**INFORMATION**

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

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


**Direction générale de l'alimentation**

Service de l'alimentation
Sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments
*Bureau des zoonoses et de la microbiologie alimentaires*

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*
251 rue de Vaugirard - 75352 Paris cedex 15

Suivi par : Laurence Giuliani
Tél : 01.49.55.84.94
Courriel institutionnel : bzma.sdssa.dgal@agriculture.gouv.fr

et par : Laurent Bazin
Tél : 01.49.55.44.38
Courriel institutionnel : blacco.sdppst.dgal@agriculture.gouv.fr



**NOR : AGRG1012763N**

Réf. Interne : NS gestion provisoire pb transia_V2.doc
MOD10.21 B 29/10/09


**NOTE DE SERVICE**

**DGAL/SDSSA/SDPPST/N2010-8138**

**Date: 11 mai 2010**

| | |
|---|---|
| Date de mise en application : | Immédiate |
| Annule et remplace : | Note de service DGAL/SDSSA/SDPPST/N2010-8090 du 31 mars 2010 |
| Nombre d'annexes : | 1 |
| Degré et période de confidentialité : | Tout public |

**Objet : Recherche des entérotoxines staphylococciques de type SEA à SEE dans les aliments - Dispositions transitoires relatives aux méthodes d'analyse.**

**Références** :

- Note de service DGAL/SDPPST/SDSSA/N2009-8136 du 12 mai 2009 : Recherche des entérotoxines staphylococciques de type SEA à SEE dans les produits laitiers
http://www.circulaires.gouv.fr/pdf/2009/05/cir_25913.pdf

- Note de service DGAL/SDPPST/SDSSA/N2009-8137 du 12 mai 2009 modifiée par note de service DGAL/SDSSA/N2010-8046 du 18 février 2010 : Recherche des entérotoxines staphylococciques de type SEA à SEE dans les échantillons autres que produits laitiers
http://www.circulaires.gouv.fr/pdf/2010/02/cir_30520.pdf


**Résumé :** L'AFSSA-LERQAP, laboratoire de référence national (LNR) et de l'Union européenne (LR-UE) pour les staphylocoques à coagulase positive (SCP), ayant mis en évidence un problème d'hétérogénéité dans la qualité des lots de réactif « Transia Plate Staphylococcal Enterotoxins », il est demandé à titre provisoire de ne plus utiliser cette méthode pour la recherche des entérotoxines staphylococciques dans les aliments. De façon transitoire, la trousse Ridascreen SET Total (R-Biopharm) est autorisée, mais uniquement pour le lait et les produits laitiers. De nouvelles informations seront communiquées dès que possible, en fonction des évaluations complémentaires en cours à l'AFSSA-LERQAP.



**Mots-clés** : Méthode d'analyse - Entérotoxines – *Staphylococcus aureus*


| **Destinataires** | |
|---|---|
| **Pour information** :<br>- DD(CS)PP<br>- DDSV d'Ile-de-France<br>- DSV des DOM<br>- DRAAF<br>- Préfets<br>- IGAPS | <br>- BNEVP<br>- DGCCRF<br>- DGS<br>- AFSSA-LERQAP<br>- ADILVA<br>- Laboratoires agréés en microbiologie des aliments |

# I - Contexte

Les méthodes d'analyse préconisées par l'AFSSA/LERQAP[1], laboratoire de référence national et de l'Union européenne pour les staphylocoques à coagulase positive, pour la recherche des entérotoxines staphylococciques de type SEA à SEE dans les aliments sont précisées par note de service.

La note de service DGAL/SDPPST/SDSSA/N2009-8136 du 12 mai 2009, relative aux produits laitiers, autorise deux méthodes pour les analyses officielles :

- Transia Plate Staphylococcal Enterotoxins (BioControl Systems),
- Vidas SET2 (bioMérieux).

L'annexe II de cette même note liste les trousses de détection des entérotoxines staphylococciques utilisables pour les autocontrôles.

Les matrices autres que les produits laitiers doivent être analysées avec la méthode décrite dans la note de service DGAL/SDPPST/SDSSA/N2009-8137 du 12 mai 2009, modifiée par note de service DGAL/SDSSA/N2010-8046 du 18 février 2010. Seule la méthode de détection Transia Plate Staphylococcal Enterotoxins a été validée à ce jour par l'AFSSA-LERQAP pour ces matrices.

# II - Difficultés rencontrées

## A - Problèmes observés avec le kit Transia Plate Staphylococcal Enterotoxins

L'AFSSA-LERQAP nous a informés que des problèmes sont actuellement observés avec la trousse Transia Plate Staphylococcal Enterotoxins, certains lots ne satisfaisant pas à l'ensemble des critères de performance évalués par le LERQAP.

En conséquence, il est demandé, à titre provisoire, de **ne plus utiliser la méthode de détection Transia Plate Staphylococcal Enterotoxins (BioControl Systems)**, en attendant qu'une solution soit proposée pour garantir la fiabilité des résultats des analyses effectuées.

## B - Evaluations complémentaires mises en œuvre

Face à cette situation, l'AFSSA-LERQAP a mis en œuvre des essais complémentaires afin de trouver rapidement des solutions permettant de remédier à ces difficultés.

Une étude intra-laboratoire utilisant la trousse **Ridascreen SET Total (R-Biopharm)** pour la détection des entérotoxines staphylococciques (ES) dans les produits laitiers a ainsi été réalisée par le LNR SCP, conformément à la norme NF EN ISO 16140:2003 « Microbiologie des aliments - Protocole pour la validation des méthodes alternatives ». Les résultats obtenus ont été satisfaisants. **La trousse Ridascreen SET Total peut ainsi être utilisée pour la détection des entérotoxines staphylococciques de type SEA à SEE dans le lait et les produits laitiers,** dans le cadre des autocontrôles et des contrôles officiels, **de façon transitoire** et dans l'attente d'une validation complète par un essai inter-laboratoires.

## C - Conséquences sur les méthodes d'analyse à utiliser

La méthode à utiliser pour les produits laitiers est composée d'une étape d'extraction par dialyse concentration (conformément à la note de service DGAL/SDPPST/SDSSA/N2009-8136 du 12 mai 2009) suivie d'une étape de détection réalisée :

- soit avec la trousse **Vidas SET2 (bioMérieux**),
- soit avec la trousse **Ridascreen SET Total (R-Biopharm)** ; les informations relatives à cette méthode sont détaillées en annexe I.

Pour les matrices autres que les produits laitiers, des instructions complémentaires seront communiquées aux services de contrôle par lettre à diffusion limitée pour ce qui concerne les analyses officielles.

[1] AFSSA-LERQAP – LR-UE/LNR pour les staphylocoques à coagulase positive (SCP) - volet entérotoxines (ES)
Unité CAT – Equipe CAT BAC - Pôle HQSA - 22 rue Pierre Curie – 94706 Maisons-Alfort Cedex

## III - Evaluations complémentaires

L'AFSSA-LERQAP met actuellement en œuvre des essais complémentaires afin de trouver rapidement des solutions permettant de remédier à ces difficultés, pour toutes les matrices. Les notes de service relatives à la recherche des entérotoxines staphylococciques seront mises à jour dès que possible afin d'intégrer les conclusions de ces évaluations quand celles-ci permettront de proposer une alternative à long terme.

Il est rappelé que le réseau de laboratoires agréés pour la détection des entérotoxines staphylococciques est directement animé par le LERQAP, qui les tient informés au fur et à mesure des dernières évolutions dans le cadre des études en cours.

Le Directeur Général Adjoint
Chef du Service de la Coordination
des Actions Sanitaires – C.V.O.

Jean-Luc ANGOT

ANNEXE I

# Détection à l'aide de la trousse Ridascreen SET Total (R-Biopharm) pour les matrices produits laitiers

## 1. Principe général

Ce test est fondé sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) et permet une détection qualitative globale des toxines SEA, SEB, SECs, SED et SEE. Des anticorps spécifiques des entérotoxines staphylococciques SEA à SEE sont greffés au fond d'une plaque de microtitration. Les ES présentes dans les échantillons à tester sont capturées par ces anticorps spécifiques. L'ajout du conjugué (anticorps marqués à la peroxydase) permet d'obtenir un complexe sandwich anticorps-antigène-anticorps-complexe. La révélation est réalisée par l'ajout d'une solution de substrat/chromogène dans les puits : la dégradation du substrat sous l'action enzymatique du conjugué se traduit par une coloration bleue. A ce stade, une lecture visuelle peut être effectuée. Après addition de la solution stop (les échantillons positifs passent d'une coloration bleue à une coloration jaune), les absorbances sont lues à l'aide d'un lecteur de microplaques à λ = 450 nm/630 nm.

## 2. Réactifs et matériels

- Trousse Ridascreen SET Total (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany), référence Art. N: R4105.
- Incubateur-agitateur de microplaques, **température d'incubation 35C - 37C.**
- Lecteur de microplaques **(λ = 450/630 nm).**

## 3. Détection

Pipeter 100 µL d'extrait concentré et réaliser le test Ridascreen SET Total selon les instructions du fabricant, **avec une lecture à double longueur d'onde (450/630 nm).**

## 4. Interprétation des résultats

Validation du test

L'absorbance du contrôle positif doit être supérieur ou égale à 1,0.

L'absorbance du contrôle négatif doit être inférieur ou égale à 0,10.

Le seuil de positivité (SP) est calculé à partir de l'absorbance du témoin négatif (T-), déposé à chaque série d'analyses, comme suit :

SP= absorbance T- + 0,15

Les résultats sont interprétés de la manière suivante :

- un échantillon est considéré comme négatif si sa valeur d'absorbance est inférieure au seuil de positivité ;
- un échantillon est considéré comme positif si sa valeur d'absorbance est supérieure ou égale au seuil de positivité.