

Surveillance des *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) dans les viandes hachées de bœuf réfrigérées mises sur le marché en France en 2015

Estelle Loukiadis (1) (estelle.loukiadis@vetagro-sup.fr), Christine Mazuy-Cruchaudet (1), Aurélie Granjon (1), Sophie Félix (1), Marie-Pierre Donguy (2), Sébastien Rémy (3), Sabine Itié-Hafez (3), Corinne Danan (3)

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

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

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

Résumé

Les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) sont des agents pathogènes majeurs, responsables d'affections parfois mortelles. Bien que plus de 200 sérotypes aient été rapportés, seuls sept sont responsables de la majorité des épidémies et affections sévères recensées. 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. Bien qu'il n'existe aucun critère réglementaire, une viande contenant une de ces souches est considérée comme « dangereuse ». Aussi, le plan de surveillance 2015 visait à établir le taux de contamination des viandes hachées de bœuf réfrigérées 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.

Les résultats obtenus confirment que le taux de contamination des viandes hachées de bœuf réfrigérées est faible (0,3 % ; IC95 [0,01-1,9]) 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. L'unique souche isolée est une souche STEC O103:H2 possédant des marqueurs génétiques de virulence accrue.

En 2016, la direction générale de l'Alimentation poursuivra la surveillance de la contamination des viandes hachées de bœuf par ces agents pathogènes au stade de la distribution.

Mots-clés

STEC, EHEC, surveillance, viandes hachées de bœuf, 2015, France

Abstract

Surveillance of shigatoxin-producing E. coli (STEC) in refrigerated fresh minced beef on the French market in 2015

Shigatoxin-producing Escherichia coli (STEC) are considered as major pathogens causing severe and sometimes lethal infections in humans. Although more than 200 serotypes have been reported, only seven of them have been consistently associated with severe cases. Transmission of STEC to humans occurs mainly through consumption of undercooked minced beef contaminated by animal faeces. Although there are no statutory criteria, meat containing one of these strains is considered as harmful to health. Thus, the surveillance plan conducted in 2015 aimed to assess, for fresh minced beef on the French market, the rate of contamination by STEC identified as a higher risk in order to assess consumer exposure.

The results obtained confirm that the contamination rate for meat was low (0.3%; 95CI [0.01-1.9]) and similar to those obtained previously, suggesting that the risk of human exposure via the consumption of minced beef in France remains limited. The only strain isolated was an O103:H2 STEC strain showing genetic markers of greater virulence.

The Directorate General for Food will continue to monitor STEC contamination in beef collected on the market in 2016.

Keywords

STEC, EHEC, Surveillance, Minced beef, 2015, France

Les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) pathogènes sont considérés comme une préoccupation de santé publique majeure dans plusieurs régions du monde du fait de l'extrême gravité des symptômes qu'ils engendrent (Afssa, 2003). En effet, les STEC pathogènes sont responsables de cas sporadiques et d'épidémies de colite hémorragique et d'affections rares engageant le pronostic vital des patients, en particulier des enfants, telles que le syndrome hémolytique et urémique (SHU). 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).

Bien que plus de 200 sérotypes de souches STEC pathogènes aient été incriminés dans les affections humaines, seuls quelques-uns sont responsables de la majorité des épidémies et affections sévères. En France, les souches STEC appartenant à l'un des cinq sérotypes, O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 ou O157:H7 sont associées à 70 à 80 % des cas recensés et ont été définies comme hautement pathogènes (Afssa, 2010, Brugère *et al.*, 2012). Aux États-Unis, les souches STEC de mêmes sérotypes ainsi que les souches STEC O45 et O121 sont considérées comme les plus à risque.

Le réservoir naturel des STEC pathogènes est le tube digestif des ruminants. La consommation de viande hachée de bœuf contaminée, crue ou insuffisamment cuite, est identifiée comme l'une des principales

voies de contamination lors des enquêtes réalisées en cas de SHU, pour lesquelles un aliment responsable a été identifié (Afssa, 2003).

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 la protection de 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 synthèse avec les données d'autres États membres.

Actuellement, il n'existe aucun critère microbiologique réglementaire pour les STEC dans les viandes hachées de bœuf. Néanmoins, un steak haché de bœuf contenant une souche STEC hautement pathogène est considéré par les autorités françaises comme « dangereux » au sens

de l'article 14 du règlement (CE) N° 178/2002 car préjudiciable à la santé, compte tenu de la gravité des affections liées et des habitudes françaises de consommer cet aliment sans cuisson suffisante⁽¹⁾.

L'objectif du plan de surveillance STEC conduit en 2015 était de collecter des données pour apprécier le taux de contamination des viandes hachées de bœuf réfrigérées mises sur le marché en France et, par conséquent, l'exposition du consommateur à ce danger.

Matériels et méthodes

Protocole d'échantillonnage

Le plan de surveillance prévoyait la réalisation de 306 prélèvements de lots différents de viandes hachées de bœuf réfrigérées de une unité (n=1) au stade de la distribution, dans des établissements de commerce de détail de type grandes et moyennes surfaces (GMS) qui représentent 95 % des achats des viandes de boucherie en France (hypermarchés, supermarchés et « hard-discount »).

Ces 306 prélèvements ont été prévus en France métropolitaine, au prorata du nombre d'habitants par région (Figure 1), de façon à être le plus représentatif possible de l'exposition du consommateur. Les prélèvements devaient être échelonnés sur toute l'année 2015.

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 protectrice) et étiqueté. L'échantillon prélevé devait avoir une date limite de consommation valide, et ce jusqu'à la mise en œuvre de l'analyse.

Nature des contaminants recherchés

Les bactéries pathogènes recherchées étaient :

- les souches STEC considérées en France comme hautement pathogènes pour l'Homme (Afssa, 2010), c'est-à-dire les souches possédant les gènes de virulence *stx* (*stx1* et/ou *stx2*) et *eae* et appartenant à l'un des cinq sérotypes O157:H7, O26:H11, O145:H28, O103:H2 ou O111:H8,
- les souches STEC considérées comme pathogènes (Afssa, 2010), possédant les gènes de virulence *stx* (*stx1* et/ou *stx2*) et *eae* et appartenant soit au sérotype O45, soit au sérotype O121, ciblées par la réglementation américaine.

Méthode analytique mise en œuvre

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

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⁽³⁾, recommandée par l'Efsa (EFSA, 2009) et de la méthode officielle américaine MLG5B⁽⁴⁾ (Figure 2) :

- 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,

1. http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/Guide_Gestion_Alerte_Revision_2_jlt_2009_COMPLETEE_VDef_cle09fc34.pdf.
 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-methodes-officielles-alimentation-568>.
 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>.

Encadré.

Objectif

Ce plan de surveillance était destiné à évaluer la contamination par des souches STEC des viandes hachées de bœuf réfrigérées mises sur le marché en France et, par conséquent, à apprécier l'exposition des consommateurs.

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.

• **Productions concernées:** viandes de bœuf hachées 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**

306 prélèvements ont été réalisés en France métropolitaine entre février et décembre 2015, selon une répartition par région au prorata du nombre d'habitants.

Chaque échantillon a été prélevé dans son conditionnement d'origine dans les rayons libre-service réfrigérés des grandes et moyennes surfaces.

• **Stratégie d'échantillonnage:** aléatoire.

• **Méthode analytique, nature du prélèvement**

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

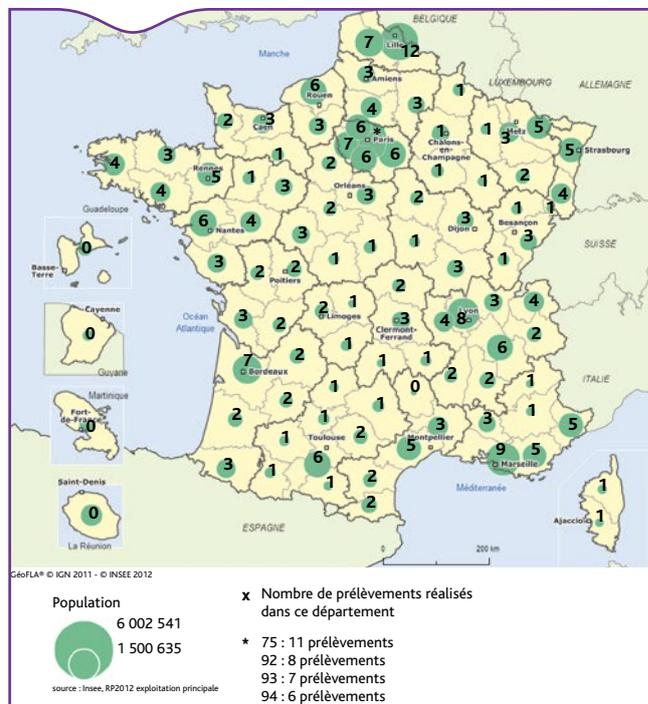


Figure 1. Répartition départementale du nombre de prélèvements prévus en fonction du nombre d'habitants (d'après <http://www.statistiques-locales.insee.fr> et données Insee de 2012)

- une deuxième 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 cibles: gènes *stx* (Perelle *et al.* 2004), gènes *eae* (Nielsen *et al.* 2003), et gènes associés aux 7 sérogroupes d'intérêt (Perelle *et al.* 2004 et méthode MLG 5B),

• 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 de l'un des gènes spécifiques des sérogroupes ciblés sont détectés de façon concomitante dans le bouillon d'enrichissement. Cette étape d'isolement spécifique des bactéries appartenant au sérotype détecté à partir du bouillon

d'enrichissement fait appel en parallèle à des techniques d'immuno-séparation magnétique (IMS) et à un isolement direct,

• une quatrième étape de caractérisation phénotypique (API20E) et génotypique des souches d'*E. coli* isolées dans l'étape précédente. Plus précisément, les antigènes somatiques et flagellaires ont été recherchés par PCR pour confirmer le sérotype des souches d'*E. coli*

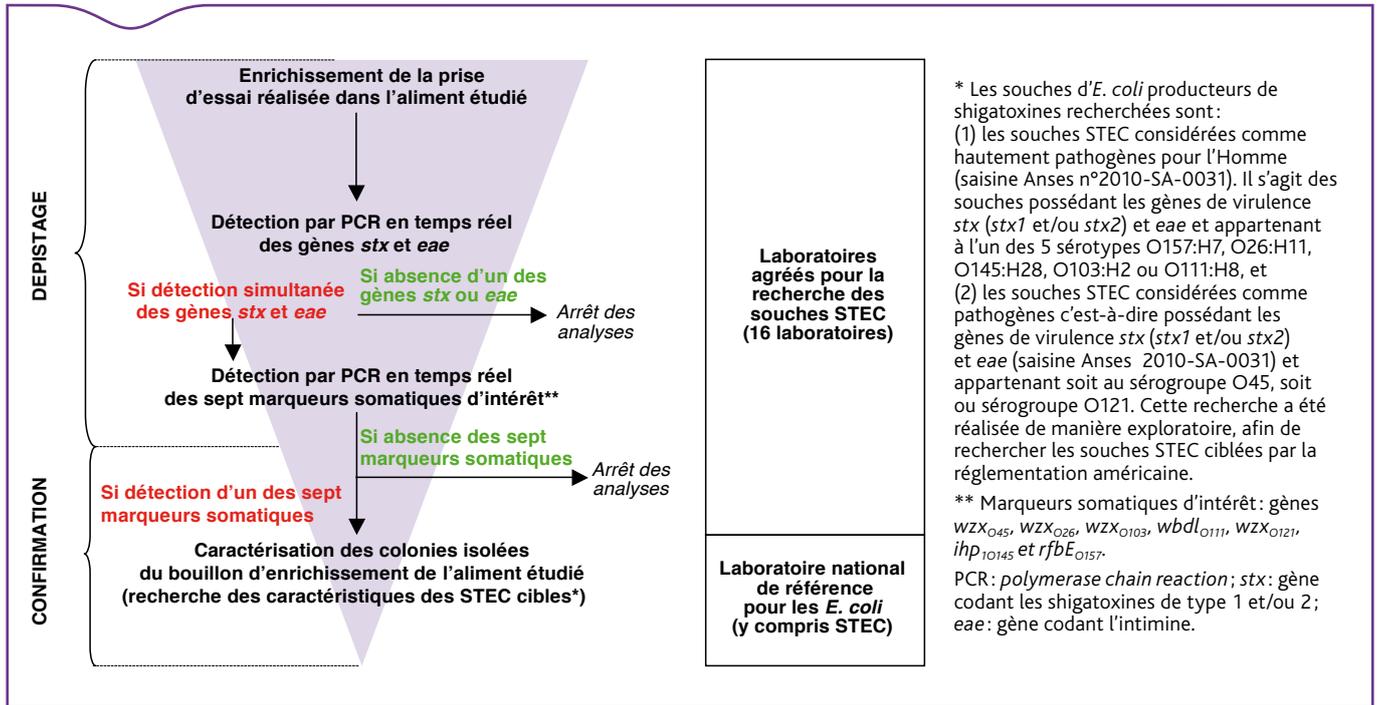


Figure 2. Schématisation des principales étapes de la méthode de recherche des souches STEC et acteurs responsables de sa mise en œuvre dans le cadre du plan de surveillance mis en place en 2015 (adapté de Loukiadis *et al.*, 2012)

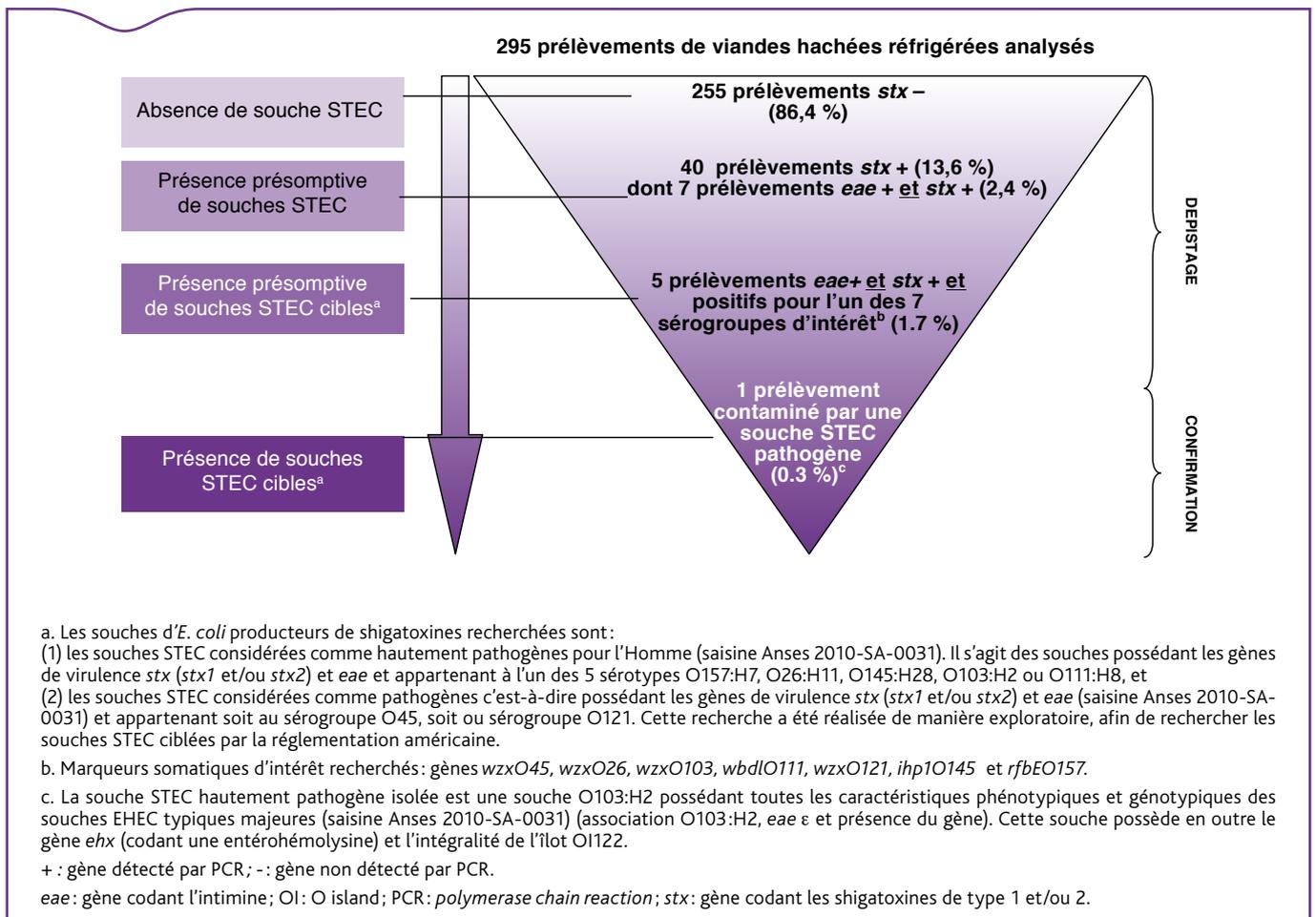


Figure 3. Synthèse des résultats obtenus au cours du plan de surveillance de la contamination par des souches STEC^a des viandes hachées de bœuf réfrigérées mises sur le marché en France en 2015

ainsi isolées (Perelle *et al.* 2004, Auvray *et al.* 2008, Madic *et al.* 2010). Les facteurs de virulence *stx1*, *stx2* et *eae* dans les isolats prélevés ont été recherchés par PCR (Perelle *et al.* 2004, Nielsen *et al.* 2003). Des caractérisations génotypiques complémentaires par rapport 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'O122 (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 complémentaires et de confirmation ont été réalisées par le laboratoire national de référence (LNR) pour les *E. coli* y compris les STEC⁽⁶⁾ (Figure 2).

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 de données.

Résultats

Un total de 306 échantillons a été prélevé, ce qui correspond à un taux de réalisation de 100 % par rapport à la prescription initiale. Cependant, seuls 295 de ces 306 échantillons prélevés (96,4 %) ont été analysés car onze échantillons ne respectaient pas les consignes de réalisation du plan. Les viandes hachées analysées étaient majoritairement d'origine française (97,3 %, 99 % et 100 % des échantillons provenaient respectivement d'animaux nés, élevés et abattus en France). Elles étaient en majorité destinées à être consommées cuites (286/295, soit 96,9 %) et présentaient principalement un taux de matière grasse de 5 % (135/295, soit 45 %) ou de 15 % (136/295, soit 45 %).

La Figure 3 présente une synthèse des résultats obtenus. Parmi les 295 échantillons analysés, 290 ont été trouvés négatifs; en effet:

- 235 échantillons (79,7 %) ont donné des résultats négatifs à la fois pour les gènes *eae* et *stx*,
- vingt échantillons (6,8 %) ont donné un résultat positif en PCR pour le gène *eae* seul,
- 33 échantillons (11,2 %) ont donné un résultat positif en PCR pour les gènes *stx* (*stx1* et/ou *stx2*) seuls,
- deux échantillons (0,7 %) ont donné un résultat positif en PCR à la fois pour les gènes *stx* et *eae*, mais négatif pour l'ensemble des sept marqueurs sérogroupaux recherchés.

5. Au total, seize laboratoires étaient agréés pour la recherche des STEC pour la réalisation du plan 2015 (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).

Seuls cinq échantillons (5/295, soit 1,7 % des échantillons analysés) ont donné 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 été considérés comme positifs présomptifs. Aucun des marqueurs associés aux sérogroupes O157, O111, O45 ou O121 n'a été détecté. Les marqueurs sérogroupaux détectés correspondaient aux sérogroupes O103 (*wzxO103*, 3 échantillons), O145 (*ihpO145*, 2 échantillons) et O26 (*wzxO26*, 2 échantillons), deux échantillons ayant donné un signal positif pour deux sérogroupes simultanément.

Parmi les cinq échantillons présomptifs positifs, un seul a été confirmé comme contenant une souche STEC considérée comme hautement pathogène (1/295, soit 0,3 % des échantillons analysés; IC95 [0,01-1,9]) (Figure 3). Cet échantillon était un steak haché possédant un taux de matière grasse de 15 % destiné à être consommé cuit. La viande était d'origine française (animaux nés, élevés et abattus en France).

Les caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches isolées sont détaillées dans le Tableau 1. La souche STEC hautement pathogène isolée appartient au sérotype O103:H2 et possède 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 l'un des types de shigatoxines). Cette souche possède en outre le gène *ehx* (codant une entérohémolysine) et l'intégralité de l'îlot O122, ce qui suggère que son pouvoir pathogène pourrait être accru (Afssa, 2008). En effet, 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).

Discussion

À ce jour, les données des plans de surveillance des STEC 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 faibles et comparables depuis plusieurs années. Le taux de contamination observé en 2015 des viandes hachées de bœuf réfrigérées mises sur le marché n'est pas significativement différent des résultats des plans de surveillance précédents (Loukiadis *et al.*, 2012). En effet, lors des plans de surveillance de 2009 et 2010 relatifs à la contamination par STEC des viandes hachées de bœuf réfrigérées prélevées à la distribution, 0,1 % (IC95 [0,0-0,5]) et 0,2 % (IC95 [0,1-0,5]) des échantillons analysés avaient respectivement été confirmés comme étant contaminés par une souche STEC hautement pathogène. Ces résultats soulignent que l'exposition du consommateur à ce danger *via* la consommation de viande hachée de bœuf représente un risque faible.

La souche STEC hautement pathogène isolée en 2015 appartient au sérotype O103:H2. Elle est ainsi potentiellement capable 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,

Tableau 1. Caractéristiques phénotypiques et génotypiques de la souche STEC hautement pathogène isolée dans des viandes hachées réfrigérées prélevées au stade de la distribution dans le cadre du plan de surveillance 2015

Souche	Caractéristiques phénotypiques		Caractéristiques génotypiques*							
	Profil d'identification API 20E	Sérotype**	<i>eae</i> (variant)	<i>stx1</i> (variant)	<i>stx2</i> (variant)	<i>ehx</i>	O122			
							<i>papC21</i>	<i>sen 26</i>	<i>efa132</i>	<i>efa133</i>
85-93	5 144 572	O103:H2	+ (ε)	+ (1a)	-	+	+	+	+	

* déterminées par PCR (ISO TS 13136:2012 et autres références citées dans la partie matériel et méthodes)

** déterminé par PCR (les gènes cibles pour la détermination des sérotypes sont indiqués dans l'avis Afssa 2008-SA-0122 et ils ont été recherchés par PCR selon ISO TS 13136:2012 pour les marqueurs somatiques et selon Madic *et al.* 2010 pour les marqueurs flagellaires)

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 même si, en termes d'importance, il n'est retrouvé généralement qu'après O26:H11 et O157:H7 (Loukiadis *et al.*, 2012). Les souches STEC O103:H2 ont été responsables de 2 % des 114 cas de SHU recensés chez les enfants de moins de quinze ans en France en 2014 et de 1,4 % des 698 cas recensés sur la période 2010-2014 (<http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Syndrome-hemolytique-et-uremique>) mais n'ont jamais été incriminées dans des épisodes de cas groupés alimentaires en France (Loukiadis *et al.*, 2012).

À noter qu'aucune souche STEC O45 ou O121 recherchée aux Etats-Unis dans la viande bovine n'a jamais été retrouvée en France.

Dans tous les cas, lorsque des souches STEC sont détectées, les opérateurs doivent retirer les produits du marché, rechercher les sources de contamination potentielles 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⁾.

L'ensemble des résultats obtenus permettent de rappeler l'importance de 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 2016, la DGAL a poursuivi la surveillance de la contamination par des souches STEC des viandes hachées de bœuf (réfrigérées et surgelées) par la mise en œuvre d'un plan de surveillance au stade de la distribution.

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-TEC.pdf>.

7. DGAL/MUS/N2012-8002 du 3 janvier 2012 et DGAL/MUS/2015-888 du 23 décembre 2015.

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

Afssa. 2008. Avis aux souches d'*Escherichia coli* productrices de shigatoxines considérées comme pathogènes pour l'homme, rendu le 15 juillet 2008 – Saisine 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 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 2013-SA-0223 liée à la saisine 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>.

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* Seropathotypes That Are Linked to Epidemic and/or Serious Disease. *J. Clin. Microbiol.* 41, 4930-4940.

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) *fliC* 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.

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.

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.