INFORMATION

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTERE DE L'ALIMENTATION, DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE

Direction générale de l'alimentation **Service de la Coordination des actions sanitaires** **Sous direction du pilotage et des politiques sanitaires transversales** **Bureau des laboratoires et de la coordination des contrôles officiels** **Adresse** : 251, rue de Vaugirard - 75 732 PARIS CEDEX 15 **Suivi par :** Denis LUCAS - **Tél**. : 01 49 55 58 86 **Courriel institutionnel** : blacco.sdppst.dgal@agriculture.gouv.fr **NOR :** AGRG0928082N **Réf. Interne** : SDPPST/ BLACCO/09/693	**NOTE DE SERVICE** **DGAL/SDPPST/N2009-8316** **Date: 24 novembre 2009**

Date de mise en application :immédiate
Date limite de réponse :09 décembre 2009
Nombre d'annexe :1
Degré et période de confidentialité :tout public

Objet : Appel à candidatures pour l'élargissement d'un réseau de laboratoires agréés pour les plans de surveillance et les plans de contrôle *E. coli* STEC.

Textes de référence:

-**Règlement (CE) n°882/2004 du 29 avril 2004** du Parlement européen et du Conseil 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 ;
http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2004R0882:20081110:FR:PDF

-**Règlement (CE) n°2073/2005 du 15 novembre 2005** de la Commission concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires ;
http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2005R2073:20071227:FR:PDF

-**Articles L. 202-1 et R. 202-8** et suivants du code rural ;
http://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do;jsessionid=E75C6EE7346729126E1471A9DCEB3C5C.tpdjo12v_1?idArticle=LEGIARTI000006583031&cidTexte=LEGITEXT000006071367&dateTexte=20090602

-**Arrêté du 19 décembre 2007** «fixant les conditions générales d'agrément des laboratoires d'analyses dans le domaine de la santé publique vétérinaire et de la protection des végétaux» ;
http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000017936605&fastPos=1&fastReqId=1864864412&categorieLien=id&oldAction=rechTexte

-Note de service DGAL/SDPPST/N2009-8211 du 22/07/2009 listant les « laboratoires agréés pour la réalisation des analyses officielles dans le domaine de la microbiologie des aliments ».

Résumé: La présente note de service constitue l'appel à candidatures et précise les modalités de désignation des laboratoires agréés pour les analyses de *E. coli* STEC dans le cadre des plans de surveillance et des plans de contrôle.

Mots-clés: Microbiologie alimentaire - Laboratoire - Agrément - Analyse officielle - Contrôle officiel – PSPC

Destinataires	
Pour information : - Laboratoires départementaux d'analyses - Directeurs départementaux des services vétérinaires - Préfets - DRAAF	- ADILVA -AFLABV - SCL -LNR : ENVL (UMAP)

1. Base réglementaire du contrôle officiel

Au sens de l'article R. 202-1 du code rural, une analyse officielle est définie comme toute analyse, effectuée par un laboratoire, d'un échantillon prélevé dans le cadre d'un contrôle officiel. Le terme contrôle officiel concerne tout audit, inspection, vérification, prélèvement, examen, ou toute autre forme de contrôle par les services de l'Etat compétents ou leurs délégataires, en vue d'assurer le respect des dispositions des titres II, III et V du livre II du code rural et des textes pris pour leur application.

L'article R. 202-8 du code rural prévoit que seuls des laboratoires agréés à cette fin par le Ministre chargé de l'Agriculture peuvent réaliser les analyses officielles.

Les conditions de délivrance de l'agrément prévoient que les laboratoires sont accrédités pour les méthodes mises en œuvre, toutefois une période d'agrément provisoire est prévue pour les laboratoires non encore accrédités qui demanderaient à être agréés.

2. Objectifs du réseau

Un réseau de laboratoires a été agréé par NS DGAL/SDPPST/N2009-8211 du 22 juillet 2009. La spécificité analytique requise pour la détection des *E. coli* STEC conduit à identifier un réseau supplémentaire, de laboratoires agréés pour cette recherche.

Ce réseau sera mobilisé en tant que de besoin, et selon les instructions données par note de service, notamment dans le cadre des plans de surveillance annuels qui préciseront qui du LNR ou du réseau de laboratoires agréés sera chargé des analyses de dépistage et des éventuelles confirmation.

Obtenir le présent agrément ne conduit donc pas automatiquement à être destinataire de tous les prélèvements potentiels de demande de détection de *E. coli* STEC dans un contexte officiel. La note de service qui listera les établissements agréés retenus contiendra une annexe précisant le logigramme de répartition des prélèvements entre le LNR et les laboratoires agréés.

3. Méthodes officielles

Les shiga-toxines Stx1 et Stx2, codées par les variants du gène *stx*, *stx_1* et *stx_2*, et l'intimine, codée par le gène *eae*, sont les protéines majeures impliquées dans le pouvoir pathogène des souches d'*E. coli* STEC responsables de maladie chez l'homme.

La méthode de détection des *E. coli* STEC dans les aliments mise en œuvre par les laboratoires agréés sera une **méthode de screening** et aura pour but de mettre en évidence les facteurs de virulence, *stx_1, stx_2* et *eae*, en faisant appel à la PCR en temps réel selon le protocole décrit dans le projet de spécification technique (TS) ISO relative à la méthode de détection des *E. coli* STEC dans les aliments et les aliments pour animaux (« Méthode horizontale pour la détection des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-Toxines appartenant aux sérogroupes O157, O111, O26, O103 et O145 – Méthode basée sur la PCR temps réel qualitative).

Le principe général de la méthode de détection mise en œuvre par les laboratoires agrées comprendra les étapes suivantes :

- **enrichissement de la matrice alimentaire** ce qui permettra aux souches de STEC éventuellement présentes de se multiplier jusqu'à atteindre des niveaux détectables, et de façon préférentielle par rapport aux autres microorganismes présents dans ces matrices ;

- **extraction des acides nucléiques** selon un protocole d'extraction éprouvé pour l'extraction d'ADN des bactéries à coloration de Gram négative ;

- **amplification et détection par technique de PCR temps réel des gènes *stx₁, stx₂* et *eae*** après émission d'une fluorescence libérée suite à l'activité 5' de la polymérase en utilisant les amorces, sondes et contrôles internes indiqués pas le LNR.
A ce sujet, 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. Cependant, il sera nécessaire de formaliser cet accord par la signature d'un document limitant l'utilisation gratuite des brevets aux analyses effectuées dans un cadre public (tel que contrôles officiels, plans de surveillance et de contrôle/ investigations de Tiac) alors que les analyses ayant d'autres finalités (telles qu'autocontrôles, prestations de service) devront donner lieu à une utilisation sous licence.

Le protocole détaillé de détection des *E. coli* STEC sera diffusé par le LNR, sur demande à chacun des laboratoires candidats.

Les résultats obtenus sur bouillon d'enrichissement seront des résultats présomptifs de la présence d'*E. coli* STEC qui devront être confirmés par le LNR.

4. Critères de sélection des laboratoires candidats.

a) Généralités

Les laboratoires candidats doivent notamment répondre aux conditions détaillées dans les articles R. 202-8 à R. 202-13 du code rural et dans les articles 2 et 7 à 10 de l'arrêté du 19 décembre 2007.

b) Préalable à l'examen du dossier

Les laboratoires candidats doivent être agréés pour la recherche des *E. coli* O157.

c) Eléments constitutifs du dossier de demande d'agrément

Pour les laboratoires candidats ayant déjà déposé un dossier pour la recherche des *E. coli* O157, leur demande de candidature pour le présent appel sera simplifiée et devra comprendre les éléments suivants :

- l'acte de candidature, selon le modèle situé en annexe 1;
- les noms, qualifications et titres des signataires des résultats;
- les solutions substitutives qui seront mises en oeuvre dans les cas de force majeure empêchant, de façon provisoire, la réalisation des analyses officielles selon les modalités prévues.

d) Critères d'évaluation des dossiers de demande d'agrément

Les candidatures des laboratoires seront notamment évaluées sur dossier en fonction des critères suivants:

Les laboratoires candidats doivent :

- être agréés pour la recherche de *E. coli* O157 ;
- avoir une expérience significative des analyses en PCR temps réel, attestée notamment par des agréments pour des dépistages mettant en œuvre cette méthode ;
- disposer d'un protocole d'extraction des acides nucléiques éprouvé pour l'extraction d'ADN des bactéries à coloration de Gram négative ;
- disposer d'un appareil en PCR temps réel compatible avec la technologie « TaqMan® » ;
- s'engager à respecter les délais de communication des résultats qui pourront être, selon l'urgence, réduits à 48h à compter de la réception des échantillons ; ce délai sera adapté dans les autres situations précisées par instruction ;
- être qualifiés pour la transmission informatisée des résultats par Sigal.

Les laboratoires candidats retenus devront alors participer avec succès aux deux étapes suivantes :

- le suivi d'une formation théorique **et** pratique organisée par le LNR au cours du mois de Janvier 2010 (le LNR organise une session théorique au mois de décembre 2009).
- la réussite aux essais inter-laboratoires d'aptitude organisés par le LNR organisé au cours du mois de Janvier 2010.

L'agrément pour le dépistage de *E. coli* STEC leur sera alors délivré.

L'agrément pour la recherche d'*E. coli* STEC est subordonné à la capacité du laboratoire à réaliser la recherche d'*E. coli* O 157, conformément aux dispositions prévues dans l'article R202-9 du code rural.
La durée de l'agrément pour la recherche d'*E. coli* STEC ne pourra excéder celle de l'agrément *E. coli* O 157.
Dès lors qu'une accréditation sera possible pour la recherche de tous les *E. coli* STEC d'intérêt, les laboratoires agréés pour cette analyse en seront informés par courrier individuel et auront 18 mois pour obtenir cette accréditation.

Le maintien de l'agrément délivré sera conditionné au respect permanent des obligations listée dans les articles R. 202-16 à R. 202-31 du code rural (obligations des laboratoires agréés)

5. Laboratoire national de référence

Le laboratoire national de référence pour cette analyse est :

Ecole nationale vétérinaire de Lyon (ENVL)
LNR *Escherichia coli* STEC
Unité de Microbiologie alimentaire et prévisionnelle (UMAP)
Aile 3 niveau 1
1 avenue Bourgelat B.P. 63
69280 Marcy l'Etoile
Tél : 04 78 87 25 50
Fax : 04 78 87 26 69
Adresse e-mail : laboratoire.umap@vet-lyon.fr

Responsables :
D. Thevenot 04-78-87-25-99
E. Loukiadis 04-78-87-25-53
Adresses e-mail : d.thevenot@vet-lyon.fr ou e.loukiadis@vet-lyon.fr

6. Transmission des dossiers de demande d'agrément

Les dossiers de candidature devront être adressés **pour le 09 décembre 2009** au plus tard à :

Direction générale de l'alimentation
Sous direction du pilotage et des politiques sanitaires transversales
Bureau des laboratoires et de la coordination des contrôles officiels
251 rue de Vaugirard
75732 PARIS CEDEX 15

Le sous directeur du pilotage
et des politiques sanitaires transversales

Richard SMITH

Annexe I

Acte de candidature et engagement
***E. coli* STEC**

Je soussigné (*nom et qualité*) .....
Responsable du laboratoire d'analyses (*raison sociale*) .....
.....
Statut du laboratoire d'analyses .....
Numéro SIRET .....
Numéro d'accréditation.....
Sis (*adresse*).....

Sollicite l'agrément du laboratoire désigné ci-dessus pour les essais *suivants (lister les agréments demandés)*
.....
.....
.....
.....
Nom, téléphone et adresse électronique du principal interlocuteur pour ce dossier .....
.....
.....

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

1.Respecte les articles L.202-1 et L.202-4 du code rural et tout texte pris pour leur application ;

2.Réalise les analyses de recherche de .....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
selon les méthodes officielles ou recommandées par le ministre chargé de l'agriculture (direction générale de l'alimentation) ;

3. Entretienne en permanence sa compétence pour le type d'analyse faisant l'objet de l'agrément ;

4.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 de ces conditions

Fait à……., le……..

Cachet du Laboratoire **Signature du responsable**