de confiance à 95%] |
| Résultats PCR *stx* | 739 (92,8%) | **57** | **7,2%** [5,4-9,3] |
| Souches d'*E. coli* STEC isolées | 45 | **12** | **1,5%** [0,8-2,6] |
| Souches d'*E. coli* STEC appartenant aux sérogroupes O157, O26, O103, O111, O145 | 0 | 0 | 0 [0,0-0,5] |

Sur les 796 échantillons analysés, 57 ont donné des signaux positifs en PCR pour les amorces *stx*, soit 7,2% des unités de viande hachée.

Ce pourcentage est nettement inférieur à celui attendu, qui se situe aux alentours de 20%. L'état de conservation des échantillons semble être à l'origine de résultats faussement négatifs. S'agissant de viandes hachées réfrigérées, le développement de la flore annexe est en effet très rapide. Le délai d'acheminement des échantillons aux laboratoires n'a pas toujours permis de garantir le respect de la chaîne du froid dans de bonnes conditions, ce qui a pu favoriser le développement d'une microflore annexe très préjudiciable à la mise en évidence des *E. coli* STEC, du fait d'un phénomène de compétition masquant la présence des souches de STEC.

La répartition par département des 57 prélèvements PCR *stx* positifs est détaillée en annexe I, ainsi que les types d'établissements de provenance. Les viandes hachées préemballées présentent un plus fort pourcentage de positivité, en comparaison des viandes hachées préparées à la demande. Ces résultats sont néanmoins à interpréter avec prudence compte tenu de l'état de conservation des échantillons analysés, signalé précédemment.

Ces échantillons ont donné lieu à des investigations complémentaires destinées à rechercher les souches d'*E. coli* éventuellement présentes et à étudier leurs caractéristiques. Au total, sur les 57 viandes hachées ayant présenté un résultat positif en PCR *stx*, 12 souches d'*E. coli* STEC ont été isolées par hybridation sur colonies, soit 1,5% des échantillons analysés, 2 souches provenant d'un même échantillon. Aucune de ces souches n'appartient aux sérogroupes recherchés (O157, O26, O103, O111 et O145).

Deux souches d'*E. coli* appartenant au sérogroupe O103 ont par ailleurs été isolées par IMS à partir de deux autres échantillons, mais leur caractérisation génétique a indiqué qu'elles ne correspondaient pas à des STEC.

Les profils de virulence des souches isolées sont les suivants.

### *3.4. Profils de virulence des souches isolées*

La répartition des gènes de virulence identifiés sur les 12 souches d'*E. coli* STEC isolées est détaillée dans le tableau suivant. Une souche présente les gènes *stx2* et *eae* associés, mais n'appartient pas à un des sérogroupes reconnus comme pathogènes.

| Gènes de virulence | Nombre de souches |
|---|---|
| *stx1* | 2 |
| *stx2* | 4 |
| *eae* | 1 |
| *stx1 + stx2* | 1 |
| ***stx2 + eae*** | **1** |
| *stx2 + hly* | 1 |
| *stx1 + stx2 + hly* | 2 |
| Total | 12 |

## 4. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

### *4.1. Conclusion*

Aucune souche d'*E. coli* STEC considérée comme pathogène appartenant aux cinq sérogroupes recherchés (O157:H7, O26, O103, O111 et O145) n'a été isolée à partir des 796 échantillons testés lors des analyses effectuées sur les viandes hachées réfrigérées dans le cadre du plan de surveillance 2006.

### *4.2. Perspectives*

La surveillance de la contamination par les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) est maintenue en 2007. Les denrées concernées sont les viandes hachées conservées sous froid négatif et certains fromages au lait cru, à pâte molle et à croûte fleurie. Compte tenu de la faible prévalence de la présence d'une souche d'*E. coli* STEC pathogène, estimée aux environs de $1^0/_{00,}$ le plan d'échantillonnage prévoit l'analyse de 4 000 unités de viande hachée, correspondant chacune à un lot distinct, selon les recommandations de l'AFSSA, afin d'obtenir la meilleure estimation possible de la prévalence au niveau national, en tenant compte des habitudes de consommation et en pondérant le nombre de prélèvements par la population recensée dans chaque département.

Compte tenu du biais dans l'échantillonnage réalisé en 2006 (région Ile-de-France sous-représentée), ainsi que du faible pourcentage de résultats PCR *stx* positifs observé et de la sous-évaluation probable du nombre d'échantillons contaminés par des *E. coli* STEC, il sera nécessaire de renouveler un plan de surveillance portant sur les viandes hachées réfrigérées. Des précautions devront être prises pour l'acheminement des échantillons aux laboratoires réalisant les analyses, afin de garantir un état de conservation compatible avec les contraintes analytiques spécifiques de la recherche des *E. coli* producteurs de shigatoxines.

La Directrice Générale Adjointe
C.V.O.Monique ELOIT

ANNEXE I

Répartition des échantillons *stx* positifs par département

| Département | Nombre d'échantillons analysés | Echantillons positifs PCR *stx* |
|---|---|---|
| | | Nombre |
| 02 Aisne | 25 | 1 |
| 03 Allier | 16 | 5 |
| 13 Bouches-du-Rhône | 53 | 1 |
| 22 Côtes-d'Armor | 25 | 7 |
| 24 Dordogne | 19 | 5 |
| 39 Jura | 12 | 3 |
| 41 Loir-et-Cher | 15 | 1 |
| 44 Loire-Atlantique | 56 | 4 |
| 47 Lot-et-Garonne | 15 | 4 |
| 49 Maine-et-Loire | 34 | 1 |
| 50 Manche | 23 | 3 |
| 54 Meurthe-et-Moselle | 34 | 2 |
| 63 Puy-de-Dôme | 29 | 1 |
| 69 Rhône | 77 | 8 |
| 75 Paris | 27 | 4 |
| 83 Var | 45 | 1 |
| 84 Vaucluse | 24 | 2 |
| 90 Territoire-de-Belfort | 7 | 2 |
| 94 Val-de-Marne | 15 | 2 |
| **Total** | **551** | **57** |

Types d'établissements de provenance des échantillons *stx* positifs

| Type d'établissements de provenance | Nombre d'échantillons analysés | Echantillons positifs PCR *stx* | |
|---|---|---|---|
| | | Nombre | % et [intervalle de confiance à 95%] |
| VH préparées à la demande chez un boucher détaillant | 314 | 12 | 3,8% [2,0-6,7] |
| VH préparées à la demande en GMS | 119 | 6 | 5,0% [1,9-11,0] |
| VH préemballées fabriquées dans un atelier agréé ou non agréé (*) | 363 | 39 | 10,7% [7,6-14,7] |
| **Total** | **796** | **57** | **7,2% [5,4-9,3]** |

(*) Les données disponibles n'ont pas permis d'affiner la distinction entre atelier non agréé annexé à une GMS et établissement agréé.