



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE

Direction générale de l'alimentation Sous-direction de la réglementation, de la recherche et de la coordination des contrôles Adresse : 251, rue de Vaugirard 75 732 Paris Cedex 15 Suivi par : A.BLANC-GONNET Tél : 01 49 55 81 49 Fax : 01 49 55 49 61 Réf. Interne : SDRRCC/ABG Réf. Classement : NS candidature E.coli 181007	NOTE DE SERVICE DGAL/SDRRCC/N2007-8264 Date: 24 octobre 2007 Classement : OTA 323
--	---

Date de mise en application : immédiate
Annule et remplace : néant
Date limite de réponse: 5 novembre 2007
Nombre d'annexe : 1
Degré et période de confidentialité : tout public

Objet : Appel à candidatures pour la mise en place d'un réseau de laboratoires agréés pour la recherche d'*Escherichia coli* par PCR

Bases juridiques :

- Articles L. 202-1 et R. 202-8 et suivants du code rural
- Directive 2003/99/EC 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

Résumé : La présente note de service constitue l'appel à candidatures du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche pour la mise en place d'un réseau de laboratoires agréés pour la recherche d'*Escherichia coli* par PCR.

MOTS-CLES : *Escherichia coli* – Laboratoire – Agrément

Destinataires	
Pour exécution :	Pour information :
- Laboratoires vétérinaires départementaux - Laboratoire d'études et de recherche sur la qualité des aliments et sur les procédés agro-alimentaires (AFSSA - Maisons-Alfort) - Laboratoire national de référence	- Préfets - Directeurs départementaux des services vétérinaires - Brigade nationale d'enquêtes vétérinaires et phytosanitaires - Ecole nationale des services vétérinaires - INFOMA

Contexte

Afin de compléter les données de prévalence obtenues dans le cadre du plan de surveillance 2007, en cours de réalisation, portant sur la contamination par *Escherichia coli* STEC (VTEC) des viandes hachées surgelées¹, il est planifié, pour l'année 2008, un plan de surveillance de la contamination des minerais utilisés pour la fabrication de ces mêmes viandes hachées.

Il est prévu de prélever 4 000 minerais destinés à la fabrication de steaks hachés surgelés, répartis de la façon suivante :

- 2 400 minerais réfrigérés d'origine française,
- 1 600 minerais congelés échangés.

Seront sélectionnés les minerais comportant du tissu conjonctif sous-cutané, donc composés de muscles superficiels (ex. minerais constitués de poitrines ou de jarrets de boeuf).

Les prises d'essais pour analyse devront être constituées d'échantillons de **75g d'excisions superficielles de tissu conjonctif sous-cutané**.

Le prélèvement, effectué au niveau des établissements, correspondra à une quantité déterminée de minerais (5 kg), acheminée au **laboratoire qui réalisera les excisions de surface, directement pour le minerai réfrigéré, après décongélation une nuit en chambre froide pour le minerai congelé**. Un protocole sera fourni par le LNR aux laboratoires retenus.

Il est prévu, dans la majorité des cas, la mise en place de contrôles libératoires par les professionnels. Le délai de communication des résultats du screening (**négatif** ou **suspect à confirmer**) est fixé à **48 heures** à compter de la réception des échantillons au laboratoire (décongélation 1 nuit + enrichissement 18 à 24h + réalisation des tests PCR).

Caractéristiques du réseau à constituer

Les échantillons seront soumis à un test de screening : il s'agit de la **recherche des gènes *stx* des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines par méthode PCR temps réel**. Un mode opératoire détaillé (méthode développée à l'AFSSA-LERQAP) sera communiqué par l'école nationale vétérinaire de Lyon (ENVL), laboratoire national de référence pour ***Escherichia coli*, y compris *E. coli* vérotoxino-gènes (VTEC)**, aux laboratoires retenus. La méthode d'extraction des acides nucléiques à base de silice est préconisée pour purifier l'ADN. Un contrôle interne sera disponible. L'utilisation des brevets déposés par l'AFSSA sera ouverte à titre gracieux aux laboratoires retenus, pour la réalisation d'analyses effectuées dans un cadre officiel.

La prestation assurée par les laboratoires agréés devra comprendre :

- la réalisation des excisions de surface pour la prise d'essai,
- l'analyse RT-PCR de détection des gènes *stx*,
- l'envoi des échantillons positifs à l'ENV Lyon.

¹ Note de service DGAL/SDSSA/N2006-8292 du 11 décembre 2006 – Objet : Plan de surveillance de la contamination par *Escherichia coli* STEC (ex VTEC) dans les viandes hachées et dans les fromages au lait cru.

Les laboratoires candidats doivent :

- avoir une expérience significative des analyses PCR temps réel réalisées en routine pour d'autres pathogènes dans les aliments ;
- disposer d'un appareil RT-PCR, compatible avec la technologie « TaqMan® » ;
- disposer d'un robot permettant l'automatisation de l'extraction/purification de l'ADN ;
- être capable de respecter un délai de communication des résultats fixé à 48h à compter de la réception des échantillons ;
- être accrédité par le COFRAC pour le programme n°59.

Le réseau comprendra 4 laboratoires agréés, répartis comme suit, afin de prendre en compte la distribution géographique des établissements de fabrication de steaks hachés surgelés sur le territoire national :

- 1 pour les régions Nord-Pas-de-Calais, Picardie, Champagne-Ardenne, Lorraine, Alsace, Bourgogne, Franche-Comté et Ile-de-France,
- 1 pour les régions Auvergne, Rhône-Alpes, Languedoc-Roussillon, Provence-Alpes-Côte-d'Azur, Aquitaine, Midi-Pyrénées, Poitou-Charentes et Limousin,
- 1 pour les régions Centre, Basse-Normandie et Haute-Normandie,
- 1 pour les régions Bretagne et Pays-de-la-Loire.

Le nombre d'échantillons à analyser dans chaque laboratoire est estimé entre 800 et 1 200.

Les laboratoires dont la candidature aura été retenue devront participer à l'essai inter-laboratoires d'aptitude organisé par le LNR au cours du mois de décembre 2007.

Dossier de demande d'agrément et délai de réponse

Les dossiers de candidature devront être adressés **avant le 5 novembre 2007** à :

Direction générale de l'alimentation
Sous-direction de la réglementation, de la recherche et de la coordination des contrôles
251 rue de Vaugirard
75732 PARIS CEDEX 15

Ces dossiers devront être constitués des pièces suivantes :

- a) l'acte de candidature, selon le modèle en [annexe](#) ;
- b) les noms, qualifications et titres des signataires des résultats ;
- c) la description et le justificatif des compétences du laboratoire dans le domaine des analyses de recherche de pathogène dans les aliments par méthode de biologie moléculaire ;
- d) la description du matériel dont dispose le laboratoire pour la réalisation des analyses de recherche de pathogène dans les aliments par méthode de biologie moléculaire ;
- e) les solutions substitutives qui seront mises en œuvre dans les cas de force majeure empêchant, de façon provisoire, la réalisation des analyses officielles selon les modalités prévues ;
- f) si possible, l'estimation des capacités journalières d'analyse du laboratoire ;
- g) tout autre document utile pour l'évaluation du dossier.

L'acte de candidature (pièce a) devra être également envoyé par courrier électronique à l'adresse suivante : brla.sdrcc.dgal@agriculture.gouv.fr

Examen des candidatures

Les candidatures seront notamment évaluées en fonction des critères suivants :

- le niveau de compétence du laboratoire ;
- la possession d'une accréditation COFRAC pour le programme 59 ;
- la possession du matériel cité ci-dessus ;
- la capacité du laboratoire à rendre les résultats dans les délais fixés ;
- la localisation géographique du laboratoire.

La Directrice Générale Adjointe
C.V.O.

Monique ELOIT

**ANNEXE :
Acte de candidature et engagement**

Je soussigné (*nom et qualité*)
Responsable du laboratoire d'analyses (*raison sociale*)
.....
Statut du laboratoire d'analyses
Numéro SIRET
Numéro d'accréditation.....
Sis (*adresse*).....
Nom, téléphone et adresse électronique du principal interlocuteur pour ce dossier
.....
.....

Sollicite l'agrément du laboratoire désigné ci-dessus
pour la recherche d'*Escherichia coli* STEC (VTEC) par méthode PCR.....

Dès la délivrance de l'agrément, je m'engage à ce que le laboratoire dont j'ai la responsabilité :

- Respecte les articles L. 202-1 et L. 202-4 du code rural et tout texte pris pour leur application ;
- Réalise les analyses selon les méthodes préconisées par le LNR pour *Escherichia coli*, y compris *E. coli* vérotoxigènes (VTEC) ;
- Entretienne en permanence sa compétence pour le type d'analyse faisant l'objet de l'agrément ;
- Informe le ministre chargé de l'agriculture (Direction générale de l'alimentation) de sa décision d'arrêter ou de suspendre la réalisation des analyses officielles faisant l'objet de l'agrément au moins 3 mois à l'avance.

Je suis informé que cet agrément pourra être suspendu ou retiré en cas de manquement à l'une ou plusieurs des conditions d'agrément.

Fait à....., le.....

Cachet du Laboratoire

Signature du responsable