

Surveillance des *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) dans les denrées alimentaires en France (2005-2011)

Estelle Loukiadis (1) (estelle.loukiadis@vetagro-sup.fr), Hélène Callon (2), Christine Mazuy-Cruchaudet (1), Valérie Vallet (3), Christine Bidaud (3), Franck Ferré (1), Laurence Giuliani (2), Laurine Bouteiller (2), Nathalie Pihier (2), Corinne Danan (2)

(1) Université de Lyon, VetAgro Sup, Laboratoire national de référence pour les *E. coli* (y compris STEC), Marcy l'Etoile, France

(2) Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt, Direction générale de l'alimentation, Bureau des zoonoses et de la microbiologie alimentaires, Paris, France.

(3) Ministère de l'économie, des finances et du commerce extérieur, Service commun des laboratoires, Laboratoire de Lyon, Oullins, France.

Résumé

Les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) sont des pathogènes majeurs en santé publique en raison de la sévérité des affections, parfois mortelles, qu'ils engendrent. En France, depuis 2002, huit épisodes de cas groupés d'infections ont été recensés, dont deux épidémies en 2011 et une en 2012. Les denrées alimentaires contaminées directement ou indirectement par le contenu digestif des animaux porteurs (bovins principalement) restent la principale source de contamination de l'Homme.

Les autorités sanitaires européennes veillent à la qualité et à la sécurité des aliments et ont défini un cadre réglementaire (paquet hygiène) qui s'applique de façon générale à la maîtrise des dangers, parmi lesquels les STEC: les professionnels de l'agroalimentaire ne doivent mettre sur le marché aucune denrée alimentaire considérée dangereuse pour la santé, et les autorités sanitaires doivent s'assurer que ces dispositions sont respectées au travers des contrôles officiels; des mesures de gestion proportionnées au risque sont mises en place en cas de détection de lots contaminés par des bactéries pathogènes, notamment des STEC.

Les plans de surveillance annuels mis en place par les autorités de contrôle montrent que les taux de contamination par des STEC pathogènes des aliments à risque sont faibles: inférieurs à 0,5 % pour les viandes hachées de bœuf (type d'aliment majoritairement incriminé lors d'épidémies), inférieurs à 0,9 % pour les fromages au lait cru et nul pour les graines germées ou à germer.

Après avoir rappelé quelques éléments du contexte sanitaire national, cet article décrit le système de surveillance français de la contamination des denrées alimentaires par les STEC pathogènes. Il présente les résultats obtenus lors des plans de surveillance et de contrôle des denrées d'origine animale et végétale « à risque » de 2005 à 2011.

Mots clés

STEC, EHEC, surveillance, viandes hachées de bœuf, fromages au lait cru, graines germées, graines à germer, France

Abstract

Surveillance of Shiga toxin-producing E. coli (STEC) in foodstuffs in France (2005-2011)

Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) are considered as major pathogens causing severe and sometimes lethal human infections. In France, since 2002, eight clustered cases of STEC infections have occurred including two outbreaks in 2011 and one in 2012. Transmission of STEC to humans occurs mainly through consumption of food contaminated directly or indirectly by animal faeces (cattle in particular).

European and French health authorities ensure quality and food safety and thus have defined a regulatory framework (Food law) which also applies to STEC hazard: the agribusiness professionals should not put on the market any food injurious to health and authorities must ensure compliance with these rules by, for example, setting up of official controls and management measures, the most appropriated to the STEC risk as possible.

The annual surveillance plans implemented by competent authorities show that rates of contamination of foodstuffs at higher risk with pathogenic STEC are low: less than 0.5 % for minced beef meat (main matrix incriminated in outbreaks), lower than 0.9 % for raw milk cheeses and null for sprouts or seeds.

After presenting some elements of the national health context, this paper describes the French monitoring system of the food contamination by pathogenic STEC. It presents the results obtained during the monitoring plans of 'at risk' foodstuffs of animal origin and plant from 2005 to 2011.

Keywords

STEC, EHEC, surveillance, minced beef meat, raw milk cheeses, sprouts, seeds, France

Depuis leur première identification en 1982 (Afssa, 2003), les *Escherichia coli* entérohémorragiques ou EHEC (pour *Enterohaemorrhagic E. coli*) sont considérés comme une préoccupation de santé publique importante dans plusieurs régions du monde du fait, non pas de la fréquence et de l'ampleur des infections humaines (quoi que plusieurs épidémies de grande ampleur aient eu lieu comme au Japon en 1996 avec plus de 9000 personnes atteintes, et en Europe l'année dernière avec près de 4000 patients touchés), mais de l'extrême gravité des symptômes qu'ils engendrent (Afssa, 2003). En effet, les EHEC sont responsables d'épidémies et de cas sporadiques de colite hémorragique et de syndrome hémolytique et urémique (SHU), parfois mortels chez le jeune enfant. Le SHU est la principale cause d'insuffisance rénale aiguë chez l'enfant de moins de trois ans. La létalité varie de 3 à 5 % et plus d'un tiers des malades conservent des séquelles rénales à long terme (Afssa, 2003).

Le réservoir naturel de ces pathogènes est le tube digestif des ruminants. Plusieurs denrées alimentaires contaminées directement ou indirectement par des déjections animales ont été identifiées comme

l'une des principales sources de contamination de l'Homme, lors des enquêtes réalisées dans les cas de SHU (Afssa, 2003).

L'ensemble des souches EHEC ne constitue pas un groupe homogène. Toutes les souches EHEC produisent une puissante toxine appelée shigatoxine (Stx) et sont donc toutes des souches STEC (pour Shiga toxin producing *E. coli*) c'est-à-dire des *E. coli* possédant au moins le gène *stx*. Mais toutes les souches STEC ne sont pas des EHEC, pathogènes pour l'Homme, et il est par conséquent indispensable pour l'évaluation du risque pour la santé publique lié à la présence de ces bactéries, en particulier dans les denrées alimentaires, de définir les profils de souches considérées comme les plus dangereuses. C'est la raison pour laquelle l'Afssa dans son avis du 15 juillet 2008 (N° 2008-SA-0122), précisé par l'avis du 27 mai 2010 (N° 2010-SA-0031) a défini les souches STEC dites « potentiellement hautement pathogènes » comme les souches possédant les caractéristiques des « EHEC typiques majeures » qui sont associées à 70 à 80 % des cas humains (Afssa, 2010, Brugère *et al.*, 2012).

La réglementation en vigueur depuis 2005 en matière de sécurité sanitaire des aliments, vise à ce qu'aucune denrée alimentaire dangereuse ne soit mise sur le marché, au sens du règlement CE N° 178/2002 (article 14). Dans le contexte du Paquet hygiène, le risque lié aux contaminations des aliments par des souches de STEC considérées comme pathogènes, doit être maîtrisé à la fois par le dispositif d'autocontrôle des professionnels produisant des aliments à risque (contrôles de premier niveau) et par le dispositif des contrôles officiels (contrôles de second niveau). Ces deux dispositifs de contrôle évoluent avec l'état des connaissances scientifiques et des techniques d'analyse dans un processus d'amélioration continue de l'analyse du risque sanitaire.

En s'appuyant sur les définitions détaillées dans le numéro spécial du *Bulletin épidémiologique* consacré aux risques alimentaires microbiologiques (Brugère *et al.*, 2012), le présent article rappelle quelques éléments du contexte sanitaire national, puis décrit le système de surveillance français de la contamination des denrées alimentaires par les STEC considérées comme hautement pathogènes et enfin présente et commente les résultats obtenus lors des différentes études mises en place dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle des denrées d'origine animale et végétale « à risque » de 2005 à 2011.

Contexte sanitaire national

Quelles sont les données relatives aux infections humaines dues aux souches STEC pathogènes (EHEC) en France ?

La majorité des cas de SHU recensés en France (96 %) correspond à des formes sporadiques. Entre 1996 et 2010, 1 378 cas de SHU ont été notifiés à l'Institut de veille sanitaire (InVS). L'incidence moyenne annuelle était de 0,8/10⁵ enfants de moins de 15 ans (extrêmes : 0,6/10⁵ en 1998 et 1,0/10⁵ en 2005 et en 2010) (King *et al.*, 2012a). Néanmoins, plusieurs épidémies et cas groupés d'infections sont survenus sur le territoire national depuis 2002 (Tableau 1).

Tableau 1. Epidémies et cas groupés d'infections dues aux EHEC recensés en France depuis 2002

Année	Sérogroupe/ types des souches EHEC impliquées	Nombre total de malades (Nb SHU)	Mode de transmission* (aliments incriminés)	Référence
2002	O148:H8	11 (2)	Alimentaire (Viande de mouton)	(Espié <i>et al.</i> , 2006a)
2004	O157:H7	3 (2)	Alimentaire (Fromage au lait cru de chèvre)	(Espié <i>et al.</i> , 2006b)
2005	O157:H7	69 (17)	Alimentaire (Viande hachée de bœuf congelée)	(King <i>et al.</i> , 2009)
2005	O26:H11/O80:H2	16 (16)	Alimentaire (Camembert)	(Espié <i>et al.</i> , 2005)
2009	O123:H-	2 (1)	Alimentaire (Hamburger)	(King <i>et al.</i> , 2010)
2011	O104:H4	15 (9)	Alimentaire (Germe de fenugrec)	(King <i>et al.</i> , 2012b)
2011	O157:H-/O177:H25	18 (18)	Alimentaire (Viande hachée de bœuf congelée)	(King <i>et al.</i> , 2012c)
2012	O157:H7	6 (4)	Alimentaire (Viande hachée de bœuf fraîche)	(Barre <i>et al.</i> , 2012)

* Mode de transmission déterminé selon des preuves à la fois microbiologiques et épidémiologiques, ou uniquement épidémiologiques

En ce qui concerne les caractéristiques des souches EHEC les plus fréquemment impliquées dans les cas de SHU pédiatriques (sporadiques et épidémiques), les souches EHEC typiques majeures (c'est-à-dire possédant les gènes de virulence *stx1* et/ou *stx2* et *eae* et appartenant à l'un des cinq sérogroupe O26, O103, O111, O145 ou O157) sont responsables de la grande majorité des cas (soit 95 % et 80 % des cas sur les périodes 1996-2006 et 2007-2008 respectivement) (Afssa, 2010).

Deux sérogroupe supplémentaires (O45 et O121) retiennent l'attention des épidémiologistes américains. En France, le sérogroupe O45 n'apparaît pas dans les cas humains recensés à ce jour et le sérogroupe O121 ne représente que 5 % et 1 % des cas de SHU associés à une infection à STEC respectivement en 2007 et 2008 (Afssa, 2010).

Réservoir bovin : quelle est la situation en France ?

Les ruminants, notamment les bovins, sont considérés comme le principal réservoir des souches STEC pathogènes pour l'Homme, mais d'autres espèces animales d'élevage ou sauvages peuvent également être porteuses de ces souches. Les porcs et les volailles n'ont quant à eux pas été identifiés comme des réservoirs potentiels (Afssa, 2003).

En général, le portage animal est asymptomatique (King *et al.*, 2012a). En France, deux études relatives au portage chez les bovins du sérogroupe O157 indiquent que le taux de portage chez les bovins testés varie entre 0,2 % (O157) (Pradel *et al.*, 2000) et 0,48 % (O157:H7) (Rapport ENVL, 2007). Des travaux récents relatifs au portage en filière de production de viande hachée, des souches considérées comme potentiellement hautement pathogènes (5 sérotypes) ont montré que leur prévalence était de 4,5 % chez les jeunes bovins laitiers, de 2,4 % chez les jeunes bovins à viande et de 1,0 % chez les vaches à viande (Bibbal *et al.*, 2012). Les souches STEC peuvent survivre, se multiplier et rester infectieuses pendant plusieurs semaines dans diverses matrices environnementales (lisiers, sols, eaux...) (Afssa, 2010, Brugère *et al.*, 2012, King *et al.*, 2012a).

La principale voie de transmission des STEC à l'Homme est l'ingestion d'aliments contaminés, mais le contact avec les animaux porteurs et excréteurs de ces bactéries ou leur environnement, l'ingestion d'eau contaminée ou une transmission de personne à personne (transmission interhumaine féco-orale) ont également été rapportés (Afssa, 2003).

Les principaux aliments à risque ont été identifiés à partir des données épidémiologiques mondiales disponibles (Afssa, 2003) : i) les viandes crues ou peu cuites de bœuf et éventuellement d'autres ruminants, les viandes hachées, la viande de bœuf fermentée et les produits à base de viande de bœuf fermentée, ii) le lait cru et les produits au lait cru, iii) les produits frais, notamment des graines germées et les jus de fruits et de légumes non pasteurisés.

Notons que ces dernières années, d'autres types d'aliments ont également été mis en cause (salades, chou fermenté, cookies non cuits, glace artisanale...).

Contexte réglementaire : les exigences du Paquet hygiène

Les contrôles de premier niveau : les autocontrôles des professionnels

D'après le règlement (CE) n° 178/2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire (règlement (CE) 2002), aucune denrée alimentaire préjudiciable à la santé et/ou impropre à la consommation ne peut être mise sur le marché, en tenant compte notamment des conditions normales d'utilisation, de l'information fournie au consommateur, ainsi que de la sensibilité spécifique de certains consommateurs.

De plus, si un exploitant considère qu'un aliment n'est pas sûr pour la santé humaine ou animale, il engage immédiatement les procédures de retrait du marché et en informe les autorités compétentes. Lorsque le produit peut avoir atteint le consommateur, l'exploitant informe les consommateurs et rappelle les produits déjà fournis.

Par ailleurs, d'après le règlement (CE) n° 852/2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires (règlement (CE) 2004a), tous les exploitants du secteur alimentaire veillent au respect des règles générales d'hygiène à toutes les étapes dont ils sont responsables, depuis la production primaire jusqu'à la vente ou la mise à disposition des denrées alimentaires au consommateur final.

Pour ce qui relève des analyses microbiologiques des aliments, les professionnels doivent *a minima* intégrer dans leur plan d'autocontrôles, les critères définis dans le règlement (CE) n° 2073/2005 (règlement (CE) 2005). Or, ce règlement ne prévoit de critère relatif aux STEC que dans les graines germées (critère voté au Comité permanent de la chaîne alimentaire de la Commission européenne, publication au JOEU prévue en février 2013 pour application au 01 mars 2013). C'est en effet, la maîtrise préventive de l'hygiène des procédés à toutes les étapes de la chaîne alimentaire et le plus en amont possible, qui permet de réduire la contamination des aliments. En particulier, la prévention des contaminations fécales au stade de l'abattoir, et le contrôle microbiologique de l'hygiène des carcasses sont essentiels pour assurer la maîtrise des dangers ayant pour origine le tractus digestif des ruminants, notamment les STEC.

Le plan d'autocontrôles défini par un exploitant doit donc s'intégrer dans une démarche préventive de la maîtrise de la sécurité sanitaire et de la salubrité des denrées qu'il produit, et ne doit pas se limiter à des contrôles *a posteriori* sur les produits finis. La prise en compte des contaminations par les STEC dans le cadre du plan de maîtrise sanitaire des producteurs de la chaîne alimentaire relève de cette démarche. Néanmoins, compte tenu de la faible fréquence de contamination par des souches STEC pathogènes et des limites de détection des plans d'échantillonnage, la gestion des contaminations détectées dans le cadre des autocontrôles a pour principal objectif de limiter le risque d'apparition d'épidémies; elle ne permettra pas de gérer les contaminations plus faibles à l'origine de cas sporadiques.

Les contrôles de second niveau : les contrôles officiels

Les contrôles officiels doivent permettre de vérifier et d'assurer le respect des législations européennes (règlement (CE) 2004b, directive (CE) 1999). A cette fin, ils sont effectués régulièrement, en principe sans préavis, et à n'importe quel stade de la production, de la transformation et de la distribution des aliments. Les plans de surveillance et de contrôle (PSPC) mis en place par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) et la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) font partie des contrôles officiels et ont la particularité d'être programmés annuellement.

Depuis 2005, la DGAL a régulièrement mis en place des plans de surveillance de la contamination par des STEC pathogènes dans des catégories d'aliments considérées le plus à risque:

- les viandes hachées de bœuf surgelées à la production (2007, 2011, 2012) ;
- les viandes hachées de bœuf réfrigérées à la distribution (2006, 2009, 2010) ;
- les minerais de bœuf (2008) ;
- les fromages au lait cru à la production (2005 : chèvre; 2007 : vache ; 2009 : vache, chèvre, brebis).

De plus, étant donnée la situation épidémiologique particulière de 2011, la DGCCRF a mis en place des plans de surveillance des STEC et notamment des STEC O104:H4 dans les végétaux, y compris les graines germées et à germer, au stade de la distribution.

Outre la pression de contrôle exercée sur les filières de production, ces plans participent aux actions mises en œuvre pour la protection de la santé publique; ils permettent en effet d'estimer des niveaux de contamination des aliments à différents stades de la chaîne alimentaire

(distribution ou production) et d'identifier des facteurs de risque potentiels, sur lesquelles se basent les mesures de gestion. Ils sont toutefois limités en nombre d'analyses (de l'ordre de 2000 échantillons par an et par type d'aliment) et ne permettent pas d'assurer, à eux seuls, la sécurité des aliments mis sur le marché.

Les données des plans de surveillance sont ainsi destinées à être communiquées aux agences d'évaluation des risques: i) l'Anses, à l'échelon national, ou ii) l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) à l'échelon européen, en vue d'une compilation avec les données d'autres États membres (selon la directive 2003/99).

Gestion des alertes liées aux contaminations par STEC

Compte tenu de la gravité de cette infection, tout aliment contaminé par STEC hautement pathogène doit être considéré comme préjudiciable à la santé humaine au sens du règlement (CE) n° 178/2002 (règlement (CE) 2002). La présence de STEC hautement pathogènes dans les denrées alimentaires doit conduire à la mise en place de mesures de gestion proportionnées au risque, et tenant compte des conditions d'utilisation prévisibles par le consommateur. Les mesures de gestion reposent donc sur un ensemble d'informations disponibles relatives au produit, à l'utilisation prévisible par le consommateur, à la situation épidémiologique des cas humains au niveau national et international. Les suites à donner à une alerte et le choix des actions à mettre en œuvre sont de la responsabilité première de l'exploitant.

Des mesures de gestion plus précises sont définies à l'échelon national pour les alertes STEC dans des viandes hachées de bœuf, considérées comme une des principales sources de contamination dans les cas où l'aliment en cause a été identifié, et habituellement consommées peu ou non cuites en France (note de service DGAL/SDSSA/N2012-8181).

Pour ce type de produit, les mesures de retrait/rappel peuvent être engagées précocement à l'initiative du professionnel, dès qu'il y a présomption de présence de STEC hautement pathogènes, sans attendre la confirmation par le Laboratoire national de référence (LNR) pour les *E. coli* y compris les STEC⁽¹⁾. Si le résultat positif est confirmé par le LNR, les lots (ou mélanges au stade de la production) contaminés sont, dans les plus brefs délais, retirés et rappelés (= information du consommateur) au niveau de la production et/transformation et/ou distribution. Des prélèvements complémentaires doivent également être effectués sur la mûlée contaminée et sur les mélanges encadrants (les mélanges amont et aval) afin d'estimer l'importance de la contamination, d'identifier tous les lots susceptibles d'être contaminés avec un risque d'erreur minimum et de décider des mesures de gestion complémentaires.

Bilan des plans de surveillance des STEC dans les aliments

Modalités de mise en œuvre et méthodes d'analyse des échantillons

Chaque année une note de service à destination des services déconcentrés est publiée par la DGAL. Cette note précise le plan d'échantillonnage, de façon à ce qu'il soit le plus représentatif possible de la production ou de l'exposition du consommateur (*prorata* du volume de production ou des densités de populations) ainsi que les modalités de réalisation, de traçabilité, d'envoi des échantillons aux laboratoires destinataires et de collecte des résultats.

En ce qui concerne la recherche des STEC considérées hautement pathogènes dans les aliments, les analyses de première intention sont effectuées par le réseau de laboratoires agréés pour la réalisation des analyses officielles de recherche de STEC, répartis sur le territoire national⁽²⁾; les analyses complémentaires et de confirmation sont réalisées, le cas échéant, par le LNR pour les *E. coli* y compris les STEC.

(1) Laboratoire national de référence (LNR) pour les *E. coli* y compris STEC – Laboratoire d'études des microorganismes alimentaires pathogènes (LMAP) - Campus vétérinaire de Lyon de VetAgro Sup (anciennement ENV Lyon).

(2) Au total, 16 laboratoires agréés pour la recherche des STEC à ce jour (liste disponible à l'adresse <http://agriculture.gouv.fr/listes-de-laboratoires>) et Laboratoire du service commun des laboratoires à Oullins.

La recherche de l'ensemble des sérotypes d'intérêt est réalisée, dans le cadre des contrôles officiels, selon une méthode décrite par le LNR, basée sur la méthode ISO TS 13 136⁽³⁾ et recommandée par l'EFSA (EFSA, 2009) (Figure 1) :

- une première étape d'enrichissement de l'aliment investigué, afin de permettre aux souches pathogènes éventuellement présentes de se multiplier jusqu'à atteindre des niveaux détectables et de façon préférentielle par rapport aux autres microorganismes présents dans ces aliments;
- une seconde étape de détection par technique de PCR en temps réel, à partir des acides nucléiques extraits de ce bouillon d'enrichissement polymicrobien, des principaux marqueurs des souches STEC considérées hautement pathogènes (gènes *stx*, gènes *eae*, et gènes associés aux cinq principaux sérogroupes d'EHEC). Cette étape de détection est séquentielle : ce n'est que si les gènes *stx* (*stx1* et/ou *stx2*) et *eae* sont présents simultanément que les gènes spécifiques des cinq principaux sérogroupes d'EHEC sont recherchés;
- une troisième étape d'isolement des bactéries mise en œuvre uniquement si les résultats obtenus précédemment sont positifs, c'est-à-dire si les gènes *stx* et *eae* et les gènes spécifiques des cinq principaux sérogroupes d'EHEC sont détectés de façon concomitante dans le bouillon d'enrichissement;
- une quatrième étape de caractérisation phénotypique et génotypique des souches d'*E. coli* isolées dans l'étape précédente.

Résultats obtenus de 2005 à 2011

Les résultats détaillés des plans de surveillance sont publiés chaque année dans les notes « bilan » des administrations françaises et dans les rapports zoonoses de l'EFSA (consultables à l'adresse : <http://www.efsa.europa.eu/fr>). Une synthèse de ces résultats est présentée dans le Tableau 2.

Produits carnés

Les différents taux de contamination de viandes de bœuf analysées de 2006 à 2011 sont présentés dans le Tableau 3.

Le taux de contamination des viandes de bœuf prélevées en France de 2006 à 2011 dans le cadre des plans de surveillance est faible et comparable quel que soit le type de produit investigué (viandes hachées de bœuf, surgelées ou réfrigérées, prélevées à la distribution ou à la production).

L'analyse qualitative des caractéristiques des échantillons contaminés par une souche d'intérêt depuis 2008 semble indiquer qu'il y a une différence entre les taux de contamination des viandes en fonction de l'origine des matières premières à partir desquelles elles ont été produites en 2010 et 2011.

Tableau 2. Nombre d'échantillons analysés chaque année par type de produit à risque investigué dans le cadre des plans de surveillance des souches STEC considérées comme hautement pathogènes mis en place par les administrations en France

Année	Type de produits investigués	Stade	Nombre d'échantillons	
			prévus	réalisés (%)
2005	Fromages de chèvre frais au lait cru	Production	1000	871 (87)
2006	Viandes hachées de bœuf réfrigérées	Distribution	1000	796 (80)
2007	Viandes hachées de bœuf surgelées	Production	4000	3605 (90)
	Fromages au lait cru de vache, brebis et chèvre	Production	400	392 (98)
2008	Minerais destinés à la fabrication de viandes hachées de bœuf surgelées	Production	1000	992 (99)
2009	Viandes hachées de bœuf réfrigérées*	Production	2000	615 (28*)
	Viandes hachées de bœuf réfrigérées	Distribution	1520	1557 (102)
2010	Fromages au lait cru de vache, brebis et chèvre	Production	2000	1911 (96)
	Viandes hachées de bœuf réfrigérées	Distribution	2500	2476 (99)
2011	Viandes hachées de bœuf surgelées	Production	2000	1878 (94)
	Graines germées	Distribution	SO	273 (-)
	Graines à germer	Distribution	SO	206 (-)
	Végétaux destinés à être consommés crus ou peu cuits**	Distribution	SO	40 (-)

SO : sans objet, car il n'était pas prévu un nombre cible d'échantillons à prélever.

* Plan arrêté en cours d'année (biais d'échantillonnage).

** Carottes (16), tomates (13), salades (2), endives (1), choux-fleurs (7), choux rouges (1).

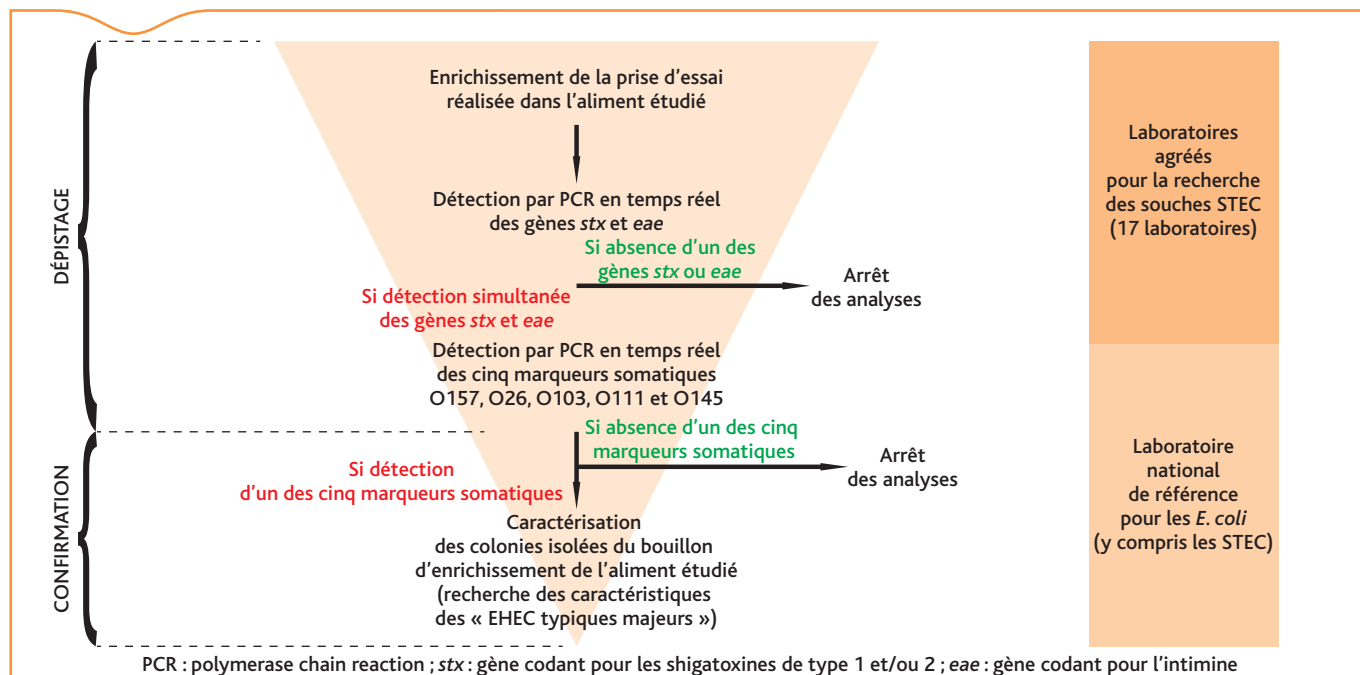


Figure 1. Schématisation des principales étapes de la méthode de recherche des souches STEC hautement pathogènes et acteurs responsables de sa mise en œuvre dans le cadre des plans de surveillance annuels mis en place par les administrations

(3) Spécification technique ISO TS 13 136 votée à l'ISO le 15 juin 2012, publiée le 07 Novembre 2012.

Par contre, d'autres paramètres comme leur proportion de matière grasse, leur mode de conditionnement, le lieu de prélèvement des viandes (grandes et moyennes surfaces, hard-discount) ou leur destination prévue ne semble pas avoir d'impact. Ces observations sont à prendre avec précaution dans la mesure où plusieurs de ces paramètres pourraient influencer simultanément sur les fréquences de contamination observées. L'étude statistique de l'influence de ces paramètres n'est à ce stade pas possible, car l'échantillonnage réalisé lors de ces plans n'a pas été conçu en ce sens, et par ailleurs le nombre d'échantillons contaminés détectés reste faible.

Parmi les 38 souches STEC considérées hautement pathogènes isolées dans les viandes de bœuf, la majorité (16/38) appartiennent au sérotype O26:H11 (Tableau 4). Les sérotypes les plus fréquemment retrouvés sont ensuite, par ordre d'importance O157:H7 (12/38), O103:H2 (8/38), O145:H28 (1/38) et O111:H8 (1/38).

Produits laitiers

Les différents taux de contamination des produits laitiers analysés en 2005, 2007 et 2009 sont présentés dans le Tableau 5.

Le taux de contamination des fromages au lait cru dans le cadre des plans de surveillance est faible ($\leq 0,9\%$) et comparable d'une année sur l'autre.

Les échantillons dans lesquels une souche de STEC considérée hautement pathogène a été isolée, en 2009, sont retrouvés dans chacune des catégories de fromages étudiées.

Parmi les 17 souches STEC considérées hautement pathogènes isolées dans les fromages au lait cru, la majorité (11/17) appartiennent au sérotype O26:H11 (Tableau 6). Les sérotypes les plus fréquemment retrouvés sont ensuite, par ordre d'importance, les sérotypes O103:H2 (4/17), O145:H28 (1/17) et O157:H7 (1/17).

Tableau 3. Taux de contamination par des souches STEC considérées comme hautement pathogènes, de viandes de bœuf analysées en France au cours des plans de surveillance de 2006 à 2011

Année	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Type de produits investigués	VHR/production	VHS/production	Minerais	VHR/distribution	VHR/Distribution	VHS/production
Taux de contamination des viandes de bœuf (en %) (Nombre positifs/nombre analysés*)	0 (0/796)	0,3 (11/3 605)	1 (10/992)	0,1 (2/1 557)	0,2 (5/2 476)	0,5 (9/1 878)
Intervalle de confiance à 95 %	(0- 0,4)	(0,2-0,6)	(0,5-1,9)	(0- 0,5)	(0,1-0,5)	(0,2-0,9)

VHR: viandes hachées de bœuf réfrigérées

VHS: viandes hachées de bœuf surgelées

* Pour chaque échantillon analysé, les résultats positifs correspondent à la confirmation de la présence d'au moins une souche STEC considérée hautement pathogènes dans 25 g.

Tableau 4. Sérotypes les plus prévalents de souches STEC considérées comme hautement pathogènes isolées dans les viandes de bœuf en France de 2006 à 2011

Année	2006	2007	2008	2009	2010	2011	Total
Type de produits investigués	VHR	VHS	Minerais	VHR	VHR	VHS	
Nombre de souches STEC considérées hautement pathogènes isolées dont	0	11	10	2	6*	9	38
Nombre de souches STEC O157:H7	0	5	2	1	1	3	12
Nombre de souches STEC O26:H11	0	2	5	0	4*	5	16
Nombre de souches STEC O103:H2	0	3	3	1	0	1	8
Nombre de souches STEC O145:H28	0	0	0	0	1	0	1
Nombre de souches STEC O111:H8	0	1	0	0	0	0	1

VHR : viandes hachées de bœuf réfrigérées

VHS : viandes hachées de bœuf surgelées

* 2 souches isolées à partir du même échantillon

Tableau 5. Taux de contamination par des souches STEC considérées comme hautement pathogènes des produits laitiers analysés en France au cours des plans de surveillance et de contrôle en 2005, 2007 et 2009

Année	2005	2007	2009
Type de produits investigués	Fromages de chèvre frais au lait cru	Fromages au lait cru de vache, brebis et chèvre	Fromages au lait cru de vache, brebis et chèvre ^a
Taux de contamination des fromages (en %) (Nombre positifs/nombre analysés*)	0 (0/871)	0 (0/392)	0,9 (17/1 911)
Intervalle de confiance à 95 %	(0- 0,4)	(0- 0,9)	(0,6-1,4)

a: 1 050 fromages au lait de vache, 510 au lait de chèvre et 347 au lait de brebis.

* Pour chaque échantillon analysé, les résultats positifs correspondent à la confirmation de la présence d'au moins une souche STEC considérée hautement pathogène dans la prise d'essai.

Tableau 6. Sérotypes les plus prévalents de souches STEC considérées comme hautement pathogènes isolées dans les fromages au lait cru en France en 2005, 2007 et 2009

Année	2005	2007	2009
Type de produits investigués	Fromages de chèvre au lait cru	Fromages au lait cru de vache, brebis et chèvre	Fromages au lait cru de vache, brebis et chèvre
Nombre de souches STEC considérées hautement pathogènes isolées dont	0	0	17
Nombre de souches STEC O157:H7	0	0	1
Nombre de souches STEC O26:H11	0	0	11
Nombre de souches STEC O103:H2	0	0	4
Nombre de souches STEC O145:H28	0	0	1
Nombre de souches STEC O111:H8	0	0	0

Quelle que soit la denrée, viande ou fromage au lait cru, il est difficile de comparer ces résultats à ceux publiés dans la littérature par exemple, pour la viande de bœuf (Pérelle *et al.*, 2007, Hussein, 2007) et pour les produits laitiers (Derzelle *et al.*, 2011, Baylis, 2009), car ils diffèrent considérablement selon les plans d'échantillonnage et les méthodes utilisées (recherche uniquement de certains sérogroupes, résultats uniquement exprimés en termes de résultats présomptifs PCR à partir d'ADN de bouillons polymicrobiens).

Par ailleurs, ces plans de surveillance ont permis d'isoler des souches AEEC possédant toutes les caractéristiques des EHEC typiques majeures, sauf la possession du gène *stx* (porté par un prophage mobile), à partir des bouillons d'enrichissement :

- 31 souches AEEC dans les viandes de bœuf analysées. Le nombre de ces souches particulières est notoirement élevé au regard du nombre total de souches STEC considérées hautement pathogènes isolées (38). La grande majorité d'entre elles (25/31) appartient au sérotype O26:H11; suivent ensuite les sérotypes O103:H2 (4/31) et O145:H28 (2/31) ;
- 15 souches AEEC dans les fromages au lait cru, vs 17 souches de STEC considérées hautement pathogènes isolées. A noter également que la majorité d'entre elles (7/15) appartient au sérotype O26:H11; suivent ensuite les sérotypes O103:H2 (6/15) et O145:H28 (2/15).

Ces souches particulières ne sont pas représentatives de l'ensemble des souches AEEC présentes dans les aliments. Elles correspondent à des souches qui, en l'état actuel des connaissances, pourraient être le témoin de la présence de STEC pouvant être considérées hautement pathogènes dans l'aliment, dont elles dériveraient après la perte du gène *stx*, soit dans l'aliment, soit durant leur isolement, mais aucune technique ne permet aujourd'hui de l'infirmier ou de le confirmer (Afssa, 2010). Aussi, l'acquisition de connaissances scientifiques supplémentaires concernant la caractérisation du pouvoir pathogène de ces souches AEEC particulières est indispensable pour pouvoir caractériser le risque qu'elles représentent pour la santé publique.

Végétaux

Aucune souche STEC considérée hautement pathogène ou O104:H4 épidémique n'a été isolée dans les aliments à risque d'origine végétale analysés au cours de l'année 2011 (Tableau 7).

Ces résultats sont comparables à ceux observés en Europe suite aux différentes études mises en place en 2011 (EFSA, 2011). Néanmoins, il convient d'être prudent quant à l'interprétation de ces résultats, car il a été montré que les végétaux contiennent en général un très faible nombre d'*E. coli* (<100 ufc/g) et un niveau élevé de flore annexe notamment près de 5.6×10^7 ufc/g d'*Enterobacteriaceae* et de *Pseudomonas spp.* (Tzschoppe *et al.*, 2012), ce qui pourrait représenter un biais analytique important.

Par ailleurs, de manière générale dans ce type de produit, la proportion d'échantillons potentiellement contaminés par une souche STEC (c'est-à-dire ayant donné un résultat PCR positif pour la présence du gène *stx* dans le bouillon d'enrichissement) est plus faible en moyenne que dans les denrées alimentaires d'origine animale (1 %, 1,5 % et 7 % respectivement des graines germées, graines à germer et végétaux analysés en 2011, comparativement à 20 % en moyenne pour les aliments d'origine animale – données non présentées –, même si le nombre de ces dernières varient considérablement en fonction des aliments investigués).

Tableau 7. Taux de contamination par des souches STEC considérées comme hautement pathogènes des végétaux analysés en France au cours du plan de contrôle en 2011

Année	2011		
	Graines germées	Graines à germer	Légumes
Type de produits investigués			
Taux de contamination des végétaux (en %)	0	0	0
(Nombre positifs/nombre analysés*)	(0/273)	(0/206)	(0/40)
Intervalle de confiance à 95 %	(0-1)	(0-1)	(0-5)

* Pour chaque échantillon analysé, les résultats positifs correspondent à la confirmation de la présence d'au moins une souche STEC considérée hautement pathogène dans la prise d'essai.

Conclusion

Chaque type de contrôle (autocontrôles et contrôles officiels) contribue au dispositif de maîtrise de la sécurité sanitaire des aliments. Les autocontrôles dans un processus de routine de production et les contrôles officiels dans un processus de supervision de la conformité à la législation alimentaire.

Les résultats de cette surveillance constituent un socle scientifique pour la mise en place de nouvelles mesures de gestion.

A ce jour, les données des contrôles officiels indiquent, quelle que soit l'étape de la surveillance, et donc quels que soient les biais inhérents au dispositif, des taux de contamination des viandes hachées de bœuf ou des fromages au lait cru, faibles et comparables depuis plusieurs années. Ils ont également permis d'identifier des facteurs de risque potentiels qui seront investigués par des plans de surveillance à venir.

En ce qui concerne les végétaux, des plans de surveillance seront reconduits afin de collecter des informations complémentaires sur la qualité microbiologique de ces produits, y compris le niveau de contamination par des STEC. Ces informations sont nécessaires dans la mesure où des discussions vont se poursuivre au niveau de la Commission européenne au sujet du nouveau critère réglementaire STEC dans ces produits. Ces plans devront tenir compte du très faible niveau de contamination de cette catégorie d'aliments (plans d'échantillonnage à 5 classes par exemple) et des avancées scientifiques (état physiologique des STEC dans les graines) et analytiques (optimisation des méthodes).

Par ailleurs, les plans de surveillance mis en place à ce jour permettent de collecter des informations plus précises sur la caractérisation du danger STEC. Par exemple, le LNR a élargi le spectre de ces recherches aux sept sérotypes majeurs incluant les deux sérotypes O45:H2 et O121:H19, recherchés aux États-Unis dans la viande bovine. Les résultats obtenus ont également permis d'identifier des souches AEEC particulières dont la virulence potentielle ne peut être écartée (Afssa, 2010). Ces informations sont particulièrement utiles, d'une part pour apprécier le risque lié à la contamination des aliments à risque (des mesures de gestion adaptées sont d'ailleurs mises en place), d'autre part pour orienter les recherches sur le pouvoir pathogène des souches et l'émergence de nouveaux clones pathogènes pour l'Homme.

Enfin, une optimisation de la surveillance des aliments permettant d'apprécier l'état sanitaire des aliments en France en dehors de situation de crise, par le rapprochement des données des autocontrôles et des données des plans de surveillance et de contrôle, est en cours de réflexion avec la mise en place de l'Observatoire de l'alimentation créé par la loi de modernisation de l'agriculture et de la pêche de juillet 2010.

Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble des équipes des laboratoires agréés et du LNR *E. coli* pour leur implication dans l'obtention des données des plans de surveillance ainsi que les services des DDecPP. Certains des auteurs faisaient partie du groupe de travail « EHEC-EPEC » de l'Anses. En réponse à la saisine 2010-SA-0031, leurs travaux ont abouti à la rédaction des avis de l'Afssa du 27 mai 2010 et de l'Anses du 11 janvier 2011 relatifs aux EHEC. Ils remercient chaleureusement les autres membres de ce groupe de travail.

Références

- Afssa. 2003. Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de shiga-toxines (STEC). 220 pp. <http://www.anses.fr/Documents/MIC-Ra-STEC.pdf>
- Afssa. 2010. Avis relatif à la pertinence d'une révision de la définition des STEC pathogènes, précisée par l'avis Afssa du 15 juillet 2008, rendu le 27 mai 2010 – Saisine n° 2010-SA-0031. <http://www.anses.fr/Documents/MIC2010sa0031.pdf>
- Barret, A.S., Charron, M., Mariani-Kurkdjian, P., Poignet-Leroux, B., Loukiadis, E., Harambat, J., Gouali, M., Gault, G., Le Hello, S., Bréchat, B., Servas, V., Faure, M., Godron, A., Rolland, P., Simoes, J., Vaillant, V., de Valk, H., Mailles, A. 2012. Outbreak of O157 *Escherichia coli* infections associated with consumption of fresh ground beef burgers, South West France, June 2012. Soumis à EuroSurveillance.
- Baylis, C. 2009. Raw milk and raw milk cheeses as vehicles for infection by Verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. Int. J. Dairy Technol. 62, 293-307.
- Bibbal, D., Auvray, F., Kérourédan, M., Peytavin, C., Ferré, F., Cartier, P., Oswald, E., Gay, E., Loukiadis, E., Brugère, H. 2012. Fecal carriage of shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes O157:H7, O26:H11, O103:H2, O145:H28 and O111:H8 in French cattle. Zoon. & Public Health 59, 12.
- Brugère, H., Auvray, A., Mariani-Kurkdjian, P., King, L.A., Loukiadis, E. 2012. *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) : définitions, virulence et propriétés des souches entérohémorragiques (EHEC). Bull. Epid. Santé anim. alim., Anses-DGAL.50, 23-30.
- Derzelle, S., Grine, A., Madic, J., de Garam, C.P., Vingadassalon, N., Dilasser, F., Jamet, E., Auvray, F. 2011. A quantitative PCR assay for the detection and quantification of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in minced beef and dairy products. Int. J. Food Microbiol. 15, 44-51.
- Directive (CE) 1999. n° 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.
- EFSA. 2009. Technical specifications for the monitoring and reporting of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) on animals and food (VTEC surveys on animals and food). 43 pp. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1366.htm>
- EFSA. 2011. Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) O104:H4 2011 outbreaks in Europe: Taking Stock. The EFSA J. 9, 2390. 22 pp. <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/2390.htm>
- Espié, E., Mariani-Kurkdjian, P., Grimont, F., Pihier, N., Vaillant, V., Francart, S., de Valk, H., Vernozy-Rozand, C. 2006. Shigatoxin Producing *Escherichia coli* O26 Infection and Unpasteurised Cows Cheese, France, In: 6th International Symposium on Shiga-toxin (verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* infections. Melbourne, Australia, 29 oct-1er Nov, Poster.
- Espié, E., Grimont, F., Vaillant, V., Montet, M.P., Carle, I., Bavai, C., de Valk, H., Vernozy-Rozand, C. 2006a. O148 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* outbreak: microbiological investigation as a useful complement to epidemiological investigation. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 12, 992-998.
- Espié, E., Vaillant, V., Mariani-Kurkdjian, P., Grimont, P., Martin-Schaller, P., de Valk, H., Vernozy-Rozand, C. 2006b. *Escherichia coli* O157 outbreak associated with fresh unpasteurized goats' cheese. Epidemiol. Infect. 134, 143-146.
- Hussein, H.S. 2007. Prevalence and pathogenicity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle and their products. J. Anim. Sci. 85, E63-72.
- King, L.A., Mailles, A., Mariani-Kurkdjian, P., Vernozy-Rozand, C., Montet, M.P., Grimont, F., Pihier, N., Devalk, H., Perret, F., Bingen, E., Espié, E., Vaillant, V. 2009. Community-wide outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 associated with consumption of frozen beef burgers. Epidemiol. Infect. 137, 889-96.
- King, L.A., Filliol-Toutain, I., Mariani-Kurkdjian, P., Vaillant, V., Vernozy-Rozand, C., Ganet, S., Pihier, N., Niaudet, P., de Valk, H. 2010 Family outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O123:H-, France, 2009. Emerg. Infect. Dis. 16, 1491-1493.
- King, L.A., Mariani-Kurkdjian, P., Gouali, M. 2012a. Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de 15 ans et moins en France. Bull. Epid. Santé anim. alim., Anses-DGAL. 50, 29.
- King, L.A., Nogareda, F., Weill, F.X., Mariani-Kurkdjian, P., Loukiadis, E., Gault, G., Jourdan-Dasilva, N., Bingen, E., Macé, M., Thevenot, D., Ong, N., Castor, C., Noël, H., Van Cauteren, D., Charron, M., Vaillant, V., Aldabe, B., Goulet, V., Delmas, G., Couturier, E., Le Strat, Y., Combe, C., Delmas, Y., Terrier, F., Vendrely, B., Rolland, P., de Valk, H. 2012b. Outbreak of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O104:H4 Associated With Organic Fenugreek Sprouts, France, June 2011. Clin. Infect. Dis. 54, 1588-1594.
- King, L.A., Vaillant, V., Haeghebaert, S., Chaud, P., Mariani Kurkdjian, P., Loukiadis, E., Weill, F.X., Bingen, E., Thevenot, D., Mace, M., Gouali, M., Pihier, N., Callon, H., de Valk, E. 2012c. Épidémie d'infection à *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxine O157:(H7) fermentant le sorbitol liée à la consommation de viande hachée de boeuf. France - Juin-juillet 2011. Rapport d'investigation de l'Institut de veille sanitaire. 48 pp. <http://www.invs.sante.fr>
- Pérelle, S., Dilasser, F., Grout, J., Fach, P. 2007. Screening food raw materials for the presence of the world's most frequent clinical cases of Shiga toxin-encoding *Escherichia coli* O26, O103, O111, O145 and O157. Int. J. Food Microbiol. 15, 284-288.
- Pradel, N., Livrelli, V., De Champs, C., Palcoux, J.B., Reynaud, A., Scheutz, F., Sirot, J., Joly, B., Forestier, C. 2000. Prevalence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle, food, and children during one-year prospective study in France. J. Clin. Microbiol. 38, 1023-1031.
- Rapport ENVL. 2007. *Escherichia coli* O157:H7 dans la fièvre viande hachée de boeuf : plan d'échantillonnage sur minerais et prévalence en élevages bovins français. 14 pp.
- Règlement (CE) 2002. N° 178/2002 du Parlement européen et du Conseil du 28 janvier 2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires.
- Règlement (CE) 2004a. N° 882/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 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.
- Règlement (CE) 2004b. N° 852/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires.
- Règlement (CE) 2005. N° 2073/2005 de la Commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.
- Tzschoppe, M., Martin, A., Beutin, L. 2012. A rapid procedure for the detection and isolation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) serogroup O26, O103, O111, O118, O121, O145 and O157 strains and the aggregative EHEC O104:H4 strain from ready-to-eat vegetables. Int. J. Food Microbiol. 152, 19-30.