

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Décembre 2019

Surveillance des *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) dans les viandes hachées de bœuf réfrigérées et surgelées mises sur le marché en France en 2016

Christine Mazuy-Cruchaudet^(1,2), Aurélie Granjon⁽¹⁾, Sophie Félix⁽¹⁾, Marie-Pierre Donguy⁽³⁾, Gaëlle Lattard⁽⁴⁾, Sabine Itié-Hafez⁽⁵⁾, Estelle Loukiadis^{*(1,2)}, Delphine Thevenot Sergentet^{*(1,2)}

Auteur correspondant : delphine.sergentet@vetagro-sup.fr

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

(2) Université de Lyon, Equipe Bactéries Pathogènes Opportunistes et Environnement, UMR 5557 Ecologie Microbienne, CNRS, VetAgro Sup et Université de Lyon 1

(3) Direction générale de l'Alimentation, Mission des urgences sanitaires, Paris, France

(4) Direction générale de l'Alimentation, Bureau des établissements de transformation et de distribution, Paris, France

(5) Direction générale de l'Alimentation, Bureau d'appui à la surveillance de la chaîne alimentaire, Paris, France.

* Co derniers auteurs

Résumé

Les *Escherichia coli* producteurs de Shiga Toxines (STEC) sont des bactéries zoonotiques d'origine alimentaire associées à des épidémies de grande envergure qui représentent un problème de santé publique de premier ordre. La viande hachée de bœuf contaminée par le contenu digestif des animaux porteurs et insuffisamment cuite reste une des principales sources de contamination de l'Homme. Le réservoir naturel des STEC est constitué le plus souvent par des animaux porteurs sains, et correspond plus particulièrement au tube digestif des ruminants. Bien qu'il n'existe aucun critère microbiologique réglementaire, une viande contenant une de ces souches est considérée comme « dangereuse ». Aussi, le plan de surveillance 2016 visait à établir le taux de contamination des viandes hachées de bœuf mises sur le marché en France par les souches STEC identifiées comme les plus à risque et, par conséquent à apprécier l'exposition du consommateur à ce danger ainsi que l'efficacité des mesures de prophylaxie mises en place par les professionnels.

Les résultats obtenus confirment que le taux de contamination des viandes hachées de bœuf est faible (0,3 % ; 3/876-IC95-[0,07-0,99%]) et du même ordre de grandeur que ceux obtenus précédemment, ce qui suggère que le risque d'exposition de l'Homme via la consommation de viande hachée de bœuf en France reste limité. Trois souches STEC O26:H11 ont été isolées dans les échantillons. Elles possédaient des marqueurs génétiques de virulence accrue. Trois des quatre souches AEEC (*E. coli* possédant le gène *eae* et non *stx*) isolées appartenaient au sérotype O26:H11 et une au sérotype O103:H2.

En 2017, la direction générale de l'Alimentation (DGAL) a poursuivi la surveillance de la contamination par les STEC des viandes hachées de bœuf surgelées au stade de la production.

Mots-clés :

STEC, surveillance, viandes hachées de bœuf, 2016, France

Abstract

Surveillance of shigatoxin-producing *E. coli* (STEC) in minced beef on the French market in 2016

Shigatoxin-producing *Escherichia coli* (STEC) are foodborne zoonotic bacteria associated with large-scale epidemics and represent a major public health concern. Minced beef contaminated with the digestive contents of animal carriers that is insufficiently cooked remains one of the main sources of contamination of humans. The natural reservoir of STEC consists mostly of healthy animals and corresponds more specifically to the digestive tract of ruminants. Although there are no regulatory criteria, meat containing one of these strains is considered "dangerous". The objective of the 2016 official control program was to establish the contamination rate of minced beef marketed in France with the STEC strains identified as the most at-risk, and therefore to assess consumer exposure to this hazard, as well as the effectiveness of the prophylactic measures implemented by professionals.

The results obtained confirm that the contamination rate for meat is low (0.3%; 3/876; 95%CI 0.07-0.99%), and like previously findings, the data suggest that the risk of human exposure via the consumption of minced beef in France remains limited. Three STEC O26:H11 strains were isolated from the samples. They had genetic markers of increased virulence. Three of the four isolated AEEC strains belonged to serotype O26:H11 and one to serotype O103:H2.

In 2017, the Directorate General for Food (DGAL) continued to control STEC contamination of frozen minced beef at the production stage.

Keywords:

STEC, Surveillance, Minced beef, 2016, France

Les *Escherichia coli* producteurs de Shiga Toxines (STEC) sont des bactéries zoonotiques d'origine alimentaire associées à des épidémies de grande envergure qui représentent un problème de santé publique de premier ordre. Les STEC pathogènes sont très fréquemment associés à des formes sévères d'infections telles que des colites hémorragiques et dans des cas très graves, des syndromes hémolytiques et urémiques (SHU). Ces SHU sont la première cause d'insuffisance rénale chez les enfants. Ces derniers et les personnes âgées sont les personnes les plus susceptibles de développer un SHU (Afssa, 2003). La dose infectieuse estimée est très basse: entre 5 et 50 cellules viables (Afssa, 2003). L'infection humaine est le plus souvent liée à l'ingestion d'eau et d'aliments contaminés comme la viande hachée consommée insuffisamment cuite, les fromages au lait cru, les végétaux, etc.

Le réservoir naturel des STEC est constitué le plus souvent par des animaux porteurs sains, et correspond plus particulièrement au tube digestif des ruminants. La contamination des aliments ainsi que de l'eau est la plupart du temps d'origine fécale. Elle peut avoir lieu à l'abattoir lorsque l'hygiène de l'abattage n'est pas maîtrisée (notamment lors des étapes de pré-dépouille, d'habillage et d'éviscération). Elle peut également être liée à une mauvaise hygiène de la traite. Enfin, les végétaux peuvent être contaminés par des effluents tels que les substances d'épandages ou de l'eau contaminée par des déjections animales (Afssa, 2003).

Des souches de STEC pathogènes appartenant à de nombreux sérotypes différents, caractérisés par leur antigène somatique O et leur antigène flagellaire H, ont été impliquées dans des épisodes de colite hémorragique ou de SHU. *E. coli* O157:H7 a été le premier sérotype identifié et est aujourd'hui le plus fréquemment isolé chez les malades. Cependant, des souches appartenant à d'autres sérotypes ont été impliquées dans des épidémies. Ces souches ont été définies par l'Anses comme souches « EHEC typiques majeures » (saisine n° 2010-SA-0031, saisine liée n° 2008-SA-0122). Elles appartiennent aux sérotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 et O157:H7 et leurs dérivés non-mobiles. En France, les souches STEC appartenant à l'un de ces 5 sérotypes sont associées à 70 à 80 % des cas d'infections à STEC. Aux États-Unis, les souches appartenant à ces 5 sérotypes ainsi que celles appartenant aux sérotypes O45:H2 et O121:H19 sont considérées comme les plus à risque (Fach et Beutin, 2014).

Il n'existe pas, à ce jour, de critère microbiologique applicable aux denrées alimentaires d'origine animale destinées à la consommation humaine (contrairement aux graines germées pour lesquelles il existe depuis le 11 mars 2013 un critère microbiologique qui est « absence de STEC dans 25 g »). Néanmoins, le « Paquet Hygiène » interdit aux opérateurs du secteur alimentaire de mettre sur le marché des produits dangereux (article 14 du règlement (CE) n° 178/2002). Les industriels producteurs de certains produits considérés à risque sont

Encadré.

Objectif

Ce plan de surveillance était destiné à évaluer la contamination par des souches STEC (et AEEC) des viandes hachées de bœuf réfrigérées et surgelées mises sur le marché en France afin d'apprécier l'exposition des consommateurs à ce danger ainsi que l'efficacité des mesures de maîtrise mises en place par les professionnels.

Cadre de la programmation

- Directive 2003/99/CE.
- Avis EFSA du 30 octobre 2009.
- Avis Afssa du 27 mai 2010.

Protocole

• Bactéries recherchées

- Souches STEC hautement pathogènes pour l'Homme. Il s'agit des souches possédant les gènes de virulence *stx* et *eae* et appartenant à l'un des 5 sérotypes O157:H7, O26:H11, O145:H28, O103:H2 ou O111:H8.
- Souches STEC pathogènes *i.e.* possédant les gènes de virulence *stx* et *eae* et appartenant au sérotype O45 ou O121.
- Souches AEEC particulières: *E. coli* appartenant à l'un des 5 sérotypes recherchés (O157:H7, O26:H11, O145:H28, O103:H2 ou O111:H8) et possédant le gène *eae* (sans le gène *stx*) (Saisine ANSES 2010-SA-0031), isolées dans un bouillon d'enrichissement présentant une PCR positive pour le gène *stx*

- **Productions concernées:** viandes de bœuf hachées surgelées et réfrigérées (toutes origines).

- **Stade de la chaîne alimentaire:** distribution.

• Définition du « cas »:

Non-conformité en cas d'isolement d'une des souches ciblées.

• Nombre d'échantillons et modalités d'échantillonnage:

876 prélèvements ont été réalisés en France métropolitaine entre février et décembre 2016, selon une répartition par région *au prorata* du nombre d'habitants.

Chaque échantillon a été prélevé au stade de la distribution, dans les grandes et moyennes surfaces (GMS) et les établissements de restauration collective.

- **Stratégie d'échantillonnage:** aléatoire

• Protocole d'échantillonnage:

Le plan de surveillance prévoyait les prélèvements de 900 échantillons de viandes hachées de bœuf à raison d'une unité (n=1) analysée par échantillon.

Les 900 prélèvements devaient être répartis de la manière suivante:

- 300 prélèvements de viandes hachées de bœuf surgelées d'origine France (fabriquées dans un atelier de production agréé situé en France),
- 300 prélèvements de viandes hachées de bœuf surgelées d'origine autre que France (fabriquées dans un atelier de production agréé situé dans un autre État membre de l'Union européenne ou dans un pays tiers),
- 300 prélèvements de viandes hachées de bœuf réfrigérées, d'origine France ou autre.

Les prélèvements ont été directement réalisés au stade de la distribution:

- dans les rayons libre-service surgelés des établissements de commerce de détail de type grandes et moyennes surfaces (GMS): hypermarchés, supermarchés et « hard-discount »,
- dans les établissements de restauration collective (y compris cuisines centrales agréées), au sein desquels des viandes hachées de bœuf surgelées d'origine Union européenne ou pays tiers étaient davantage disponibles.

Ces 900 prélèvements ont été prévus en France métropolitaine, au prorata du nombre d'habitants par région, de façon à être le plus représentatif possible de l'exposition du consommateur. Les prélèvements devaient être échelonnés sur toute l'année 2016 et répartis par les directions régionales de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt (DRAAF) dans les différents départements au prorata du nombre d'habitants.

Chaque prélèvement devait correspondre à un échantillon de viande hachée de bœuf de 100 g au minimum, préemballé dans son conditionnement d'origine (sous film, sous-vide ou sous atmosphère modifiée) et étiqueté. Pour les viandes hachées réfrigérées, l'échantillon prélevé devait avoir une date limite de consommation valide, et ce jusqu'à la mise en œuvre de l'analyse. Le mode de consommation prévu ainsi que le taux de matière grasse devaient être relevés pour chaque viande hachée prélevée, afin d'être pris en compte dans l'exploitation des résultats.

- **Méthode analytique, nature du prélèvement:**

La prise d'essai (25 g) a été analysée selon les méthodes officielles adaptées de la spécification technique ISO TS 13136: 2012.

ainsi fortement encouragés à effectuer des autocontrôles de leurs produits. En effet, un comité d'experts a identifié les catégories de denrées alimentaires dans lesquelles les STEC présentent un risque pour la santé publique, compte tenu de la gravité des affections liées et des habitudes françaises de consommer cet aliment sans cuisson suffisante.

En application de la directive 2003/99/CE, les États membres de l'Union européenne sont tenus de mettre en place un système de surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques. Les STEC font partie de la liste des agents à surveiller énumérés à l'annexe I, partie A, de cette directive. Outre la pression de contrôle exercée sur les filières de production, la mise en place de plans de surveillance de la contamination par STEC des matrices à risque (viandes hachées de bœuf et fromages au lait cru principalement) participe aux actions mises en œuvre pour protéger la santé publique. Ces plans permettent en effet d'estimer les niveaux de contamination des aliments à différents stades de la chaîne alimentaire et d'émettre des hypothèses sur des facteurs de risque potentiels, sur lesquels se fondent les mesures de gestion. Les résultats des plans de surveillance sont communiqués aux agences d'évaluation des risques: i) l'Anses, à l'échelon national, et 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.

L'objectif du plan de surveillance STEC conduit en 2016 était de collecter des données pour apprécier le taux de contamination des viandes hachées de bœuf réfrigérées et surgelées mises sur le marché en France et de comparer ces résultats avec ceux des plans de surveillance similaires mis en place précédemment⁽¹⁾. Ces données permettent d'évaluer l'exposition du consommateur à ce danger et de s'assurer de l'efficacité des mesures de maîtrise mises en place par les professionnels.

Matériels et méthodes

Méthode analytique mise en œuvre

Afin de tenir compte de l'hétérogénéité potentielle de la contamination des viandes hachées, 100 g ont été prélevés à différents endroits dans les viandes afin de constituer un échantillon. Après homogénéisation, la prise d'essai a été de 25 g par échantillon.

La recherche de l'ensemble des souches d'intérêt a été réalisée selon les méthodes officielles autorisées⁽²⁾, adaptées de la méthode ISO TS 13136:2012⁽³⁾, recommandée par l'Efsa (Efsa, 2009) et de la méthode officielle américaine MLG5B⁽⁴⁾ (Figure 1). Les différentes étapes appliquées sont détaillées ci-dessous:

- Un enrichissement des échantillons investigués, afin de permettre aux souches pathogènes cibles éventuellement présentes de se multiplier jusqu'à atteindre des niveaux détectables par les outils employés,
- La détection par PCR en temps réel, des principaux marqueurs des souches STEC pathogènes cibles (les gènes *stx* (Perelle *et al.* 2004),

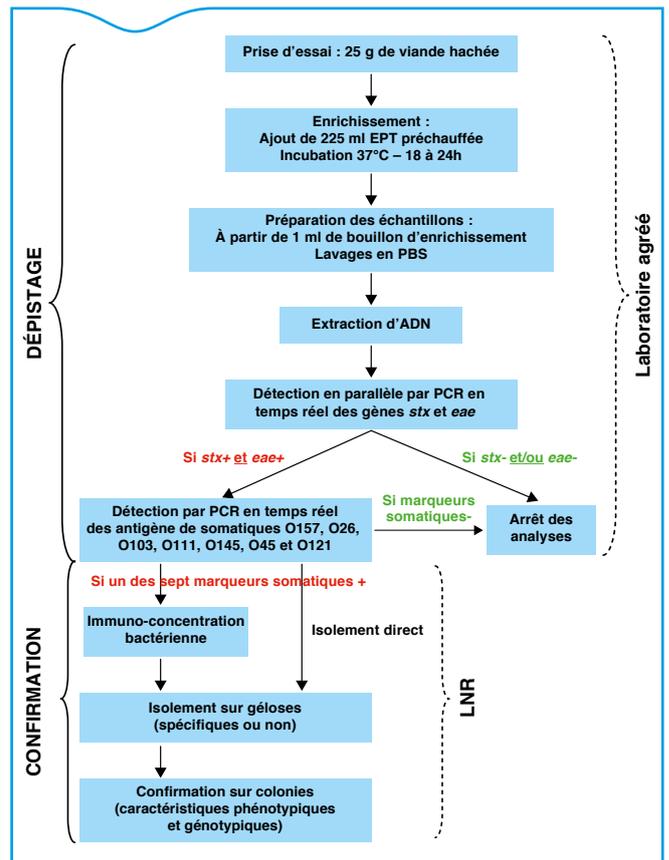


Figure 1. Schéma des principales étapes de la méthode analytique de recherche des souches STEC et acteurs responsables de sa mise en œuvre dans le cadre du plan de surveillance mis en place en 2016.

eae (Nielsen *et al.* 2003), et les gènes associés aux 7 sérogroupes d'intérêt (Perelle *et al.* 2004 et méthode MLG 5B)) dans le bouillon d'enrichissement,

- Si les analyses PCR des gènes *stx* et *eae* et au moins d'un gène spécifique des sérogroupes ciblés étaient positives dans le bouillon d'enrichissement, un isolement des bactéries à l'aide d'une immunoséparation magnétique (IMS) et un isolement direct étaient mis en œuvre,
- Une caractérisation phénotypique (API20E) et génotypique PCR pour confirmer le sérotype des souches isolées suspectes (Perelle *et al.* 2004, Auvray *et al.* 2008, Madic *et al.* 2010) et la présence de facteurs de virulence *stx1*, *stx2* et *eae* (Perelle *et al.* 2004, Nielsen *et al.* 2003)). Des caractérisations génotypiques complémentaires par rapport à celles proposées par la spécification technique ISO/WD TS 13136:2012 ont également été réalisées: recherche par PCR du gène *ehx* (Tzschoppe *et al.* 2012), des variants du gène *eae* (Nielsen *et al.* 2003), des variants du gène *stx* (Scheutz *et al.*, 2012) et de la présence de l'O1122 (Karmali *et al.* 2003).

Le dépistage (recherche des gènes *stx*, *eae* et marqueurs associés à l'un des 7 sérogroupes recherchés) a été effectué par le réseau de laboratoires agréés pour la réalisation des analyses officielles de recherche de STEC, répartis sur le territoire national⁽⁵⁾. Les analyses de confirmation ainsi que les caractérisations fines des souches ont été réalisées par le laboratoire national de référence (LNR) pour les *E. coli* y compris les STEC⁽⁶⁾ (Figure 1).

(1) Les résultats du plan de surveillance conduit en 2015 sont présentés dans le Bulletin Épidémiologique n°77. Les résultats de l'ensemble des plans de surveillance sont synthétisés sur le site internet du ministère en charge de l'agriculture (<http://agriculture.gouv.fr/plans-de-surveillance-et-de-contrôle>).

(2) Les méthodes officielles autorisées sont listées dans la note de service DGAL/SDSSA/SDPRAT/N2013-8179 et disponibles en ligne à l'adresse suivante: <http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-reconnus-methodes-officielles-en-alimentation>.

(3) Spécification technique ISO TS 13136:2012 « Microbiologie des aliments et aliments pour animaux – Méthode basée sur la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) en temps réel pour la détection des microorganismes alimentaires pathogènes dans les aliments – Méthode horizontale pour la détection des *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) et la détermination des sérogroupes O157, O26, O103, O111 et O145 ».

(4) Méthode officielle américaine MLG5B.05 « Detection and Isolation of non-O157 ShigaToxin-Producing Escherichia coli (STEC) from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges » disponible à l'adresse <http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/7ffc02b5-3d33-4a79-b50c-81f208893204/MLG-5B.pdf?MOD=AJPERES>.

(5) Au total, seize laboratoires étaient agréés pour la recherche des STEC pour la réalisation du plan 2016 (liste disponible à l'adresse: http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/e_coli_stec_dans_le_cadre_des_pspc_-_liste_des_laboratoires_agrees_v13.pdf).

(6) 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).

Analyses statistiques

Afin de tenir compte des incertitudes liées aux fluctuations d'échantillonnage, l'intervalle de confiance au sein duquel le taux de contamination réel a une probabilité de 95 % de se situer a été calculé à l'aide du logiciel R (version 3.0.1, R Core Team., 2013) (risque d'erreur α fixé à 5 %). La comparaison des taux obtenus a été effectuée en utilisant le test de Fisher (significativité à une p -value $\leq 0,05$) après vérification de la normalité des données.

Résultats

Un total de 886 échantillons a été prélevé. Cela correspond à un taux de réalisation de 98,4 % par rapport à la prescription initiale. Cependant, seuls 876 de ces 886 échantillons prélevés (98,9 %) ont été analysés. La répartition fine de la nature des viandes analysées est la suivante: 357/876 (40,8 %) échantillons de viandes hachées de bœuf surgelées d'origine française, 298/876 (34 %) échantillons de viandes hachées de bœuf réfrigérées et 221/876 (25,2 %) échantillons de viandes hachées de bœuf surgelées d'origine autre que française. Ces viandes étaient en majorité destinées à être consommées cuites (867/876, soit 98,9 %) et présentaient principalement un taux de matière grasse de 15 % (444/876 soit 50,7 %) et 20 % (229/876, soit 26 %).

Parmi les 876 échantillons analysés, 849 se sont révélés négatifs à l'étape de dépistage:

- 727 échantillons (83,1 %) ont présenté des résultats négatifs à la fois pour les gènes *eae* et *stx*,
- 52 échantillons (5,9 %) ont présenté un résultat positif en PCR pour le gène *eae* seul,
- 58 échantillons (6,6 %) ont présenté un résultat positif en PCR pour les gènes *stx* (*stx1* et/ou *stx2*) seuls,
- 12 échantillons (1,4 %) ont présenté un résultat positif en PCR à la fois pour les gènes *stx* et *eae*, mais négatif pour l'ensemble des sept marqueurs sérogroupaux recherchés.

La Figure 2 présente une synthèse de ces données.

Vingt-sept échantillons (27/876, soit 3,1 % des échantillons analysés) ont en revanche présenté un résultat positif en PCR à la fois pour les gènes *stx* et *eae* et un signal positif pour au moins l'un des sept sérogroupes recherchés. Ils ont donc été considérés comme positifs présomptifs et analysés par le LNR pour confirmation. Les marqueurs sérogroupaux détectés correspondaient aux sérogroupes O145 (*ihp1*_{O145}, 15 échantillons), O26 (*wzx*_{O26}, 13 échantillons), O103 (*wzx*_{O103}, 13 échantillons), O45 (*wzx*_{O45}, 11 échantillons), O121 (*wzx*_{O121}, 8 échantillons) et O157 (*rfbE*_{O157}, 6 échantillons) et O111 (*wbdI*_{O111}, 2 échantillons), 18 échantillons ayant présenté un signal positif pour plusieurs sérogroupes simultanément.

Parmi les vingt-sept échantillons présomptifs positifs, trois ont été confirmés comme contenant une souche STEC considérée comme hautement pathogène (3/876, soit 0,3 % des échantillons analysés; IC95 [0,07-0,99 %]) et quatre comme contenant une souche AEEC particulière (Figure 2). Plus précisément, deux des trois souches STEC ont été isolées de viandes hachées réfrigérées (0,6 % soit 2/298, IC95 [0,08-2,4 %]) et la troisième souche a été isolée de viande hachée surgelée (0,17 %, soit 1/578, IC95 [0,004-0,96 %]). Pour deux des trois échantillons contenant une souche STEC, les animaux étaient nés, élevés et abattus en France et pour un échantillon, les animaux étaient nés, élevés et abattus en Irlande.

Les taux de matière grasse des échantillons contaminés par une souche STEC étaient tous différents (5, 15 et 20 %). Tous les échantillons contaminés étaient destinés à être consommés cuits.

Les caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches isolées sont détaillées dans le Tableau 1.

Les trois souches STEC hautement pathogène isolées appartenaient toutes au sérotype O26:H11 et possédaient toutes les caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches EHEC typiques majeures telles que définies dans l'avis Afssa de 2010 (saisine n° 2010-SA-0031) (association sérotypes, variants du gène *eae* et présence des gènes codant au moins l'un des 2 types de shigatoxines). En outre, ces souches possédaient le gène *ehx* (codant une entérohémolysine) et trois des quatre marqueurs de l'îlot O112. Ces données suggèrent que leur pouvoir pathogène pourrait être accru (Afssa, 2008). En effet,

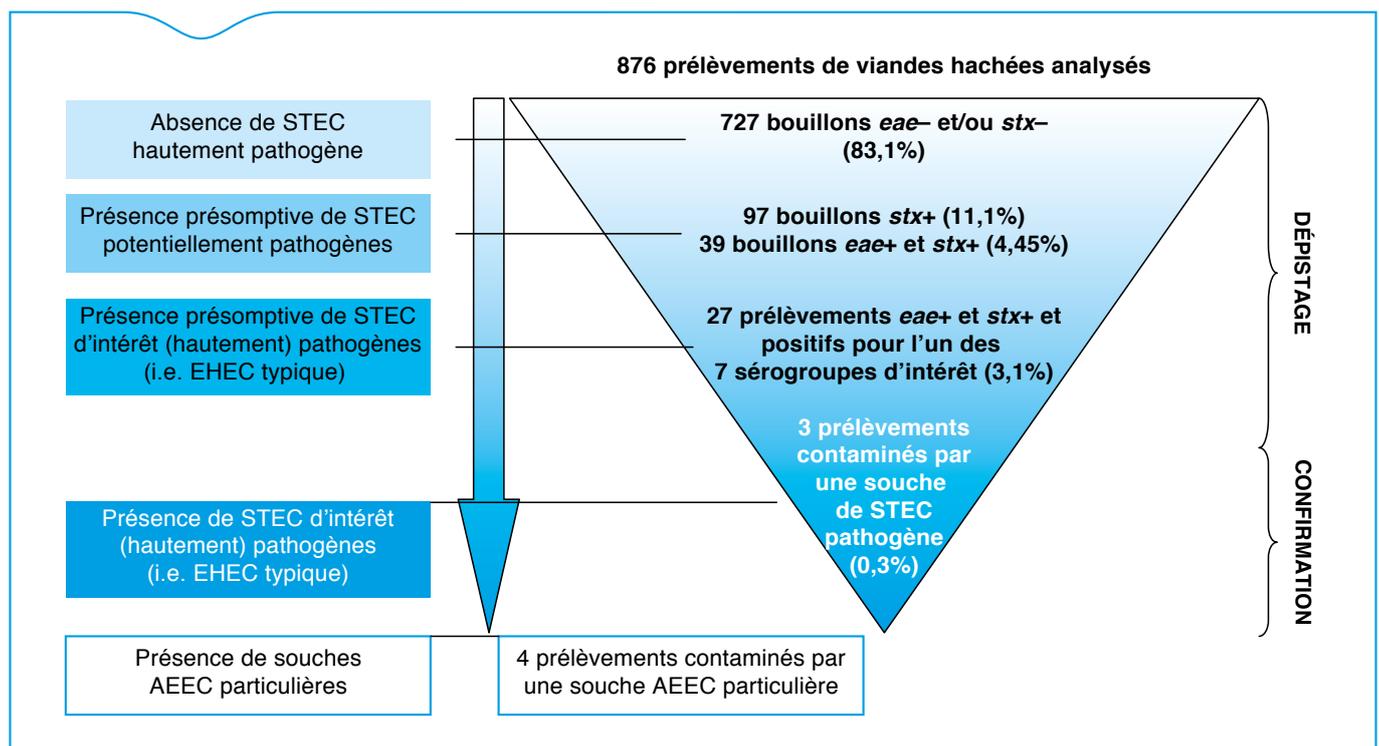


Figure 2. Synthèse des résultats obtenus au cours du plan de surveillance de la contamination par des souches STEC et AEEC des viandes hachées de bœuf mises sur le marché en France en 2016

l'O122 regroupe des gènes codant des effecteurs appelés Nle (*non-LEE encoded effector*, dont le rôle dans le pouvoir pathogène des souches n'a pas encore été élucidé bien qu'ils ne soient pas présents chez les souches non pathogènes). D'une manière générale, plus cet îlot est complet (par exemple présence de 1, 2, 3 ou 4 des gènes recherchés l'O122), plus la maladie associée à ces souches est grave (SHU) (Afssa, 2008).

Trois des quatre souches AEEC isolées appartenaient au sérotype O26:H11 et une au sérotype O103:H2. Ces quatre souches AEEC ont toutes été isolées à partir d'un bouillon d'enrichissement dans lesquels un gène *stx* avait été détecté, elles possèdent toutes les caractéristiques des EHEC typiques majeures sauf la possession du gène *stx* (gène porté par un prophage mobile).

Les trois souches possèdent une partie de l'O122 mais ne possèdent pas le gène codant l'entérohémolysine (*ehx*).

Discussion

Les résultats du plan de surveillance 2016 complètent les informations disponibles relatives à la contamination par des souches STEC des viandes hachées de bœuf (taux de contamination des minerais, viandes hachées réfrigérées ou congelées, en fin de transformation et à la distribution) (BE 77 spécial SSA n°1 et Surveillance des *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) dans les denrées alimentaires en France (2005-2011)). Parallèlement, ce plan apporte les premières données depuis plus de 10 ans relatives à la contamination par des souches STEC des viandes hachées de bœuf surgelées à la distribution.

Le taux de contamination des viandes de bœuf réfrigérées et congelées prélevées à la distribution en 2016 est de 0,3 % (IC95-[0,07-0,99%]).

Plus précisément, le taux de contamination des viandes hachées de bœuf réfrigérées prélevées à la distribution (0,6 % IC95-[0,08-2,4%]) reste relativement stable par rapport aux plans de surveillance précédents (Loukiadis *et al.*, 2012). En effet, en 2009, 2010 et 2015, 0,1 % (IC95-[0,0-0,5%]), 0,2% (IC95-[0,1-0,5%]) et 0,3 % (IC95-[0,08-1,81%]) des échantillons de viandes hachées de bœuf réfrigérées prélevées à la distribution étaient contaminés par des souches STEC hautement pathogènes. Ces résultats indiquent que le taux de contamination des viandes hachées de bœuf réfrigérées est faible mais néanmoins supérieur à celui des viandes hachées surgelées (0,17 % IC95-[0,004-0,96%]). Des analyses complémentaires dans les années futures nous permettraient de confirmer ce très faible taux, peut-être lié à des autocontrôles plus faciles à mettre en place sur les viandes surgelées. En effet, la recherche de STEC dans les aliments prend entre 24 et 72 heures.

Les souches STEC hautement pathogènes isolées en 2016 appartiennent toutes au sérotype O26:H11. Elles sont ainsi potentiellement capables de provoquer chez l'Homme des lésions caractéristiques de la muqueuse intestinale, dites lésions d'attachement et d'effacement, responsables des symptômes de diarrhée et de produire la shigatoxine

de type 1, variant a, incriminée dans la destruction des cellules endothéliales capillaires coliques, rénales et cérébrales à l'origine de colites hémorragiques, de SHU voire de comas (Afssa, 2003). Ce sérotype de souche STEC avait déjà été identifié dans les viandes hachées de bœuf au cours des plans de surveillance précédents (Loukiadis *et al.*, 2012). En 2010, 4 souches STEC O26:H11 avaient été isolées dans 4 échantillons sur 2476 analysés. Cependant, en 2009 et 2015, aucune souche de STEC O26:H11 n'avait été isolée sur respectivement 1 557 et 306 échantillons analysés (Surveillance des *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) dans les denrées alimentaires en France (2005-2011)).

À noter qu'aucune souche appartenant aux sérogroupes O45 et O121 recherchés aux États-Unis dans la viande bovine n'a été retrouvée dans le cadre de ce plan de surveillance, ni des précédents d'ailleurs.

Dans tous les cas, lorsque des souches STEC sont détectées, les opérateurs doivent retirer les produits du marché, réaliser des analyses complémentaires afin d'identifier l'ensemble des lots contaminés et mettre en place des mesures de maîtrise adaptées pour réduire les risques de contamination. Ces mesures de gestion s'appliquent conformément aux instructions de la DGAL⁽⁷⁾.

Les résultats obtenus rappellent l'importance des mesures de maîtrise de ce danger mises en place en amont par les professionnels. Les plans de maîtrise sanitaire permettent en effet de réduire le risque de mise sur le marché de produits contaminés, dès l'abattoir en prenant notamment en compte la propreté des animaux et la maîtrise de certaines étapes à risque (ligature de l'œsophage, ensachage du rectum, arrachage des cuirs et éviscération notamment (Anses, 2014)), puis à la transformation par le respect des bonnes pratiques d'hygiène, et la vérification de l'efficacité des mesures de maîtrise en réalisant des autocontrôles aux points critiques (y compris le contrôle des matières premières au stade de la production).

Par ailleurs, la sensibilisation des consommateurs au respect des conditions de cuisson mentionnées sur l'étiquetage des produits, notamment des viandes hachées de bœuf (cf. « Recueil de recommandations de bonnes pratiques d'hygiène à destination des consommateurs »⁽⁸⁾) permet également, en aval, de réduire le risque de contamination de l'Homme.

Les résultats obtenus ont été publiés dans la note « bilan » des administrations françaises et ont été communiqués à l'EFSA pour publication dans son rapport « zoonoses » (consultable à l'adresse: <http://www.efsa.europa.eu/fr>).

En 2017, la DGAL poursuit la surveillance de la contamination par des souches STEC des viandes hachées de bœuf.

(7) DGAL/MUS/N2012-8002 du 3 janvier 2012 et DGAL/MUS/2015-888 du 23 décembre 2015. (<http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Syndrome-hemolytique-et-uremique>).

(8) http://alimentation.gouv.fr/IMG/pdf/GBPH-CONSO-27SEPT-BD2_cle42eed3.pdf.

Tableau 1. Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches STEC hautement pathogène et AEEC isolées dans des viandes hachées prélevées au stade de la distribution dans le cadre du plan de surveillance 2016

Souche	Caractéristiques phénotypiques		Caractéristiques génotypiques**							
	Profil d'identification API 20E	Sérotype*	<i>eae</i> (variants)	<i>stx1</i> (variants)	<i>stx2</i> (variants)	<i>ehx</i>	O122			
							<i>papC21</i>	<i>sen 26</i>	<i>efa132</i>	<i>efa133</i>
STEC 03H161-D32-11	5144562	O26:H11	+ (β)	+ (1a)	+ (2a)	+	-	+	+	+
STEC 07J161-D86-19	5144562	O26:H11	+ (β)	+ (1a)	-	+	-	+	+	+
STEC 21F161-D92-4	5144562	O26:H11	+ (β)	+ (1a)	-	+	-	+	+	+
AEEC 02I161-D92-13	5144572	O26:H11	+ (β)	-	-	-	-	+	+	+
AEEC 11J161-D50-20	5154572	O103:H2	ND	-	-	-	-	-	-	-
AEEC 13I161-D92-14	5144572	O26:H11	+ (β)	-	-	-	-	+	+	+
AEEC 13L161-D49-27	5144572	O26:H11	+ (β)	-	-	-	-	+	+	+

À plus long terme, le LNR pourra analyser de manière plus fine les souches isolées par séquençage total d'ADN (Whole Genome Sequencing). Cette démarche permettra de connaître les séquences des génomes bactériens dans leur globalité. Les clones isolés dans le cadre des plans de surveillance pourront être comparés entre eux et avec des souches isolées dans le cadre d'autres expérimentations (matrices différentes ou souches humaines) et référencées dans des bases de données (Européenne notamment). Ces analyses permettront également d'étudier la diversité génomique des STEC/EHEC circulant.

Enfin, les bouillons présentant des PCR positives pour les gènes *stx* et *eae/stx* ont été envoyés et analysés par le LNR. Ces travaux permettent d'étudier l'émergence éventuelle d'autres sérotypes dans les matrices alimentaires. Par ailleurs, les souches STEC recherchées au cours des plans de surveillances évoluent en fonction des sérotypes isolés dans les cas humains. Ainsi, le sérotype O80 a été introduit dans les récents plans de surveillance sur les STEC.

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.

Références bibliographiques

- Afssa. 2003. Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC). 220 pp. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC-Ra-STEC.pdf>.
- Afssa. 2008. Avis aux souches d'*Escherichia coli* productrices de shigatoxines considérées comme pathogènes pour l'homme, rendu le 15 juillet 2008 – Saisine n° 2008-SA-0122. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2008sa0122.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. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2010sa0031.pdf>.
- Anses. 2014. Avis relatif à « la définition d'un plan d'échantillonnage pour la détection d'*E. coli* O157:H7 dans le cadre des autocontrôles en filière viande hachée bovine », rendu le 6 mai 2014 – Saisine n° 2013-SA-0223 liée à la saisine n° 2010-SA-0031. <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2013sa0223.pdf>.
- Auvray, F., Lecureuil, C., Tache, J., Perelle, S., Fach, P. 2008. Development of a 5'-nuclease PCR assay for the identification of *Escherichia coli* strains expressing the flagellar antigen H21 and their detection in food after enrichment. *J Appl Microbiol.* 104, 899–905.
- Beutin, L., Fach, P. 2014. Detection of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* from Non human Sources and Strain Typing. *Microbiol Spectr.* 2, 1-23.
- Brugère, H., Auvray, A., Mariani-Kurkidjian, 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.*, 50, 23-30.
- 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>.
- Gauchard, F. et Calavas, D. 2019. Zoonoses, agents zoonotiques et toxico-infections alimentaires collectives en Europe en 2016. *Bull. Epid. Santé Anim. Alim.*, 89 (13), 1-2.
- Loukiadis, E., Callon, H., Mazuy-Cruchaudet, C., Vallet, V., Bidaud, C., Ferré, F., Giuliani, L., Bouteiller, L., Pihier, N., Danan, C. 2012. Surveillance of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) in foodstuffs in France (2005-2011). *Bull. Epid. Santé Anim. Alim.*, 55, 3-9.
- Madic, J., Peytavin de Garam, C., Vingadassalon, N., Oswald, E., Fach, P., Jamet, E., Auvray, F. 2010. Simplex and multiplex real-time PCR assays for the detection of flagellar (H-antigen) *flhC* alleles and intimin (*eae*) variants associated with enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) serotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 and O157:H7. *J. Appl. Microbiol.* 9, 1696-1705.
- Mohamed, A.K., Mascarenhas, M., Shen, S., Ziebell, K., Johnson, S., Reid-Smith, R., Isaac-Renton, J., Clark, C., Rahn, K., Kaper, J.B. 2003. Association of Genomic O Island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* Serotypes That Are Linked to Epidemic and/or Serious Disease. *J. Clin. Microbiol.* 41, 4930-4940.
- Nielsen, E.M., Andersen, M.T. 2003. Detection and Characterization of Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* by Automated 5' Nuclease PCR Assay. *J. Clin. Microbiol.* 41, 2884–2893.
- Perelle, S., Dilasser F., Grout, J., Fach, P. 2004. Detection by 5'-nuclease PCR of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* O26, O55, O91, O103, O111, O113, O145 and O157:H7, associated with the world's most frequent clinical cases. *Mol. Cell. Probes.* 18, 185-192.
- 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.
- Saisine ANSES 2010-SA-0031. Avis de l'Agence Française de sécurité Sanitaire des Aliments relatif à la pertinence d'une révision de la définition des STEC pathogènes précisée par l'avis Afssa du 15 juillet 2008.
- Scheutz, F., Teel, L.D., Beutin, L., Piérard, D., Buvens, G., Karch, H., Mellmann, A., Caprioli, A., Tozzoli, R., Morabito, S., Strockbine, N.A., Melton-Celsa, A.R., Sanchez, M., Persson, S., O'Brien, A.D. 2012. Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature. *J Clin Microbiol.* 50: 2951-63.
- 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.
- <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Syndrome-hemolytique-et-uremique>