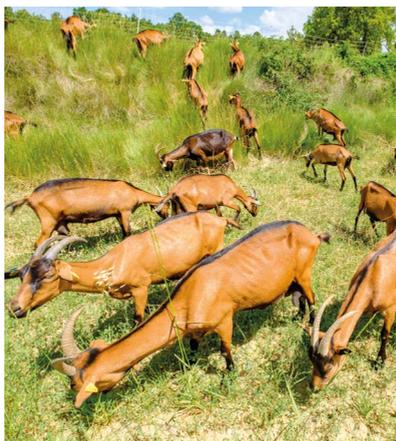


# SURVEILLER STEC HP EN FILIÈRE DE FABRICATION DE FROMAGES AU LAIT CRU

## DOCUMENT D'AIDE MÉTHODOLOGIQUE



Plateforme de Surveillance de la Chaîne Alimentaire - 2022





## AVANT-PROPOS

Les ruminants sont le principal réservoir des ***Escherichia coli producteurs de shigatoxines (STEC)***. Les ruminants porteurs hébergent ces bactéries dans leur tractus gastro-intestinal sans aucun symptôme de maladie et les excrètent dans leurs fèces. Quand les bonnes pratiques d'hygiène ne sont pas optimales, les matières fécales peuvent contaminer la peau des mamelles des femelles laitières et contaminer le lait pendant la traite. Des produits alimentaires autres que le lait cru et les produits à base de lait cru peuvent être contaminés par les STEC, c'est le cas de l'eau, de la viande et des végétaux.

Lorsque du lait contaminé par des STEC est utilisé pour produire des fromages au lait cru, les STEC peuvent survivre, voire croître dans certains fromages et être à l'origine, pour certaines souches de STEC, de pathologies graves chez les consommateurs.

Le constat a été fait d'une surveillance de STEC très disparate selon les opérateurs de la filière ; le groupe de travail de la Plateforme de surveillance de la chaîne alimentaire (<https://www.pplateforme-sca.fr/>) s'est donné l'objectif, dans un mode collaboratif propre aux Plateformes d'épidémiosurveillance, de travailler avec les différents acteurs professionnels et institutionnels pour définir des recommandations

visant à améliorer la surveillance de STEC en production de fromages au lait cru, de manière à généraliser la prise en compte de ce danger sanitaire par tous les opérateurs.

Les recommandations formulées tiennent compte des réalités du terrain et des moyens disponibles pour détecter et caractériser les STEC hautement pathogènes (STEC HP) en routine ; de nouvelles méthodes analytiques plus performantes sont également mises en perspectives.

Un seul document est proposé pour les trois filières de production - bovine, ovine et caprine - qu'elles soient fermières ou industrielles, et lorsque des différences existent entre les filières animales, ou entre les types de productions, elles sont mentionnées.

Ce document recommande les actions de surveillance à mettre en place au niveau des différents maillons de la chaîne alimentaire, de l'élevage laitier au consommateur de fromages au lait cru ; il apporte une aide méthodologique que chacun des acteurs peut s'approprier, il n'est ni un vademecum d'inspection, ni un document d'audit. Les mesures de maîtrise à mettre en place relèvent de la responsabilité de chaque opérateur.

### **Ce document s'adresse aux :**

Producteurs de lait  
Producteurs fermiers  
Vétérinaires  
Techniciens intervenant en élevage

Groupements/associations de producteurs  
Entreprises de collecte et/ou fabrication  
Entreprises de distribution  
Instances/organismes en santé humaine  
Autorités sanitaires

## PARTENAIRES



## REMERCIEMENTS

### Ont participé à la réalisation de ce document :

Frédéric AUVRAY (ENVT) ; Cécile BAILLY (Confédération Générale de Roquefort) ; Frédéric BERTASSI (DGAL) ; Estelle BOULLU (FNEC) ; Emmanuelle BOURDEAUX (FCD) ; Diane CUZZUCOLI (DGAL) ; Patrick FACH (ANSES) ; Caroline FRILLEY (CNIEL / Lactalis) ; Kristel GACHE (GDS France) ; Gabrielle JONES (Santé Publique France) ; Lou GOURE (FNPL) ; Renaud LAILLER (ANSES) ; Karine LE BARILLEC (CNIEL) ; Valérie MICHEL (ACTALIA) ; Leslie MARTIN (Fédération des Fromagers de France) ; Bruno MATHIEU (CNAOL) ; Yolande MOULEM (ANPLF) ; Thierry MERGNAT (ADILVA) ; Matthieu MOURER (DGAL) ; Claire POSTIC (DGAL/MUS) ; Philippe POTTIE (SNGTV) ; Sabrina RAYNAUD (IDELE) ; Delphine SERGENTET (Vetagro-Sup) ; Fanny TENENHAUS-AZIZA (CNIEL) ; Dominique VERNEAU (ANICAP / Triballat Rians).

**Coordinateurs** : Hélène AMAR (DGAL), Choreh FARROKH (CNIEL).

<b>OBJECTIFS DE LA SURVEILLANCE</b> .....	<b>6</b>
<b>RAPPEL RÉGLEMENTAIRE</b> .....	<b>7</b>
<b>OBJET DE LA SURVEILLANCE</b> .....	<b>9</b>
Qu'est-ce qu'on appelle <i>E. Coli</i> ? Qu'est-ce qu'on appelle STEC et STEC HP ?.....	10
STEC, un pathogène pour l'homme.....	11
Comment peuvent circuler les STEC de l'élevage au lait ?.....	12
Comment se comportent les STEC dans les fromages ? .....	13
Comment détecte-t-on et caractérise-t-on les STEC HP ?.....	15
<b>MÉTHODOLOGIE DE SURVEILLANCE ET D'INVESTIGATION</b> ..	<b>17</b>
 <b>ÉLEVAGE</b> .....	<b>19</b>
Surveillance de routine.....	19
Surveillance renforcée et / ou Investigation .....	20
 <b>COLLECTE DU LAIT</b> .....	<b>22</b>
Surveillance de routine.....	22
Surveillance renforcée et / ou Investigation .....	24
 <b>TRANSFORMATION</b> .....	<b>25</b>
Surveillance de routine .....	25
Surveillance renforcée et / ou Investigation .....	27
 <b>DISTRIBUTION</b> .....	<b>29</b>
Surveillance de routine.....	29
Surveillance renforcée et / ou Investigation .....	31
 <b>SANTÉ HUMAINE</b> .....	<b>33</b>
Surveillance des infections à STEC.....	33
<b>ANNEXES</b>	
ANNEXE 1 : Utilisation des filtres à lait.....	35
ANNEXE 2 : Démarche d'intervention en élevage, lors d'une investigation .....	36
ANNEXE 3 : Validation d'un plan d'échantillonnage .....	38
ANNEXE 4 : Caractérisation des souches .....	41
ANNEXE 5 : Plans de contrôle et de surveillance officiels.....	43
ANNEXE 6 : Recommandations de travaux à mener pour améliorer la surveillance des STEC .....	45



# OBJECTIFS DE LA SURVEILLANCE

**LA SURVEILLANCE DE LA CONTAMINATION DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE EST UN ENSEMBLE D'ACTIVITÉS QUI VISE À FOURNIR DES INFORMATIONS DE QUALITÉ SUR LA SITUATION OU L'ÉVOLUTION D'UNE CONTAMINATION, INFORMATIONS UTILES POUR GUIDER LA PRISE DE DÉCISION(S) À UN OU PLUSIEURS STADES DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE. CETTE SURVEILLANCE A DONC VOCATION À FACILITER LA RÉACTIVITÉ ET L'ADAPTATION DES ACTEURS AUX SITUATIONS DÉFAVORABLES, PARFOIS COMPLEXES À ÉLUCIDER, À LA FERME, À L'USINE OU LORS DE LA DISTRIBUTION DES ALIMENTS.**

## **Les objectifs généraux associés à la surveillance sont :**

- détecter les cas de contamination par un danger connu ou inhabituel (émergence de nouveaux dangers) responsables de pathologies chez l'animal et/ ou l'homme,
- suivre les tendances évolutives (niveaux de contamination, prévalence, incidence) notamment par la réalisation d'autocontrôles,
- déclencher des alertes suite à la détection et notification d'un signal (survenue d'un danger potentiel ou événement sanitaire d'intérêt), nécessitant la validation de ce dernier.

Ainsi, les informations issues de la surveillance contribuent à évaluer l'impact des stratégies déployées et des mesures de lutte mises en œuvre, et plus généralement d'évaluer les risques et dégager des pistes de recherche.

Les activités de surveillance doivent s'inscrire dans une approche coût-bénéfice équilibrée, notamment pour la réalisation des analyses microbiologiques.

## **Une surveillance efficace reposera sur :**

- des modalités adaptées, pour collecter des données pertinentes et de qualité, basées généralement sur des approches complémentaires (surveillances événementielle et programmée),
- un système organisé pour permettre le rapprochement des données collectées aux différentes étapes de la chaîne, voire leur analyse conjointe. La plus-value apportée est cependant consommatrice de ressources, aussi, le niveau approprié de collaboration

doit être établi et partagé par tous, pour maximiser la performance et minimiser les coûts,

- une interprétation consensuelle des résultats de surveillance acquis,
- un plan d'action collaboratif impliquant les différents acteurs et maillons de la chaîne alimentaire. La nature et les modalités de circulation des informations entre les acteurs doivent être précisées selon le niveau de surveillance adopté (routine, renforcé, investigation).



# OBJECTIFS DE LA SURVEILLANCE

## Rappel réglementaire

Le « Paquet hygiène » est un ensemble de règlements européens directement applicables dans tous les États membres et visant à obtenir un niveau de sécurité sanitaire élevé et harmonisé.

Il concerne l'ensemble de la filière agroalimentaire depuis la production primaire, animale et végétale jusqu'à la distribution au consommateur final, en passant par l'industrie agroalimentaire, les métiers de bouche, et le transport. Il fixe les objectifs à atteindre par les professionnels en leur laissant une certaine latitude sur les moyens.

Les exploitants du secteur alimentaire ont la responsabilité juridique de la sécurité sanitaire des denrées alimentaires qu'ils mettent sur le marché (article 17 .1 du règlement (CE) n°178/2002<sup>1</sup> et article 1.a) du règlement (CE) n°852/2004<sup>2</sup>).

Chaque exploitant doit mettre en place un ensemble de mesures préventives et d'autocontrôles adapté à son activité, constituant son plan de maîtrise sanitaire (PMS), afin de sécuriser son système de production et de mettre sur le marché des produits sains et sûrs (article 1 du règlement (CE) n°852/2004).

À la production primaire, la maîtrise de la sécurité sanitaire du lait cru par les producteurs est essentiellement assurée par la mise en œuvre de bonnes pratiques d'hygiène notamment afin d'éviter les contaminations fécales du lait lors de la traite ([cf. fiche STECAMONT<sup>3</sup>](#)).

Les bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication constituent également le socle du PMS pour tous les exploitants, de la collecte à la transformation et la distribution des produits laitiers.

Au-delà de la production primaire, les professionnels sont tenus en outre de procéder, selon les principes de la méthode HACCP, à une analyse des dangers inhérents à leur activité et de définir les procédures nécessaires à la maîtrise des dangers détectables et significatifs en matière de prévalence ou de gravité (comme STEC dans les fromages au lait cru hors les pâtes pressées cuites).

### Les exploitants doivent ainsi définir et mettre en œuvre :

- des mesures permettant de **limiter ces dangers**, par exemple en luttant contre les facteurs de contamination (par exemple : nettoyage et désinfection des équipements), de développement microbien (exemple : température de conservation) ou de mesures de maîtrise comme le tri du lait à la collecte,
- des **mesures de surveillance et de vérification** via l'élaboration d'un plan d'**autocontrôles**<sup>4</sup> pertinent au regard de l'analyse de dangers de l'établissement,
- des **procédures préétablies de gestion des non-conformités** les plus susceptibles de survenir dans l'établissement et qui ont des conséquences sanitaires défavorables (exemple : quelles investigations, quelles actions correctives, quelles mesures sur les produits non conformes, nécessité ou non d'informer les autorités, etc.),
- un **système de traçabilité** qui permet en particulier d'identifier et de tracer de façon précise et rapide les denrées considérées comme dangereuses (article 14 du règlement (CE) n°178/2002) et de pouvoir ainsi les bloquer et/ou les retirer du marché (en application de l'article 19 du règlement (CE) n°178/2002).

Pour l'élaboration de leurs procédures, les exploitants peuvent s'appuyer sur les guides de bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP (GBPH) conçus par les organisations professionnelles et validés par les autorités<sup>5</sup>.

La flexibilité<sup>6</sup> permet l'adaptation du niveau de formalisation du PMS à la taille et l'organisation de ces entreprises.

Dans tous les cas, la **gestion des non-conformités doit être anticipée**.

Avant la mise en œuvre d'un autocontrôle, l'exploitant devrait avoir précisément défini les modalités de sa réalisation (quelle méthode, qui le réalise, à quelle fréquence, quel paramètre est examiné/recherché, quel produit/équipement/locaux/procédé est contrôlé, etc.), les limites précises permettant de conclure quant à la conformité ou non du contrôle ainsi que les mesures à mettre en œuvre en cas de non-conformité. Parmi ces mesures, il devrait avoir déterminé quelles non-conformités doivent faire l'objet d'une information des autorités compétentes en application de l'article L.201-7 du Code rural et de la pêche maritime, et lesquelles doivent entraîner non seulement une information des autorités, mais aussi des mesures de retrait et/ou de rappel des produits concernés.

Le guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire, rédigé conjointement par la DGAL, la DGCCRF et la DGS, décrit les mesures de gestion en cas de détection de souches STEC HP dans différentes catégories d'aliments

(<https://agriculture.gouv.fr/surveillance-des-denrees-alimentaires-controle-et-gestion-des-alertes-sanitaires>).

<sup>1</sup> Règlement (CE) 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.

<sup>2</sup> Règlement (CE) n°852/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires.

<sup>3</sup> Fiche STECAMONT « Maîtrise des STEC dans les élevages dont le lait est contaminé » (IDELE et al., 2019)

<sup>4</sup> Les dangers qu'il est pertinent de rechercher dans le cadre du plan d'autocontrôles doivent être définis sur la base de l'analyse des dangers faite par l'exploitant. Les autocontrôles peuvent être de nature variée et ne se réduisent pas aux analyses de laboratoire. Exemples d'autocontrôles : examen

visuel des produits, contrôle visuel de l'efficacité du nettoyage-désinfection ou encore de la propreté des mamelles, veille/suivi des plaintes consommateurs et réclamations clients ou autres informations sanitaires comme la survenue de cas humains (TIAC...), contrôle à réception des matières premières, contrôle de la durée et de la température d'une cuisson, analyses microbiologiques ou chimiques sur des produits (matières premières, produits finis...) ou l'environnement (équipements, locaux...), etc.

<sup>5</sup> Guide Européen de Bonnes Pratiques d'Hygiène en production de fromages et de produits laitiers artisanaux  
Secteur concerné : Producteurs fermiers et artisans

<sup>6</sup> L'instruction technique DGAL/SDSSA/2018-924 du 07-01-2019 précise les critères de détermination des établissements éligibles à des mesures de flexibilité et lignes directrices en matière de mise en œuvre de cette flexibilité au niveau du plan de maîtrise sanitaire.



# OBJECTIFS DE LA SURVEILLANCE

## Objet de la surveillance

### QU'EST-CE QU'ON APPELLE *E. COLI*, QU'EST-CE QU'ON APPELLE STEC ET STEC HP ?

#### Les *Escherichia coli* (*E. coli*) :

Les *Escherichia coli* sont des bacilles à coloration de Gram négative, aéro-anaérobie facultatifs, oxydase négative et mesurant de 2 à 4 µm de long et environ 0.6 µm de diamètre. *E. coli* est une bactérie du microbiote intestinal de l'homme et des animaux à sang chaud. La très grande majorité des souches de *E. coli* n'est pas pathogène pour l'homme.

#### Les *Escherichia coli* producteurs de Shigatoxines (STEC) :

Certaines souches de *E. coli* ont acquis des facteurs de virulence et sont devenues pathogènes pour l'homme. Sur la base des signes cliniques observés chez les malades, les souches d'*E. coli* pathogènes sont regroupées en pathovars (ou pathotypes) parmi lesquels certaines STEC.

Les souches STEC représentent un groupe très complexe de bactéries qui montre une variabilité au niveau phénotypique, sérotypique et génétique.

La pathogénie des STEC chez l'homme est également complexe, elle comporte en général trois phases : (i) ingestion de la bactérie (aliments ou eaux contaminés, contact direct avec animal ou humain porteur de la bactérie, contact avec un environnement contaminé), (ii) colonisation de l'épithélium intestinal par les STEC, et (iii) production de Shigatoxines (Stx) qui perturbent les fonctions cellulaires normales et endommagent les cellules. La liste complète des facteurs de virulence et mécanismes impliqués dans la pathogénicité des STEC n'est pas encore totalement connue.

Néanmoins, les Shigatoxines sont les principaux facteurs de virulence des STEC. La famille des Shigatoxines regroupe l'ensemble des toxines présentant une

structure similaire et une activité biologique proche. Sur la base de leur différence de toxicité *in vitro* et *in vivo*, de séquences en acides aminés ou de séquences nucléotidiques des gènes *stx*, deux grands types de Shigatoxines, Stx1 et Stx2, et de nombreux variants (Stx1a à Stx1c, et Stx2a à Stx2h) ont été identifiés. Les études épidémiologiques ont montré que Stx2 est plus souvent associée à une maladie grave chez l'Homme que Stx1. D'autre part, parmi les variants de Stx2, les toxines Stx2a et Stx2c semblent plus souvent être produites par des souches associées à des cas d'infection sévère chez l'Homme (colite hémorragique, Syndrome Hémolytique Urémique (SHU)). Chez le malade, ces toxines traversent l'épithélium intestinal avant de rejoindre la circulation sanguine et atteindre des récepteurs spécifiques, les récepteurs glycolipidiques Gb3 (globotriosyl céramide 3) qui se trouvent à la surface des cellules endothéliales. Elles entraînent la mort des cellules cibles par arrêt des synthèses protéiques et induisent des lésions de l'endothélium vasculaire, principalement intestinal, rénal et cérébral, ce qui explique les manifestations cliniques avec complications rénales ou neurologiques.

La capacité à adhérer à l'épithélium intestinal et à coloniser l'intestin, contribuent indéniablement au processus de pathogénie des souches STEC. Ainsi, la majorité des STEC connus pour causer des diarrhées sanglantes ou des SHU ont un ou des facteurs de virulence qui permettent leur adhésion aux cellules épithéliales de l'intestin. Le principal facteur d'adhésion des STEC est l'intimine, protéine codée par le gène *eae* qui réside sur un îlot de pathogénicité nommé Locus d'effacement des entérocytes (LEE). La physiopathologie des souches possédant le LEE est caractérisée par le développement de lésions d'attachement-effacement (A/E) des entérocytes, résultant de l'action combinée de protéines codées par des gènes regroupés sur le LEE. Ces lésions sont responsables des diarrhées observées chez le malade. Des souches STEC moins typiques peuvent posséder d'autres facteurs d'adhésion permettant une colonisation de la muqueuse colique. Ainsi, les adhésines fimbriaires aggrégatives AAF régulées par le gène *aggR* et caractéristiques des souches de *E. coli* entéroaggrégatifs (EAEC pour Enteroaggregative *E. coli*) sont également des facteurs d'adhésion efficaces.

D'autres facteurs potentiels d'adhésion des STEC sont codés par les gènes *saa*, *sab*, *paa*, *efa1*, *ompA*, *lpfA*, *toxB*, et par l'îlot de pathogénicité nommé « Locus of Adhesion and Autoaggregation » (LAA).

Les souches de *E. coli* sont généralement identifiées sérologiquement par deux antigènes de surface : le somatique (O) et le flagellaire (H). Depuis l'émergence du sérotype O157:H7 en tant que pathogène alimentaire important, les données de sérotype ont été utilisées pour identifier les souches STEC ; cependant le sérotype n'est pas un facteur de virulence. La combinaison de gènes codant pour des facteurs de virulence caractérise la pathogénicité potentielle des isolats de STEC.

En 2009, sur la base de ces paramètres, l'EFSA a identifié des souches STEC préoccupantes pour la santé humaine

dans l'Union européenne (UE) : il s'agit des souches de *E. coli* appartenant aux 5 sérogroupes de STEC (O157, O26, O103, O111 et O145), également appelés « Top 5 » et possédant les gènes *eae* et *stx*.

A ce jour, en France et selon le guide de gestion des alertes, les souches STEC devant faire l'objet de mesures de gestion sont : les souches de *E. coli* possédant le(s) gène(s) *stx* (*stx1* ou *stx2*) et *eae* et appartenant à l'un des 5 sérotypes O157:H7, O26:H11, O145:H28, O103:H2, ou O111:H8. **Ces souches sont appelées STEC hautement pathogènes – STEC HP - ou EHEC** typiques majeurs (Figure 1). Elles sont associées au risque le plus élevé de cas graves chez l'homme (Tableau 1).

Néanmoins d'autres sérogroupes font l'objet de suivi dans certains contextes épidémiologiques ou d'émergence chez l'homme.

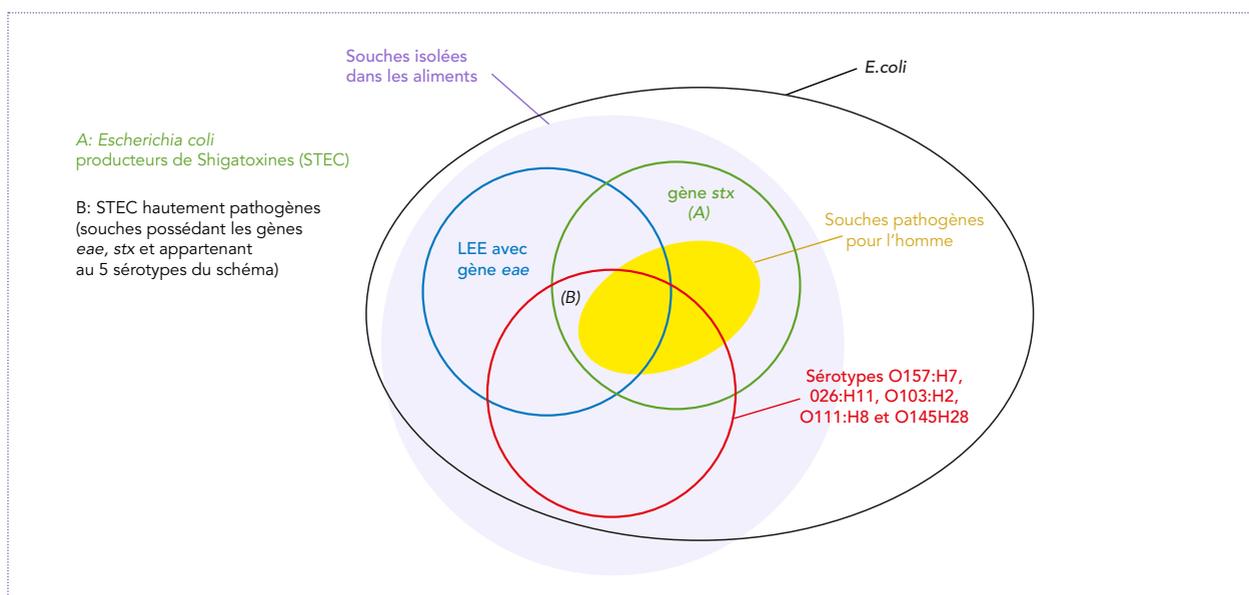


Figure 1 : Classification actuelle des STEC

Tableau 1 : Classification des souches de *E. coli* *stx+* (STEC) selon leur risque pour la santé publique en France (avis de l'ANSES du 18 mai 2017) :

Groupe	Gènes	Sérogroupes	Risque	
			Diarrhée	SHU/Colite Hémorragique
I	<i>stx+</i> <i>eae+</i> ou ( <i>aaiC</i> et <i>aggR</i> ) <sup>+</sup>	O157, O26, O103, O145, O111, O104, O80	Elevé	Elevé
II	<i>stx+</i> <i>eae+</i> ou ( <i>aaiC</i> et <i>aggR</i> ) <sup>+</sup>	Tout autre sérotype	Elevé	Potentiel
III	<i>stx+</i> <i>eae-</i> ou ( <i>aaiC</i> et <i>aggR</i> ) <sup>-</sup>	Tout autre sérotype	Potentiel	Potentiel

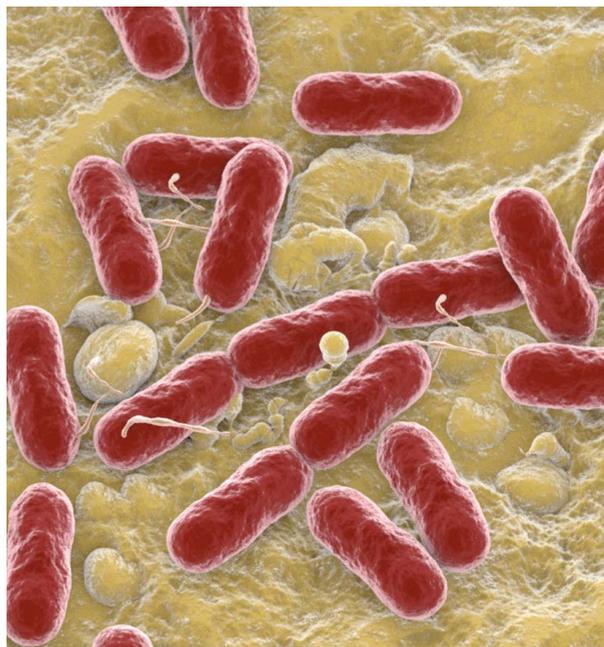
Il est toutefois important de noter que la définition des STEC HP peut évoluer avec les connaissances scientifiques. Il est attendu que la définition basée sur les facteurs de virulence devienne un jour prépondérante sur celle basée sur les sérotypes (EFSA, 2019). Ce sont les STEC à l'origine de cas humains et dont une transmission alimentaire est bien documentée qui fondent les recommandations de surveillance qui vont suivre dans ce document. Ces recommandations resteraient applicables si la définition des STEC HP venait à évoluer.

## STEC, UN PATHOGENE POUR L'HOMME

Les STEC peuvent être responsables de manifestations cliniques variées : diarrhée simple ou sanglante, colite hémorragique, pouvant se compliquer dans environ 10 % des cas d'un syndrome hémolytique et urémique (SHU) nécessitant parfois dialyse et/ou transfusion. La durée d'incubation moyenne entre l'exposition et le début des diarrhées est de 3-4 jours [min-max : 1-10j]. La dose infectante est très faible.

Le SHU induit par une infection à STEC touche particulièrement les jeunes enfants de moins de cinq ans avec une incidence maximale chez les enfants de 6 mois à 2 ans. Le SHU induit par un STEC représente la principale cause d'insuffisance rénale aiguë chez l'enfant de moins de 3 ans, mais les personnes âgées présentent également un risque plus élevé de développer un SHU. Dans la littérature, la létalité du SHU varie de 3 à 5%, 1% selon les données françaises de surveillance du SHU pédiatrique. Plus d'un tiers des malades présentent des séquelles rénales à long terme.

Les aliments contaminés consommés crus ou peu cuits (produits carnés, produits laitiers au lait cru, fruits et légumes crus non pelés, eau non traitée) constituent un des modes principaux de transmission à l'homme. Les produits alimentaires se contaminent au contact des matières fécales des animaux colonisés. La contamination peut aussi se faire par contact avec des animaux de ferme (particulièrement des ruminants) ou leur environnement. La transmission de personne à personne est possible, elle est surtout décrite en milieu familial ou dans des collectivités formées de jeunes enfants (crèches, écoles).



Les STEC ont un potentiel épidémique important. En France, plusieurs épidémies d'origine alimentaire sont survenues en lien avec la consommation de steaks hachés de bœuf, divers fromages au lait cru, et de graines germées crues. Les infections en collectivité de jeunes enfants présentent également un risque épidémique.

## COMMENT PEUVENT CIRCULER LES STEC DE L'ÉLEVAGE AU LAIT ?

Les ruminants (bovins, ovins, caprins) sont les principaux réservoirs de STEC qui colonisent leur intestin de manière asymptomatique (Figure 2). On retrouve aussi les STEC sur la peau des animaux, y compris celle des trayons. Le portage de STEC chez les ruminants est très variable d'une étude à l'autre ; il peut en effet varier de 0 à 71% des bovins testés et de 0 à 100% des troupeaux testés selon les méthodes d'analyses utilisées. Excrétés dans les matières fécales, les STEC peuvent survivre dans de nombreuses niches environnementales qui pourront être à l'origine de la contamination des animaux (Figure 2). Les fumiers, les lisiers, les litières et les sols ainsi que l'eau et les abreuvoirs souillés ont été identifiés comme pouvant participer à la circulation de la bactérie dans une ferme et entre les fermes. Le pâturage sur des parcelles contaminées par des matières fécales ou des épandages non maîtrisés peut aussi être une voie de contamination des animaux, de même que des aliments qui auraient été souillés par des matières fécales aux stades de leur fabrication, stockage ou distribution. La transmission de STEC d'un animal à un autre au sein d'un élevage peut donc avoir lieu soit par contact direct entre les animaux, soit indirectement via leur environnement.

Par ailleurs d'autres hôtes peuvent être porteurs de STEC et amplifier la dissémination de ces bactéries : faune sauvage, autres animaux domestiques, oiseaux et insectes (notamment les mouches) (Figure 2). Une circulation entre fermes a pu être mise en évidence dans certaines

zones sans que l'on en connaisse la cause, et le risque de contamination du lait par des STEC semble lié à une plus grande densité d'élevages de ruminants.

L'excrétion fécale des STEC est intermittente ce qui rend difficile l'identification des animaux excréteurs. Elle varie également selon les saisons et l'âge des animaux et peut persister plusieurs mois chez un animal. Certains animaux peuvent excréter de grandes quantités de STEC dans leurs fèces et sont qualifiés de « super excréteurs ». Cette super-excrétion semble aussi intermittente et ces « épisodes de super-excrétion » pourraient servir de relais de contamination.

La contamination du lait cru se fait principalement par les matières fécales qui souillent les trayons des femelles lactation, le lait pouvant alors être contaminé pendant la traite (Figure 2). A ce jour, la contamination du lait par les STEC ne semble pas se faire par une excrétion mammaire de ces bactéries en cas de mammite. De même, en l'état actuel des connaissances, les STEC ne semblent pas s'installer dans la machine à traire bien conçue, entretenue et nettoyée, ce qui est cohérent avec leur absence d'aptitudes particulières à former des biofilms.

La contamination du lait, elle aussi très intermittente, est plus fréquemment détectée en fin de printemps ou en été, ces périodes doivent donc sans doute faire l'objet d'une vigilance particulière.

Dans l'état actuel des connaissances et des observations en ferme, le respect des bonnes pratiques d'hygiène et des mesures de biosécurité à la ferme<sup>7</sup> restent les pistes à privilégier pour la maîtrise préventive des STEC HP (<https://idele.fr/detail-dossier/projet-stecamont>).

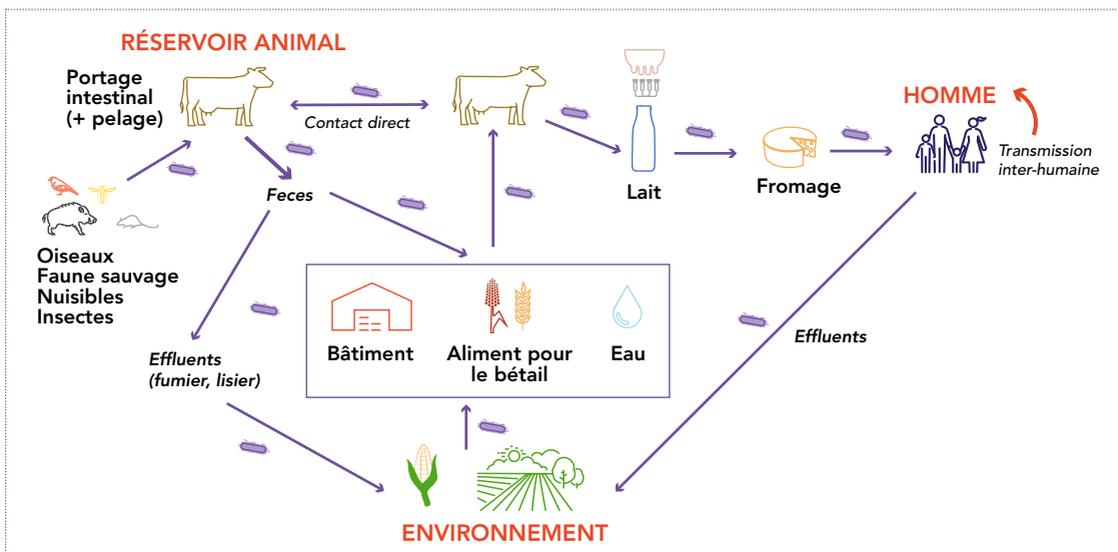


Figure 2. Circulation de STEC au sein d'un élevage bovin laitier et transmission à l'homme via la consommation de produits laitiers contaminés.

<sup>7</sup> GDS France, 2021. Biosécurité : organiser la protection de mon élevage <https://www.gdsfrance.org/biosecurite-en-elevage/>

## COMMENT SE COMPORTENT LES STEC DANS LES FROMAGES ?

Les fromages au lait cru sont des produits fermentés à base de lait cru qui sont consommés dans divers pays du monde. Ils sont fabriqués à partir de lait cru coagulé sous l'action de bactéries lactiques et de présure (ou autre coagulant). Le caillé résultant de la coagulation est ensuite plus ou moins chauffé, égoutté, pressé, puis affiné ou non selon le type de produit recherché. De plus, les microflores des laits crus, les ferments et coagulants employés engendrent des réactions enzymatiques très diverses et jouent un rôle important lors de la fabrication des fromages. Il en résulte des types de fromages très différents : pâte molle lactique ou présure à croûte lavée ou fleurie, pâte pressée non cuite, pâte pressée cuite, pâte persillée, à affinage plus ou moins longs.

Des enquêtes poussées ont montré que le respect des bonnes pratiques d'hygiène à la ferme et lors de la traite permettent de limiter fortement les contaminations du lait par les matières fécales lors de la traite. Lors de manquement à l'hygiène, le risque de contamination du lait cru par les STEC est augmenté.

Lorsque du lait contaminé par les STEC est utilisé pour fabriquer des fromages au lait cru, les STEC peuvent survivre et/ou croître et être isolés de certains fromages au lait cru qui en résultent.

Les différentes étapes de fabrication et d'affinage et la qualité des laits crus utilisés à partir de différentes espèces (vache, chèvre, brebis, etc...) influencent le comportement et la survie des souches de STEC dans les fromages (*Figure 3*). La survie, la croissance ou l'inactivation des STEC sont également influencés par les propriétés physico-chimiques intrinsèques du produit (pH,  $a_w$ , acides organiques), la température et la durée d'affinage.

### Comportement des STEC aux stades initiaux de la fabrication du fromage :

*Facteurs favorisant le développement des STEC :* La température (à partir de 30° C) et l' $a_w$  (activité de l'eau) élevée du lait et des produits laitiers favorisent la croissance des STEC. Au cours des premières heures de fabrication du fromage et de la transformation du lait en caillé, une augmentation du niveau de STEC a été observée pour certaines technologies de fabrication. Cette augmentation est due à la multiplication des bactéries dans le lait liquide puis dans le caillé où les bactéries sont piégées.

*Facteurs inhibant le développement des STEC :* Deux paramètres physico-chimiques semblent inhiber la croissance des STEC pendant les premières heures de fabrication du fromage. Il s'agit de la « cuisson » du caillé et de l'acidification rapide (pH < 4,3) utilisés dans certaines technologies fromagères. Des travaux ont montré qu'une acidification couplée à l'augmentation de la concentration en acide lactique non dissocié, est associée à une réduction de STEC ou d'*E. coli* dans les fromages. Cependant, l'ampleur de la réduction varie selon le sérotype des STEC étudiées et la technologie fromagère.

### Comportement des STEC au cours de l'affinage des fromages :

Au cours de l'étape d'affinage, l'évolution de la microflore des fromages est liée aux différents facteurs : pH, température,  $a_w$ , concentrations en NaCl et en acides organiques, et aussi la nature des ferments d'affinage utilisés. Ces facteurs font du fromage un environnement plus ou moins favorable pour la croissance et la survie des STEC. Diverses études ont en effet montré que lorsque la maturation est longue et donc l' $a_w$  faible, le nombre de STEC diminue dans les fromages. Des travaux scientifiques ont également montré un impact important de l'acide lactique non dissocié sur la décroissance des STEC dans les fromages. Au contraire, si l'affinage n'est pas assez long, l' $a_w$  reste trop élevée et une réduction significative des STEC dans les produits n'est pas observée.

La maîtrise de la qualité du lait cru utilisée dans la fabrication du fromage est cruciale pour réduire le risque STEC associé aux produits finis. Néanmoins, les technologies fromagères impactent la survie et la croissance des STEC dans les fromages.

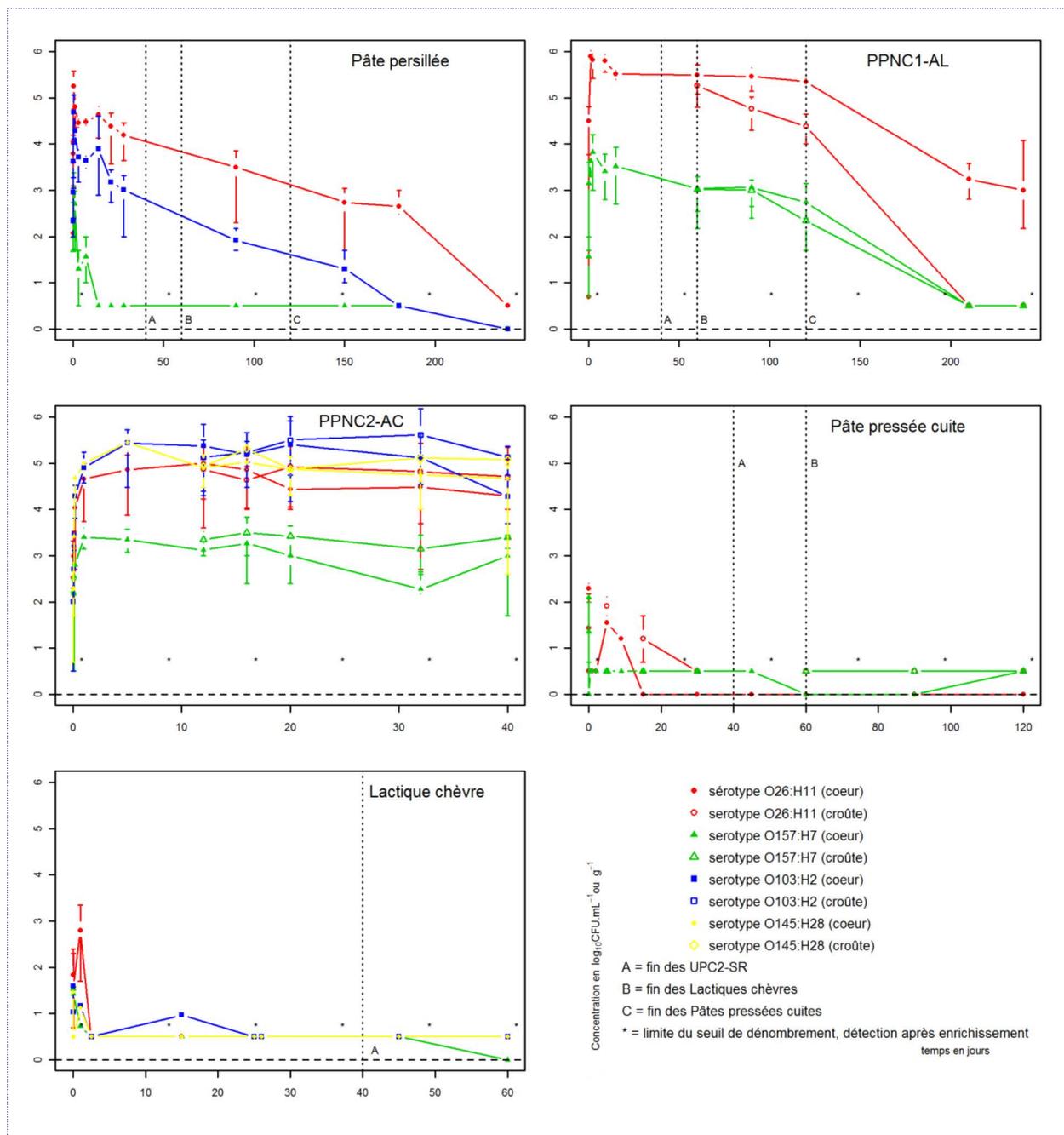


Figure 3 : Dénombrements de souches STEC expérimentalement ensemencées dans du lait ( $10^2$  UFC/ml) et mis en œuvre lors de la fabrication de différents types de fromages.

L'échelle des jours est identique sur tous les graphiques afin de comparer l'impact de la durée d'affinage. L'abscisse représente les jours de fabrication, l'ordonnée les dénombrements des souches STEC en valeurs logarithmiques

## COMMENT DÉTECTE-T-ON ET CARACTÉRISE-T-ON LES STEC HP ?

Pour le moment, seules les graines germées disposent d'un critère microbiologique relatif aux STEC à l'échelle européenne dans le règlement (CE) 2073/2005 sur les critères microbiologiques appliqués aux denrées alimentaires. Cela est principalement dû au fait que le Comité d'experts ayant travaillé sur le sujet a conclu que, étant donné la faible prévalence du pathogène dans le lait et produits laitiers, l'application d'un seuil n'entraînerait probablement pas de réductions significatives du risque associé pour le consommateur. Néanmoins, le même comité indique que les critères microbiologiques visant à réduire la contamination fécale dans la chaîne alimentaire peuvent contribuer à réduire les risques pour la santé publique.

Il existe à ce jour, deux normes destinées à rechercher certains sérogroupes/sérotypes de STEC (Figures 4 et 5).

### La norme CEN ISO 16 654 : 2001 :

Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157 dans les denrées alimentaires

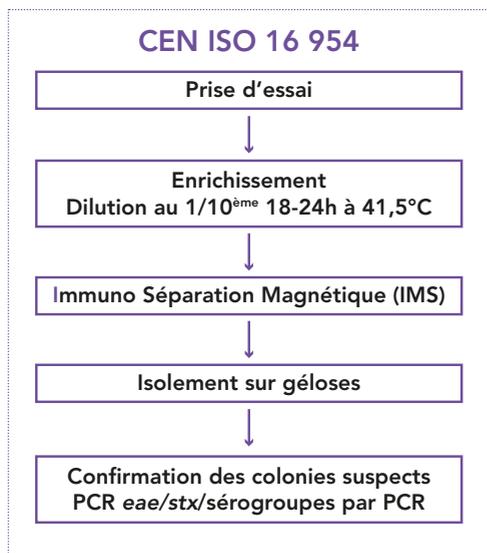


Figure 4 : Schéma du protocole analytique de la norme CEN ISO 16 654 : 2001

La norme ISO 16 654 spécifie une méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* appartenant au sérotype O157

Il n'en demeure pas moins que le règlement CE 178/2002 du paquet hygiène stipule que les opérateurs sont responsables de la qualité sanitaire des produits qu'ils mettent sur le marché.

### La détection des STEC dans les matrices alimentaires repose classiquement sur 4 étapes différentes :

1. la préparation de la prise d'essai,
2. l'enrichissement consiste à ajouter à la matrice un bouillon d'enrichissement permettant la croissance des bactéries cibles,
3. la détection des bactéries repose sur des outils immunologiques, moléculaires ou des milieux gélifiés,
4. la confirmation est réalisée par l'isolement des bactéries cibles sur des milieux sélectifs suivie de la caractérisation des isolats obtenus.

### La spécification technique XP CEN ISO TS13136:2012 :

Méthode horizontale pour la détection des *Escherichia coli* producteurs de Shigatoxines (STEC) et détermination des sérogroupes O157, O111, O26, O103 et O145.

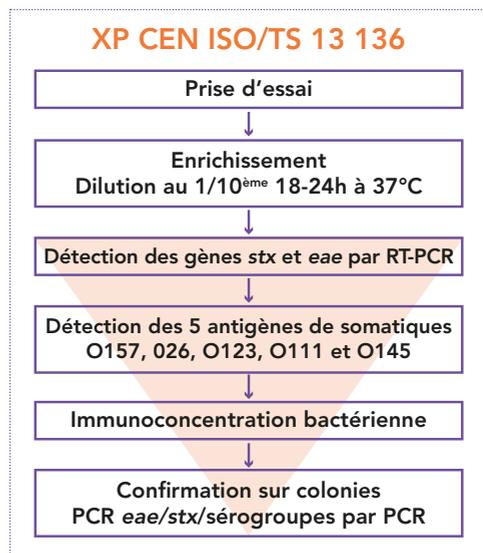


Figure 5 : Schéma du protocole analytique de la Spécification Technique XP CEN ISO/TS 13 136

La norme expérimentale XP CEN ISO/TS 13 136 : méthode horizontale pour la détection des *Escherichia coli* producteurs de Shigatoxines (STEC) et la détermination des sérogroupes O157, O111, O26, O103 et O145. Ce projet de norme s'applique :

- aux produits destinés à être consommés par l'homme et aux aliments pour animaux,
- aux échantillons environnementaux dans la zone de production et de manipulation des aliments,
- aux échantillons environnementaux dans la zone de production primaire.

La recherche des STEC hautement pathogènes doit être réalisée selon les méthodes normalisées CEN ISO 16 654 : 2001 et ISO/TS 13136 ou par des méthodes alternatives validées.

Dans la Spécification Technique XP CEN TS/ISO 13 136 (Figure 5), la recherche de STEC hautement pathogènes comprend deux étapes : (i) une étape de détection des gènes de virulence *eae* et *stx* et des marqueurs associés aux sérogroupes cibles (O157, O26, O103, O111 et O145), appelée « analyse de première intention », et (ii) une étape de confirmation des échantillons présumés positifs par isolement sur géloses et caractérisation des souches STEC cibles, appelée « analyse de seconde intention ».

Il est important de souligner que des méthodes alternatives pour la détection des STEC du Top 5, (voire du Top 7 si l'on inclut les sérogroupes O45 et O121), ont été développées par certains fournisseurs de kits. Certaines sont validées par une tierce partie (AFNOR validation, Microval) et peuvent donc être mises en œuvre aussi bien que les protocoles de référence normalisés.

La détection des STEC dans les produits alimentaires est mise en œuvre dans des laboratoires d'analyses microbiologiques compétents. Les étapes d'immuno-concentration et de confirmation peuvent être mises en œuvre dans d'autres laboratoires que ceux réalisant l'étape de détection. Les bouillons d'enrichissement doivent alors transiter de manière rapide et adaptée (froid positif, 5 jours de délai au maximum et niveau de sécurité) entre ces deux laboratoires.

Une attention particulière doit être accordée au plan d'échantillonnage, à la répartition des prélèvements tout au long de la chaîne de fabrication, mais également à l'efficacité des techniques de prélèvement d'échantillons pour maximiser les probabilités de détection.

Les souches de STEC HP isolées des produits laitiers peuvent faire l'objet d'une caractérisation plus approfondie pour mieux investiguer les sources de contamination (Annexe 4).

## Performance des plans d'échantillonnage

La recherche des STEC dans les filières fromagères au lait cru peut se faire par des prélèvements et analyses d'échantillons de lait et de fromage aux différents stades de la fabrication. L'objectif des analyses microbiologiques doit être défini préalablement à la mise en place d'un plan d'autocontrôle, car la méthode d'évaluation de la performance d'un plan d'échantillonnage dépend notamment de cet objectif.

Dans le cas des STEC dans la filière fromagère au lait cru, compte tenu habituellement du faible niveau de contamination du lait et des fromages et donc de la faible probabilité de détection, la mise en place des autocontrôles s'inscrit dans un contexte de vérification de l'efficacité du système de gestion de la qualité sanitaire. Ils sont cependant utilisés dans un contexte de surveillance et de validation, puisque les résultats obtenus sont utilisés pour la libération de lots et leur mise sur le marché (Annexe 3).

Les développements de l'Appréciation Quantitative des Risques (AQR) pour les fromages au lait cru lors des dernières décennies ont permis de mettre au point une technique d'évaluation de la performance des plans d'échantillonnage via la compilation des résultats d'analyse.

L'AQR est une approche quantitative basée sur des simulations qui vise à estimer, par modélisation et par simulation numérique, le risque d'effet néfaste (maladie, décès) pour la santé humaine et l'efficacité des plans d'autocontrôles microbiologiques.

Elle prend en compte l'ensemble de la vie du produit, « de la fourche à la fourchette » et associe dans un unique modèle de simulation, des données sur la qualité sanitaire du lait de collecte et des données sur les produits en cours de transformation, pour obtenir à terme le niveau de contamination dans le produit fini, ou encore le risque d'effet néfaste pour le consommateur. Par simulation, il est possible de tester différents plans d'échantillonnage, et de voir leur impact en termes de détection de lots contaminés et de réduction du risque pour le consommateur (Annexe 3).



# MÉTHODOLOGIE DE SURVEILLANCE

## Recommandations

**L'ENJEU DE LA RÉDUCTION DE L'EXPOSITION HUMAINE AUX STEC HP PAR VOIE ALIMENTAIRE RÉSIDE DANS LE RENFORCEMENT DES MESURES DE SURVEILLANCE ET DE MAÎTRISE DES STEC TOUT AU LONG DE LA CHAÎNE LAITIÈRE, DE LA PRODUCTION DU LAIT JUSQU'À SA TRANSFORMATION ET DISTRIBUTION. LES EXPÉRIENCES PASSÉES ENSEIGNENT ÉGALEMENT COMBIEN LA SURVEILLANCE PEUT AVOIR UN EFFET POSITIF SUR L'ÉCONOMIE DES FILIÈRES DE PRODUCTION, SI LES INFORMATIONS PRODUITES PERMETTENT D'ANTICIPER LES CRISES SANITAIRES ET D'ÊTRE PLUS PERFORMANT DANS LA DÉTECTION PRÉCOCE DES SITUATIONS PROBLÉMATIQUES ÉMERGENTES.**

Dans ce contexte, le développement des collaborations et la promotion d'une vision plus collective des activités, ont tout leur sens pour objectiver et valoriser les actions individuelles. L'espace de travail qu'offre la Plateforme SCA est favorable à l'échange entre acteurs, pour renforcer la cohérence entre les actions de surveillance menées individuellement et collectivement, au sein des filières de production et tout au long de la chaîne alimentaire.

Afin de formuler des recommandations pour améliorer la surveillance nationale des STEC HP et aussi proposer des produits sains et sûrs aux consommateurs, le groupe de travail a tout d'abord dressé le bilan de l'existant dans les trois filières animales (bovins, ovins, caprins).

Cette concertation multi-partenariale et pluridisciplinaire a permis de partager les expériences et compétences à ce jour, les vocabulaires et référentiels et de définir des objectifs communs spécifiques pour la surveillance des STEC HP :

- faire progresser les modalités de surveillance des STEC HP et objectiver leur articulation avec celles qui ciblent *E. coli* (stratégie de surveillance, définition des cas, plan d'échantillonnage, etc.),
- promouvoir l'accès des opérateurs des différentes filières, aux outils analytiques de première intention et de confirmation pour la détection, l'identification et la caractérisation moléculaire des STEC HP,
- évaluer la diversité des STEC HP, isolés au sein des environnements de production des trois filières animales ; partager et communiquer à intervalle régulier sur cette structure populationnelle,

- améliorer les connaissances épidémiologiques et analytiques concernant la diversité des souches de STEC HP circulantes, les sources de contamination, les modes et voies de transmission de ces pathogènes.

Les recommandations qui vont suivre sont générales. Lorsque des recommandations sont spécifiques d'une filière de production bovine, ovine ou caprine, ou de productions fermières, elles sont précisées dans la suite du document. Pour chaque maillon de la chaîne laitière (Figure 6), des recommandations de surveillance sont proposées en routine et, lorsque les conditions le nécessitent, en surveillance renforcée.

Pour éviter les répétitions, les recommandations lors d'une investigation ont été ajoutées à celles de la surveillance renforcée.

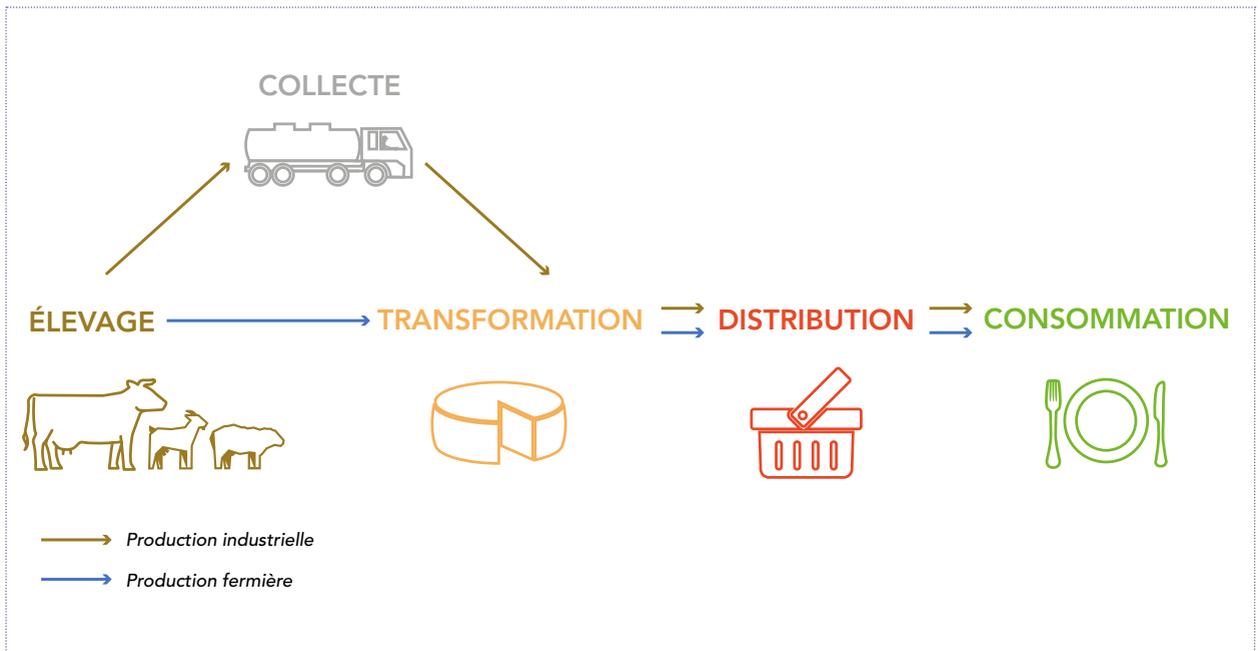


Figure 6 : Les différents maillons de la chaîne laitière

Les microorganismes indicateurs d'hygiène tels que la présence ou le dénombrement d'*E. coli* génériques ou d'autres organismes peuvent être employés pour évaluer la qualité du lait cru avant la fabrication de fromages. Cependant, ils n'indiquent pas la présence ou non de souches STEC HP. La présence d'*E. coli* à des concentrations élevées ne conduit pas systématiquement à la présence de STEC-HP.

A l'inverse, la présence de STEC HP est possible, en cas de concentrations faibles en *E. coli*.

Ainsi, des analyses complémentaires permettant la détection de STEC HP sont importantes afin de vérifier l'absence de STEC HP dans les produits laitiers au lait cru.



# ÉLEVAGE

## Surveillance de routine



### OBJECTIFS

- suivre la qualité sanitaire du lait,
- détecter précocement une contamination fécale,
- surveiller la mise en œuvre des bonnes pratiques d'hygiène.

### NATURE ET MODALITÉS

Surveillance des facteurs de risques de la contamination fécale du lait, notamment la propreté des animaux.

Possibilité de dénombrement d'*E. coli* dans du lait de tank à la ferme (analyse pratiquée dans un laboratoire ou par le producteur).

*NB : E. coli est un indicateur de contamination fécale, utilisé sur le terrain pour le contrôle de la qualité du lait. Toutefois, la présence d'E. coli à des concentrations élevées ne conduit pas systématiquement à la présence de STEC HP. A l'inverse, la présence de STEC HP est possible, en cas de concentrations faibles en E. coli.*

Dans la mesure du possible, et lorsque c'est pertinent, une échantillothèque de filtres à lait (*Annexe 1*) de la machine à traire peut-être constituée : ramassés par les fabricants lors de la collecte, ils permettront si nécessaire, de rechercher l'origine d'une contamination. Elle sera exploitée pour une recherche si nécessaire de STEC HP en surveillance renforcée et/ou en investigation.

En production fermière, la constitution d'une échantillothèque de filtres n'est pas utile pour rechercher l'origine d'une contamination puisque le lait est transformé sur place et provient d'un unique producteur.

L'analyse des filtres permet de détecter plus facilement les STEC HP, en particulier dans le cas où l'analyse du lait ne le permet pas. La conservation des filtres au froid pour une durée limitée permet une survie et analyse des STEC HP potentiellement présents.

### ANALYSES DES ÉCHANTILLONS

#### Dénombrement d'*Escherichia coli*

Utilisation de méthodes de références ou alternatives validées, par un laboratoire réalisant des essais de comparaison inter-laboratoires.

### TRAITEMENT ET ANALYSE DES RÉSULTATS

Il est recommandé de consigner les événements courants ou accidentels de la conduite d'élevage (ex : curage, épisode de diarrhées à la mise à l'herbe, inondation accidentelle dans le bâtiment d'élevage, etc...).

Les données (événements marquants et résultats d'analyses) peuvent être répertoriées dans un classeur ou un fichier de suivi permettant l'analyse et l'exploitation des résultats et la mise en place des actions correctives.

### ACTIONS EN CAS DE RÉSULTATS NON SATISFAISANTS

#### Dénombrement de *E. coli* ou autres facteurs de risque de contamination fécale

- échange entre le producteur et le transformateur,
- échange entre le producteur et un technicien spécialisé,
- déclenchement d'un plan de surveillance renforcée selon des procédures prévues au préalable,
- vérification de la mise en œuvre des bonnes pratiques d'hygiène.

Le seuil de déclenchement de la surveillance renforcée est établi par le fabricant en fonction de sa technologie fromagère et du contexte sanitaire.



# ÉLEVAGE

## Surveillance renforcée et/ou Investigation



### OBJECTIFS

- vérifier la maîtrise des bonnes pratiques d'hygiène,
- investiguer les sources de contamination,
- hiérarchiser les facteurs de risques,
- établir un diagnostic et un plan d'action,
- surveiller la qualité du lait d'une manière plus rapprochée.

Une surveillance plus soutenue des animaux (notamment de leur propreté), et du lait est recommandée pendant les périodes de stress (alimentaire, climatique, physiologique, etc...).

### NATURE ET MODALITÉS

- un audit détaillé des pratiques peut être conduit en cas de résultats non satisfaisants voire non conformes lors de la surveillance de routine ou de la surveillance renforcée et/ou investigation. À cet audit (cf. annexe 2), peuvent s'ajouter divers prélèvements (fèces, eau, fourrage, autres (lingettes, lavettes, pédichiffonnettes...)),
- un suivi du lait de tank/ferme : en cas de détection de STEC HP dans un fromage, un lait de citerne ou lors d'un contexte sanitaire à risque, recherche de STEC HP sur lait de tank/ferme,
- l'analyse des filtres lors d'une surveillance renforcée ou en contexte d'investigation peut faciliter la détection du ou des élevages dont le lait est contaminé par les STEC HP.

### ANALYSES DES ÉCHANTILLONS

#### Dénombrement de *E. coli* et détection de STEC HP

##### Pour *E. coli*

Utilisation de méthodes de références ou alternatives validées, par un laboratoire réalisant des essais de comparaison inter-laboratoires.

##### Pour les STEC HP

Réalisation des analyses auprès d'un laboratoire réalisant des essais de comparaison inter-laboratoires,

- utilisation de la méthode de référence ou des méthodes alternatives validées,
- dans le cas de l'utilisation de 2 laboratoires distincts pour les analyses de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>nd</sup>e intention : envoi des échantillons le plus rapidement possible, au froid (selon les recommandations fournisseurs et sans dépasser 5 jours de conservation des bouillons d'enrichissement),
- si la technique d'analyse comporte un protocole de discordance, le faire réaliser par le laboratoire de 2<sup>nd</sup>e intention et transmettre aussi les résultats de test sur bouillon.

#### Préparation de l'échantillon

- prise d'essai de 25 ml au minimum,
- respecter les conditions d'enrichissement et de préparation des extraits d'ADN selon la particularité des différentes matrices (ex : fèces, eau, ...), la méthode de référence et/ou les recommandations des fournisseurs,
- respecter les conditions de conservation des échantillons (la plus courte possible et au froid positif).

#### Pour l'analyse de confirmation

Utilisation de 2 géloses de principes différents et tester le nombre de colonies recommandées par le fournisseur de la méthode employée.

## TRAITEMENT ET ANALYSE DES RÉSULTATS

Les informations relatives aux prélèvements et analyses effectuées dans le cadre d'une surveillance renforcée (bulletins du laboratoire et éventuellement saisie des informations dans des tableaux) devraient être conservées afin de permettre l'analyse et l'exploitation des résultats et la mise en place des actions correctives.

Il est recommandé, si possible, de conserver les souches isolées en cas de besoin ultérieur de typage. Les métadonnées associées à ces souches (données écologiques liées au contexte de prélèvement) devraient également être soigneusement consignées dès la réalisation des prélèvements.

## CONDITIONS POUR REVENIR À UNE SURVEILLANCE DE ROUTINE

- s'assurer qu'il n'y a pas/plus de problème spécifiquement identifié comme susceptible de favoriser la contamination du lait par *E. coli* (hygiène, etc ...) ou par les STEC. Notamment, en cas de points d'amélioration mis en évidence lors de l'audit, des actions correctives doivent être mises en œuvre avant de revenir à la surveillance de routine,
- toutes les mesures/actions correctives mises en œuvre doivent être vérifiées en termes d'efficacité : par exemple effectuer un second audit de « vérification » ou/et d'analyses (filtres, lait...) portant sur des productions faites après la mise en œuvre des mesures correctives pour obtenir un retour à un niveau de contamination fécale jugée satisfaisante selon la technologie laitière,
- définir une règle de retour en se basant sur l'expérience et la valorisation de l'historique des analyses d'autocontrôles (x analyses conformes pendant y jours),
- partager l'expérience et l'information entre les acteurs.



# COLLECTE DU LAIT

## Surveillance de routine



### OBJECTIFS

- tri du lait si possible en fonction de l'historique de la présence ou absence de STEC HP,
- détection précoce d'une contamination par STEC HP à partir du lait de mélange (du camion-citerne) ou d'un échantillon de lait issu d'un regroupement d'élevages ; toutefois les délais d'obtention des résultats rendent aujourd'hui difficile d'objectiver une contamination par STEC HP à ce stade de la chaîne et pour certains types de fabrication.

### NATURE ET MODALITÉS

- analyse du lait du camion-citerne,
- ou analyse d'un regroupement d'échantillons de lait prélevés dans différents élevages,
- ramassage des filtres de la machine à traire en même temps que le lait pour constituer une échantillothèque à la fromagerie. Ils sont conservés pour une éventuelle investigation selon les résultats des analyses des fromages (recherche de STEC HP) ou lors de la surveillance renforcée.

### ANALYSES DES ÉCHANTILLONS

#### Dénombrement de *E. coli* dans le lait

Utilisation de méthodes de références ou alternatives validées, par un laboratoire réalisant des essais de comparaison inter-laboratoires.

#### Détection des STEC HP

Réalisation des analyses auprès d'un laboratoire réalisant des essais de comparaison inter-laboratoires,

- utilisation de la méthode de référence ou des méthodes alternatives validées,
- dans le cas de l'utilisation de 2 laboratoires distincts pour les analyses de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>nd</sup>e intention : envoi des échantillons le plus rapidement possible, au froid (selon les recommandations fournisseurs et sans dépasser 5 jours de conservation des bouillons d'enrichissement),
- si la technique d'analyse comporte un protocole de discordance, le faire réaliser par le laboratoire de 2<sup>nd</sup>e intention et transmettre aussi les résultats de test sur bouillon.

#### Préparation de l'échantillon

- prise d'essai de 25 ml au minimum,
- respecter les conditions d'enrichissement et de préparation des extraits d'ADN selon la particularité des différentes matrices (ex : fèces, eau, ...), la méthode de référence et/ou les recommandations des fournisseurs,
- respecter les conditions de conservation des échantillons (la plus courte possible et au froid positif).

#### Pour l'analyse de confirmation

Utilisation de 2 géloses de principes différents et tester le nombre de colonies recommandées par le fournisseur de la méthode employée.

## TRAITEMENT ET ANALYSE DES RÉSULTATS

- analyses des résultats,
- les résultats des analyses du lait devraient être répertoriés dans un fichier de suivi des résultats selon une trame harmonisée permettant l'analyse et l'exploitation des résultats et la mise en place des actions correctives,
- il est recommandé de conserver les souches isolées en cas de besoin ultérieur de typage. Les métadonnées associées à ces souches (données écologiques liées au contexte de prélèvement) devraient également être soigneusement consignées dès la réalisation des prélèvements.

## ACTIONS EN CAS DE RÉSULTATS NON SATISFAISANTS

- recherche du producteur concerné par des analyses du lait ou du filtre contaminé en STEC HP et plan d'action correctif chez le producteur à l'origine de la contamination,
- mise en place d'une surveillance renforcée au niveau de la transformation.



# COLLECTE DU LAIT

## Surveillance renforcée et/ou Investigation

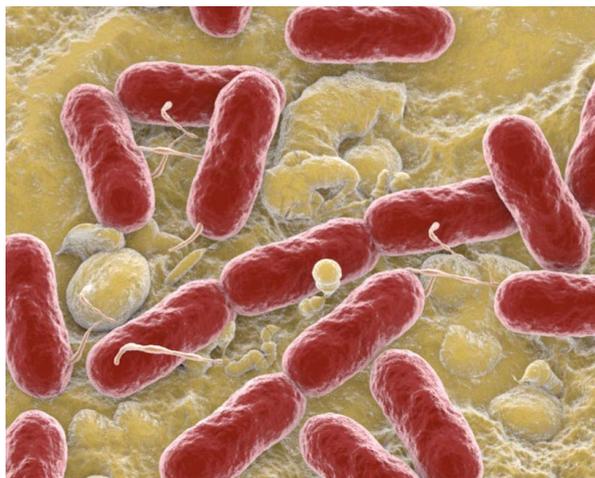


### OBJECTIFS

- identifier le ou les élevages contaminés par des STEC HP,
- investiguer les sources de contamination.

### NATURE ET MODALITÉS

À la suite de la détection d'un signal (dénombrement élevé d'*E. coli* et/ou détection de STEC HP) au niveau de la collecte, il est recommandé de mettre en place une surveillance renforcée au niveau du maillon élevage et au niveau de la transformation.





# TRANSFORMATION

## Surveillance de routine



### OBJECTIFS

- surveiller la qualité sanitaire des fromages mis sur le marché,
- détecter les éventuelles non-conformités.

### NATURE ET MODALITÉS

La mise en œuvre des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication selon le "Guide de bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP pour la collecte du lait cru et les fabrications de produits laitiers" ou le "Guide de Bonnes Pratiques d'Hygiène européen pour les producteurs laitiers fermiers et artisanaux" sont des prérequis.

Le suivi de ces bonnes pratiques d'hygiène peut se faire par le dénombrement régulier d'*E. coli*.

#### Détection de STEC HP

Peut être réalisée aux différents stades de la fabrication :

- le choix du stade de l'analyse est variable entre les fabricants en fonction de la technologie fromagère et de l'analyse de risque de l'entreprise : Il est recommandé de réaliser des analyses au pic de développement des STEC HP dans les fromages (souvent de J1 à J3), à valider suivant la technologie fromagère,
- le plan d'échantillonnage est raisonné sur l'ensemble de la chaîne de fabrication (nombre de prélèvements, constitution de l'échantillon, quantité analysée, fréquence des analyses, etc...) (Annexe n° 3),
- la recherche des STEC HP dans les fromages est à pratiquer le plus tôt possible pour éviter la mise sur le marché de produits non conformes. Une surveillance systématique de chaque lot est recommandée.

### ANALYSES DES ÉCHANTILLONS

#### Détection des STEC HP ou Dénombrement d'*Escherichia coli* en transformation fermière

NB : *E. coli* est un indicateur de contamination fécale, utilisé sur le terrain pour le contrôle de la qualité du lait. Toutefois, la présence de *E. coli* à des concentrations élevées ne conduit pas systématiquement à la présence de STEC HP. A l'inverse, la présence de STEC HP est possible, en cas de concentrations faibles en *E. coli*.

#### Détection des STEC HP

Réalisation des analyses auprès d'un laboratoire réalisant des essais de comparaison inter-laboratoires,

- utilisation des méthodes normalisées ou des méthodes alternatives validées,
- dans le cas de l'utilisation de 2 laboratoires distincts pour les analyses de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>nde</sup> intention : envoi des échantillons le plus rapidement possible, au froid (selon les recommandations fournisseurs et sans dépasser 5 jours de conservation des bouillons d'enrichissement),
- si la technique d'analyse comporte un protocole de discordance, le faire réaliser par le laboratoire de 2<sup>nde</sup> intention et transmettre aussi les résultats de test sur bouillon

#### Préparation de l'échantillon

- prise d'essai de 25 g au minimum, peut comporter la pâte et la croûte selon les habitudes de consommation et ce qui est connu du comportement des STEC HP entre la pâte et la croûte,
- respecter les conditions d'enrichissement et de préparation des extraits d'ADN selon la particularité des différentes matrices (ex : fèces, eau, ...), la méthode de référence et/ou les recommandations des fournisseurs,
- respecter les conditions de conservation des échantillons (la plus courte possible et au froid positif).

#### Pour l'analyse de confirmation

Utilisation de 2 géloses de principes différents et tester le nombre de colonies recommandées par le fournisseur de la méthode employée.

## TRAITEMENT ET ANALYSE DES RÉSULTATS

Il est recommandé de répertorier le ou les résultat(s) d'analyse des produits dans un fichier de suivi des résultats selon une trame harmonisée permettant la mise en place d'un traitement statistique des données et la mise en place des actions correctives.

Il est recommandé de conserver, si possible, les souches isolées en cas de besoin ultérieur de typage. Les métadonnées associées à ces souches (données écologiques liées au contexte de prélèvement) devraient également être soigneusement consignées dès la réalisation des prélèvements.

## ACTIONS EN CAS DE RÉSULTATS NON SATISFAISANTS

- déclenchement du plan de surveillance renforcée portant sur les fromages et/ou le lait et recherche du producteur concerné par des analyses de lait et/ou filtres positives en STEC HP,
- en filière fermière, suite à l'identification par le producteur et son technicien spécialisé de plusieurs facteurs de risque (par exemple évolution défavorable des résultats d'analyse en *E. coli*) alors déclenchement de la surveillance renforcée (par exemple audit d'élevage, et /ou recherche de STEC HP),
- des mesures de gestion adaptées devront être mises en place à la suite d'un résultat non conforme (présence de STEC HP) indiquant un risque pour le consommateur (Guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire); Notifier l'information sanitaire à la DDecPP du département.





# TRANSFORMATION

## Surveillance renforcée et/ou Investigation



### OBJECTIFS

- rechercher l'origine de la contamination par les STEC HP et estimer son étendue,
- détecter les non-conformités

### NATURE ET MODALITÉS

- analyses (recherche de STEC HP) sur des fromages : analyses au pic de développement des STEC HP dans les fromages,
- analyse des lots encadrants : en cas de détection de STEC HP sur un fromage, un échantillonnage ciblé devrait être mis en place sur les lots encadrants (si les laits utilisés pour ces lots encadrants proviennent du ou des même(s) producteur(s) que les laits dont est issu le lot non conforme),
- analyses des filtres (si échantillothèque existante) : si présence de STEC HP dans un fromage, alors les filtres de la même journée que le fromage contaminé sont investigués via une recherche de STEC HP. Des analyses dans les filtres des jours suivants pourraient également être pertinentes dans ce cadre,
- si un ou plusieurs filtres de cette journée sont confirmés contaminés par des STEC HP, quel que soit le sérotype trouvé, un audit sanitaire chez le ou les producteurs est effectué,
- en l'absence d'échantillothèque de filtres et en cas de détection de STEC HP dans un fromage, une recherche est réalisée a posteriori du/des producteurs susceptibles d'être à l'origine de la contamination par l'utilisation des données de la traçabilité amont et l'analyse des laits conservés dans l'échantillothèque,
- exploitation de l'historique des résultats d'autocontrôle de l'entreprise,
- mise en place d'une surveillance renforcée des élevages identifiés (chapitre surveillance renforcée/Investigation en élevage).

### ANALYSES DES ÉCHANTILLONS

#### Détection de STEC HP

Réalisation des analyses auprès d'un laboratoire réalisant des essais de comparaison inter-laboratoires,

- utilisation de la méthode de référence ou des méthodes alternatives validées,
- dans le cas de l'utilisation de 2 laboratoires distincts pour les analyses de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>nd</sup>e intention : envoi des échantillons le plus rapidement possible, au froid (selon les recommandations fournisseurs et sans dépasser 5 jours de conservation des bouillons d'enrichissement),
- si la technique d'analyse comporte un protocole de discordance, le faire réaliser par le laboratoire de 2<sup>nd</sup>e intention et transmettre aussi les résultats de test sur bouillon.

#### Préparation de l'échantillon

- prise d'essai de 25 g au minimum, peut comporter la pâte et la croûte selon les habitudes de consommation et ce qui est connu du comportement des STEC HP entre la pâte et la croûte,
- respecter les conditions d'enrichissement et de préparation des extraits d'ADN selon la particularité des différentes matrices (ex : fèces, eau, ...), la méthode de référence et/ou les recommandations des fournisseurs,
- respecter les conditions de conservation des échantillons (la plus courte possible et au froid positif).

#### Pour l'analyse de confirmation

Utilisation de 2 géloses de principes différents et tester le nombre de colonies recommandées par le fournisseur de la méthode employée.

## TRAITEMENT ET ANALYSE DES RÉSULTATS

Il est recommandé de répertorier le ou les résultat(s) d'analyse du lait et/ou des filtres, des produits intermédiaires et des fromages affinés dans un fichier de suivi des résultats selon une trame harmonisée permettant l'analyse et l'exploitation des résultats ainsi que la traçabilité des informations et la mise en place des actions correctives.

Les échanges d'informations entre l'amont et l'aval sont fortement recommandés.

Il est recommandé de conserver si possible les souches isolées en cas de besoin ultérieur de typage. Les métadonnées associées à ces souches (données écologiques liées au contexte de prélèvement) doivent également être soigneusement consignées dès la réalisation des prélèvements.

## CONDITIONS POUR REVENIR À UNE SURVEILLANCE DE ROUTINE

- définition d'une règle de retour en se basant sur l'expérience et la valorisation de l'historique des analyses d'autocontrôles (par exemple, x analyses conformes sur fromages pendant y jours),
- identifier le ou les élevages dont les laits sont contaminés par des STEC HP afin de les écarter et de revenir à une surveillance de routine,

Des mesures de gestion adaptées devront être mises en place à la suite d'un résultat non conforme (présence de STEC HP) indiquant un risque pour le consommateur (guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire).





# DISTRIBUTION

## Surveillance de routine



### OBJECTIFS

- vérifier la qualité sanitaire des fromages mis sur le marché (en libre-service et rayons à la coupe),
- détecter les non-conformités.

### NATURE ET MODALITÉS

- plan de contrôle basé sur l'analyse de risque et /ou sur le Guide des Bonnes Pratiques d'Hygiène (Guide des Bonnes Pratiques d'Hygiène des détaillants en produits laitiers (en cours de révision) et/ou les critères définis par les acteurs de la distribution (par exemple guide de la Fédération du Commerce et de la Distribution (FCD)),
- la fréquence des autocontrôles peut être adaptée en étroite collaboration entre le fournisseur et le distributeur (ex : cas des Marques De Distributeur (MDD)),
- la recherche des STEC HP et/ou le dénombrement *E. coli* dans les fromages est à pratiquer au stade de la transformation le plus tôt possible pour éviter la mise sur le marché de produits non conformes ou pour mettre en place des mesures de gestion adaptées.

### ANALYSES DES ÉCHANTILLONS

#### Détection des STEC HP

#### Dénombrement d'*Escherichia coli*

NB : *E. coli* est un indicateur de contamination fécale, utilisé sur le terrain pour le contrôle de la qualité du lait. Toutefois, la présence de *E. coli* à des concentrations élevées ne conduit pas systématiquement à la présence de STEC-HP. A l'inverse, la présence de STEC HP est possible, en cas de concentrations faibles en *E. coli*.

#### Détection des STEC HP

Réalisation des analyses auprès d'un laboratoire réalisant des essais de comparaison inter-laboratoires,

- utilisation de la méthode de référence ou des méthodes alternatives validées,
- dans le cas de l'utilisation de 2 laboratoires distincts pour les analyses de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>nde</sup> intention : envoi des échantillons le plus rapidement possible, au froid (selon les recommandations fournisseurs et sans dépasser 5 jours de conservation des bouillons d'enrichissement),
- si la technique d'analyse comporte un protocole de discordance, le faire réaliser par le laboratoire de 2<sup>nde</sup> intention et transmettre aussi les résultats de test sur bouillon.

#### Préparation de l'échantillon

- prise d'essai de 25 g au minimum, peut comporter la pâte et la croûte selon les habitudes de consommation et ce qui est connu du comportement des STEC HP entre la pâte et la croûte,
- respecter les conditions d'enrichissement et de préparation des extraits d'ADN selon la particularité des différentes matrices (ex : fèces, eau, ...), la méthode de référence et/ou les recommandations des fournisseurs,
- respecter les conditions de conservation des échantillons (la plus courte possible et au froid positif).

#### Pour l'analyse de confirmation

Utilisation de 2 géloses de principes différents et tester le nombre de colonies recommandées par le fournisseur de la méthode employée .

## TRAITEMENT ET ANALYSE DES RÉSULTATS

L'information des prélèvements et des analyses effectuées (bulletins du laboratoire et éventuellement saisie des informations dans des tableaux) devraient être conservées afin de permettre l'analyse et l'exploitation des résultats.

Il est recommandé de conserver les souches isolées en cas de besoin ultérieur de typage. Les métadonnées associées à ces souches (données écologiques liées au contexte de prélèvement) devraient également être soigneusement consignées dès la réalisation des prélèvements.

## ACTIONS EN CAS DE RÉSULTATS NON SATISFAISANTS

- information du fournisseur pour recherche de l'origine de la contamination,
- passage en plan renforcé,
- dans le cas des produits manipulés par le distributeur :
  - recherche de l'origine de la contamination au rayon à la coupe,
  - vérifier les bonnes pratiques d'hygiène au rayon à la coupe.

Des mesures de gestion adaptées devront être mises en place à la suite d'un résultat non conforme (présence de STEC HP) indiquant un risque pour le consommateur (Guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire); Notifier l'information sanitaire à la DDecPP du département.





# DISTRIBUTION

## Surveillance renforcée et/ou Investigation



### OBJECTIFS

Rechercher l'origine de la contamination et estimer son étendue

### NATURE ET MODALITÉS

À la suite de la détection d'un signal de non-conformité au niveau de la distribution, une surveillance renforcée devrait être mise en place par le fournisseur.

Des analyses et investigations supplémentaires peuvent être également réalisées par le distributeur (par exemple, cas du distributeur disposant d'autres lots de production qui entourent un lot non conforme alors même que le producteur ne possède plus de fromages de ces lots ou dans le cas de manipulation du produit).

### ANALYSES DES ÉCHANTILLONS

#### Détection de STEC HP

Réalisation des analyses auprès d'un laboratoire réalisant des essais de comparaison inter-laboratoires,

- utilisation de la méthode de référence ou des méthodes alternatives validées,
- dans le cas de l'utilisation de 2 laboratoires distincts pour les analyses de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>nd</sup>e intention : envoi des échantillons le plus rapidement possible, au froid (selon les recommandations fournisseurs et sans dépasser 5 jours de conservation des bouillons d'enrichissement),
- si la technique d'analyse comporte un protocole de discordance, le faire réaliser par le laboratoire de 2<sup>nd</sup>e intention et transmettre aussi les résultats de test sur bouillon.

#### Préparation de l'échantillon

- prise d'essai de 25 g au minimum, peut comporter la pâte et la croûte selon les habitudes de consommation et ce qui est connu du comportement des STEC HP entre la pâte et la croûte,
- respecter les conditions d'enrichissement et de préparation des extraits d'ADN selon la particularité des différentes matrices (ex : fèces, eau, ...), la méthode de référence et/ou les recommandations des fournisseurs,
- respecter les conditions de conservation des échantillons (la plus courte possible et au froid positif).

#### Pour l'analyse de confirmation

Utilisation 2 géloses de principes différents et tester le nombre de colonies recommandées par le fournisseur de la méthode employée.

## TRAITEMENT ET ANALYSE DES RÉSULTATS

L'information des prélèvements et des analyses effectuées (bulletins du laboratoire et éventuellement saisie des informations dans des tableaux) devraient être conservées afin de permettre l'analyse et l'exploitation des résultats et la mise en place des actions correctives.

Il est recommandé de conserver les souches isolées en cas de besoin ultérieur de typage. Les métadonnées associées à ces souches (données écologiques liées au contexte de prélèvement) devraient également être soigneusement consignées dès la réalisation des prélèvements.

## ACTIONS EN CAS DE NON-CONFORMITÉ

- information du fournisseur pour la recherche de l'origine de la contamination ;
- dans le cas des produits manipulés par le distributeur :
  - recherche de l'origine de la contamination au rayon à la coupe,
  - vérifier les bonnes pratiques d'hygiène au rayon à la coupe.

Des mesures de gestion adaptées devront être mises en place à la suite d'un résultat non conforme (présence de STEC HP) indiquant un risque pour consommateur (Guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire); Notifier l'information sanitaire à la DDecPP du département.

## CONDITIONS DE RETOUR À UNE SURVEILLANCE DE ROUTINE

Résultats d'analyses satisfaisants (conditions variables selon les entreprises sur la base de x analyses conformes sur fromages pendant y jours).





# SANTÉ HUMAINE

## Surveillance des infections à STEC



### BASÉE SUR LE SHU CHEZ L'ENFANT DE MOINS DE 15 ANS DEPUIS 1996

La surveillance des infections à STEC en France est basée depuis 1996 sur la surveillance du SHU chez les enfants de moins de 15 ans, le SHU<sup>8</sup> étant le plus souvent secondaire à une infection à STEC dans cette population. Cette surveillance volontaire, coordonnée par Santé publique France (SpF), repose sur un réseau hospitalier de 32 services de néphrologie pédiatrique et de pédiatrie répartis sur le territoire métropolitain. Ce réseau notifie en temps réel les cas diagnostiqués et permet de détecter la majorité des cas de SHU pédiatrique (exhaustivité estimée à 85% sur la période 2016-2017). En complément de ce réseau, d'autres services hospitaliers notifient ponctuellement des cas de SHU pédiatriques. Cette surveillance permet de décrire les tendances spatiales et temporelles du SHU pédiatrique ainsi que les caractéristiques épidémiologiques des cas notifiés. Elle permet également de détecter des épidémies et de guider les mesures de contrôle et de prévention.

En parallèle, il existe une surveillance microbiologique des infections à STEC assurée par le Centre national de références des *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella* (CNR-ESS) et le CNR associé *E. coli* (LA-RD)<sup>9</sup>. En France, la caractérisation et l'isolement des souches STEC sont rarement effectués par les laboratoires d'analyses médicales. Tout laboratoire peut transmettre au LA-RD un prélèvement pour confirmation de l'infection, caractérisation du STEC et isolement de souche. Toute souche isolée au LA-RD est transmise au CNR-ESS pour séquençage du génome complet).

### DÉTECTION D'ÉVÈNEMENTS INHABITUELS

Les cas de SHU sporadiques notifiés à SpF ne font pas l'objet d'investigation épidémiologique systématique visant à identifier la source de contamination, en raison des multiples modes de contamination possibles. Une investigation est mise en œuvre si des cas de SHU ou d'infection à STEC groupés dans le temps et/ou dans l'espace sont signalés (par le réseau de surveillance SHU pédiatrique, par la déclaration obligatoire (DO) des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), par des biologistes ou cliniciens à l'ARS...).

Le LA-RD et le CNR-ESS transmettent en routine leurs résultats (séro groupe et séquençage des souches) à SpF et signalent tout évènement inhabituel (augmentation d'un séro groupe donné, identification d'un cluster de souches ayant une proximité génomique...).

Ces signaux font l'objet d'une analyse par SpF qui peut mettre en place des investigations épidémiologiques afin de rechercher s'il existe une source commune d'infection pour ces cas et guider des investigations de traçabilité des produits et des mesures de gestion adaptées en lien avec la DGAL et la DGS.

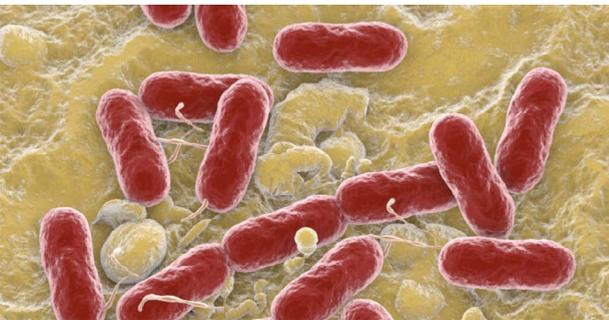
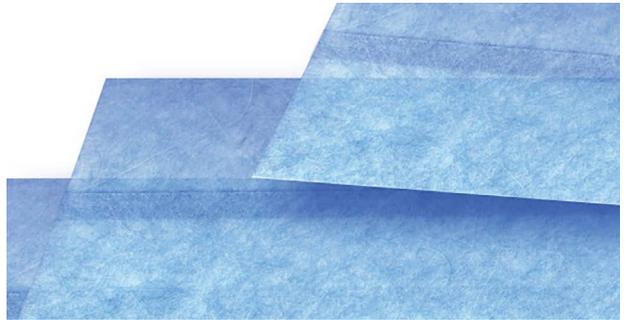
En cas de détection de STEC dans un aliment suspecté par les investigations épidémiologiques, une analyse microbiologique de la bactérie est réalisée pour la comparer avec les souches à l'origine des infections humaines (sérotypage et séquençage du génome complet).

<sup>8</sup> [Syndrome hémolytique et urémique – Santé publique France \(santepubliquefrance.fr\)](https://www.santepubliquefrance.fr)

<sup>9</sup> Centre National de Référence (CNR-ESS) des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* situé à l'Institut Pasteur à Paris ([Centre National de Référence des \*Escherichia coli\*, \*Shigella\*](https://www.institutpasteur.fr/fr/centre-national-de-referance-des-escherichia-coli-shigella)

[et \*Salmonella\* - Institut Pasteur](https://www.institutpasteur.fr/fr/centre-national-de-referance-des-escherichia-coli-shigella)) et son laboratoire associé des *Escherichia coli*, situé au Service de microbiologie du CHU Robert Debré (LA-RD) ([Bienvenue sur la page d'accueil du site internet du CNR associé \*E. coli\* \(aphp.fr\)](https://www.institutpasteur.fr/fr/centre-national-de-referance-des-escherichia-coli-shigella))

# LES ANNEXES



# UTILISATION DE FILTRES À LAIT

Annexe  
1

## Pour la recherche de STEC HP en surveillance renforcée ou investigation

### LORS D'UNE INVESTIGATION SUITE À LA CONTAMINATION D'UN LAIT OU D'UN PRODUIT LAITIER, DES ANALYSES PEUVENT ÊTRE CONDUITES SUR LE FILTRE À LAIT DU LACTODUC D'ÉVACUATION (APPELÉ ÉGALEMENT CANNE À LAIT) DE LA MACHINE À TRAIRE.

Ces analyses peuvent avoir pour objectif de retrouver la ou les exploitations ayant livré du lait contaminé. Ces analyses ne sont cependant pas représentatives de la probabilité de trouver ou non des STEC dans les produits laitiers. Elles ne sont donc recommandées que dans le cadre d'une investigation ou surveillance renforcée, pas dans le cadre d'une **surveillance de routine**.

Le filtre à lait a pour objectif de débarrasser le lait des impuretés macroscopiques qui peuvent y être présentes par accident : particules de paille, de terre ou de bouse, lait caillé... Parfois absent, s'il y en a, il peut être jetable (nitrocellulose, « non tissé » ...), mais aussi parfois métallique, selon le modèle de machine à traire et le choix des éleveurs. Sa taille, son diamètre et son grammage sont variables. Les pots trayeurs ne sont pas équipés de filtres (le lait est filtré manuellement après la traite grâce à un filtre en transvasant le lait). Par ailleurs la collecte des filtres à lait des robots de traite est délicate car le filtre est incorporé au circuit de nettoyage de la machine à traire et donc lavé avec cette dernière, sauf s'il est changé à chaque lavage, toutes les vaches du troupeau n'étant pas forcément traitées entre deux lavages.

Peu de données existent pour les STEC, mais l'étude STECAMONT a montré que les recherches de STEC HP sur des filtres à lait, aboutissent plus souvent à la détection des STEC HP que des analyses réalisées à partir de lait prélevé dans un même contexte.

Des résultats similaires sont également obtenus pour *Salmonella* spp. et *Listeria monocytogenes*. Une concentration des bactéries est probablement obtenue, de par la nature et la fonction des filtres.

Pour les machines à traire équipées d'un filtre jetable, l'entreprise de collecte et le producteur peuvent décider de prélever les filtres pour réaliser des analyses en investigation ou pour constituer une échantillothèque.

Les filtres de cette échantillothèque ne seront analysés qu'en cas de détection de STEC HP au stade de la collecte ou dans le produit.

Cela suppose que les machines à traire de la zone concernée soient équipées de porte-filtre. **Dans ce cas, il faut respecter ces prérequis afin de ne pas biaiser les analyses :**

- **ne pas réaliser de pousse à l'eau** après la traite avant de prélever le filtre,
- **effectuer le prélèvement du filtre** dans des conditions aseptiques après la traite (envisager entre laiterie et producteurs, une formation et si possible avec un protocole écrit commun, notamment pour la bonne identification des échantillons),
- **disposer d'un lieu de stockage** au froid à la ferme rapidement accessible après la traite et définir une température, une durée et un lieu de stockage (réfrigérateur),
- **organiser la collecte** puis le stockage du filtre en laiterie en attente des résultats des analyses de mélange (citerne, lait de grand mélange, cuve, caillé...),
- **prévoir d'avoir des filtres** ainsi que du matériel de prélèvement disponibles à la ferme (à minima sachets ou flacons).

Cette méthode est encore très empirique et mériterait d'être étudiée plus amplement (effet du type de filtre, de la durée et de la température de stockage, méthode d'analyse au laboratoire...)



# INTERVENTION EN ÉLEVAGE

Annexe  
2

## Démarche d'intervention

### L'INVESTIGATION EN ÉLEVAGE PORTERA SUR LA RECHERCHE DE FACTEURS DE RISQUE DE CONTAMINATION FÉCALE, LE PREMIER RÉSERVOIR DES STEC HP ÉTANT LE TUBE DIGESTIF DES RUMINANTS.

À l'issue de cette investigation, le premier objectif de l'intervention sera d'éviter le passage des bactéries dans le lait au moment de la traite puis l'on cherchera à réduire la circulation de la bactérie dans l'élevage.

Des prélèvements seront réalisés en complément des observations, dont l'objectif sera de confirmer les lieux et zones à risque de contamination par les bactéries au sein de l'élevage.

Il sera donc nécessaire au niveau de la traite de **surveiller particulièrement les points suivants lors de l'investigation suite à une contamination du lait :**

1. **veiller à obtenir des trayons propres** et secs avant la traite afin de limiter les risques de passage de STEC HP dans le lait,
2. **veiller à une traite calme** et aux réglages optimaux de la machine à traire, ceci afin d'éviter des chutes de griffes et donc l'aspiration accidentelle de matières fécales,
3. **surveiller le bon entretien** et le nettoyage interne et externe de l'installation de traite\* (dont la qualité de l'eau de nettoyage des installations de traite notamment en cas d'utilisation d'eau de ressource privée),
4. **surveiller la bonne conservation et la collecte du lait** : absence de projection de salissures sur le matériel de stockage du lait, nettoyage interne et externe régulier de la cuve de réfrigération.

Une attention devra également être portée sur les risques de présence de diarrhées et/ou de selles trop molles (ou bouses trop liquides chez les vaches) qui accentuent le risque de dissémination plus forte de STEC. L'alimentation devra être adaptée avec pour objectif de limiter ce risque, ainsi que toutes les maladies induisant ce risque. Veiller à isoler rapidement les animaux malades ou suspects y compris simplement en les mettant dans un box visible du reste du troupeau (ex. pour les caprins).

Dans les bâtiments d'élevage, des conditions d'humidité et de température sont favorables à la survie et au développement des STEC HP. **Au-delà de la ventilation qui doit permettre l'évacuation rapide de l'air vicié, d'autres aspects doivent être pris en compte dans la conception :**

5. **veiller au respect de surfaces de vie** suffisantes pour les animaux,
6. **veiller à une hygiène quotidienne du bâtiment**, paillage suffisant afin d'éviter une salissure trop importante des femelles laitières et des abreuvoirs,
7. **veiller au curage régulier des aires de vie** et de couchage,
8. **veiller à éviter des zones de fortes surcharges d'animaux** au même endroit au pâturage,
9. **veiller à une bonne hygiène du stockage** et de la distribution des aliments au troupeau, et réduire notamment les risques de contamination fécale des aliments (pâturage, fourrages, concentrés, eau (notamment si utilisation d'eau de ressource privée ou abreuvement dans la nature)), y compris lors du transport des aliments (ex : roues de tracteurs souillées de matières fécales),

\* En l'état actuel des connaissances, les STEC ne semblent pas s'installer dans la machine à traire dans le cas de bonnes conditions de conception, d'entretien et de nettoyage, et n'ont pas d'aptitudes particulières à former des biofilms.

10. **veiller à la bonne gestion des effluents** : stockage et lieux d'épandage des effluents, durée entre épandage et pâturage ou entre épandage et récolte de fourrage, éventuellement hygiénisation des effluents (méthanisation, compostage bien conduit...),
11. **hors période d'allaitement, veiller à éviter que les jeunes animaux soient trop proches des animaux adultes**, et analyser les mouvements d'animaux ayant eu lieu au sein du troupeau laitier au moment des problèmes de contamination du lait,
12. **éviter les sources de stress** des animaux.

#### **Pour en savoir plus :**

- Plaquette STECAMONT : <https://idele.fr/detail-dossier/projet-stecamont>
- Collectif, 2019. Maîtrise des STEC dans les élevages dont le lait est contaminé - Acquisition de connaissances et test de l'efficacité de mesures de maîtrise. Fiche focus R et D.
- Cniel, 2017. Guide interprofessionnel de maîtrise des STEC en filière laitière.
- Cniel, 2020 : Démarche d'intervention sur la qualité microbiologique du lait dans une exploitation avec robot(s) de traite (fiche Escherichia coli - élevage bovin)
- GDS France, 2021. Biosécurité : organiser la protection de mon élevage <https://www.gdsfrance.org/biosecurite-en-elevage/>

# PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE

Annexe  
3

## Validation d'un plan

### DÉFINITION DE LA STRATÉGIE D'ÉCHANTILLONNAGE

Les plans mis en place dans les industries agro-alimentaires sont le plus souvent des plans, dits par attributs, à 2 classes (n, c, m) ou à 3 classes (n, c, m, M) (figure 1). Le plan d'échantillonnage doit préciser la population concernée, la taille de l'échantillon - c'est-à-dire le nombre d'unités d'échantillonnage prélevées dans la population -, les quantités prélevées et analysées, la méthode analytique. La fréquence d'analyse (ex : tous les lots, 1 lot sur 2) est également à déterminer.

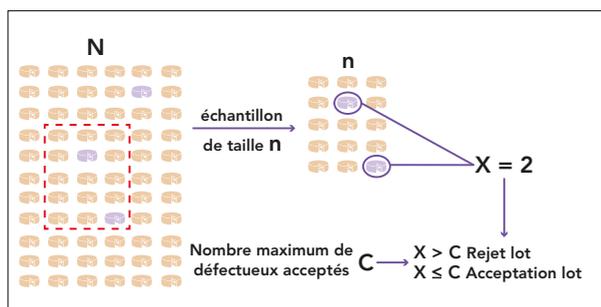


Figure 1 : Plan par attribut à 2 classes.

N unités d'échantillonnage sont prélevées d'un lot de taille N.

X est le nombre d'unité non conformes parmi n.

Le lot est accepté si moins de C unités sont non conformes.

Généralement, la population concernée est le « lot », qui est défini comme un ensemble de produits, pré-emballés ou non, fabriqués dans des conditions similaires (par exemple, avec la même matière première, entre deux opérations d'hygiène, sur une durée de production définie, issus d'une même ligne de fabrication, avec le même lait de tank de collecte).

Le plan d'échantillonnage est spécifique du microorganisme recherché. Des unités d'un lot peuvent être homogènes pour un caractère mais hétérogènes pour d'autres caractères. Une contamination est dite « hétérogène » quand les concentrations sont différentes d'une zone à l'autre d'un lot. Toutes les informations

et données permettant de décrire l'hétérogénéité de la contamination biologique d'un lot, et en particulier les résultats d'analyses microbiologiques réalisés en routine, doivent être exploitées pour caractériser cette hétérogénéité. Si la contamination dans le lot est supposée hétérogène, il est recommandé de constituer un échantillon à partir de plusieurs unités d'échantillonnage réparties dans le lot.

Il est fréquent de constituer un échantillon en mélangeant plusieurs prélèvements issus de différentes unités du lot (« pooling » ou regroupement). Si l'objectif du plan est de détecter une contamination, le plan d'échantillonnage présentera les mêmes performances avec ou sans regroupement, sous réserve que la méthode analytique garantisse des caractéristiques équivalentes, quelles que soient les conditions. Si la garantie d'une performance équivalente n'est pas disponible, une validation analytique est alors nécessaire.

Il existe différentes stratégies pour tirer au sort des unités d'échantillonnage dans une population d'intérêt (systématique, aléatoire, aléatoire stratifié). Dans le présent contexte la sélection des échantillons analysés se fait de manière aléatoire.

### L'ÉVALUATION DE LA PERFORMANCE D'UN PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE À L'AIDE DE L'APPRÉCIATION QUANTITATIVE DES RISQUES (AQR) :

Il existe différents outils pour évaluer la performance d'un plan d'échantillonnage. L'approche « Appréciation Quantitative des Risques » ou AQR traitée dans cette annexe, fait partie des outils utilisés au côté de calcul de courbes d'efficacité.

En l'absence de critère réglementaire pour les STEC, l'efficacité de la mise en place d'un plan de contrôle microbiologique à visée libératoire peut se mesurer par la diminution du risque d'effet néfaste pour le consommateur, consécutive à la détection de lot contaminé et non mis sur le marché. Le recours à

l'appréciation quantitative des risques (AQR), approche recommandée et utilisée par les autorités sanitaires, permet de quantifier cette diminution de risque pour le consommateur. L'OMS et la FAO ont récemment publié un guide pour la mise en œuvre de l'approche qui s'appuie sur les 20 ans de développements et d'application à l'échelle internationale<sup>10</sup>. A l'international, les agences sanitaires de pays développés ont recours à l'approche pour rendre des avis (Europe, Etats-Unis, Australie, Chine, etc). En France l'ANSES, en charge de l'évaluation des risques, a publié plusieurs avis et notes d'appui scientifique et technique s'appuyant sur le développement de modèles AQR, pour les fromages au lait cru<sup>11, 12, 13</sup> mais également pour d'autres matrices alimentaires<sup>14, 15, 16</sup>.

L'AQR consiste à développer un modèle de simulation du comportement bactérien tout au long de la durée de vie du produit, depuis la production du lait jusqu'à la consommation, et d'en déduire une probabilité d'effet néfaste pour le consommateur. Le modèle tient compte des niveaux initiaux dans la matière première qui peuvent être très faibles (ce qu'un test de croissance tels que définis dans la norme ISO 20976-1:2019<sup>17</sup> ne permet de reproduire que très difficilement, du fait des coûts expérimentaux), et du fait que seuls quelques laits sont contaminés. Il permet également de tester différents scénarios de process de fabrication (présence ou non d'une phase de maturation, différentes températures de chauffage du lait, acidification plus ou plus longue, conditions d'affinage, etc) tout en tenant compte de la variabilité des paramètres physico-chimiques inhérent au process.

#### Un modèle AQR utilise :

- **les informations disponibles** sur le niveau de contamination du lait mis en œuvre et notamment les données d'autocontrôles microbiologiques : dans le cas des STEC, peu analysés au niveau du lait, les informations sur le niveau de contamination en *E. coli* sont valorisées,
- **des modèles de microbiologie prévisionnelle**, qui prédisent la croissance ou l'inactivation du germe en fonction des paramètres physico-chimiques du produit. Ces modèles s'appuient sur des données expérimentales obtenues préalablement à la construction du modèle, en particulier les tests de croissance,
- **les informations sur le process de fabrication** spécifique au produit fabriqué (paramètres physicochimique, durée des étapes, etc...),
- **des données de consommation**, issues d'enquêtes,
- **des modèles dose-réponse** qui mettent en lien une dose ingérée avec une probabilité d'effet néfaste.

Le modèle simule le niveau de contamination (nombre de bactérie par produit dans un lot, nombre de produit contaminés) du produit tout au long de la vie du produit, et le risque consommateur tout en tenant compte de l'hétérogénéité de la contamination à l'intérieur de lot.

Différents scénarios de contamination et de procédé de fabrication peuvent être testés par simulation pour évaluer quantitativement l'impact d'un procédé (chauffage du caillé, durée de l'affinage, etc), d'une mesure de maîtrise (ex : tri du lait), sur le niveau de contamination final et la durée de vie d'un produit, le respect d'un critère réglementaire ou encore le risque pour la santé humaine, notamment en cas d'absence de critère microbiologique.

L'impact du plan de contrôle microbiologique sur le lait et les produits avant leur mise sur le marché peut être évalué par simulation. Cet impact se présente sous la forme de pourcentage de diminution du risque d'effet néfaste pour la santé humaine (ex : 35% ou 95% de réduction du risque). Le pourcentage de lots rejetés peut également être calculés. La comparaison de différents plans d'échantillonnage permet de quantifier la valeur ajoutée d'un plan par rapport à un autre et par exemple, d'évaluer la pertinence d'augmenter ou réduire le nombre d'analyses par lot. Sous réserve d'informations suffisantes, la modélisation du plan de contrôle peut tenir compte d'un potentiel pooling, de la fréquence d'échantillonnage des lots, de la limite de détection de la méthode analytique.

Plusieurs modèles AQR ont été développés pour les STEC dans les fromages au lait cru (pâtes pressées non cuites à affinage long et court, pâte molle, pâte persillée) faisant l'objet de publications scientifiques<sup>18</sup>, rapports d'étude et fiches de synthèse<sup>19</sup>. Les modèles font suite à des actions conduites en partenariat entre le CNIEL, Actalia, et les professionnels laitiers, soit dans le cadre de prestation privée, soit dans le cadre de projet de recherche financés par la filière laitière et/ou des fonds publics.

A ce jour, les modèles développés dans le cadre de projets financés par le CNIEL sont accessibles aux professionnels laitiers. Des formations sont organisées par le CNIEL et Actalia pour s'approprier la démarche, et apprendre à manipuler les modèles via une interface de simulation en ligne dédiée ([aqr.maisondulait.fr](http://aqr.maisondulait.fr)). Compte tenu de l'expertise requise pour manipuler les modèles et interpréter les résultats, les professionnels laitiers peuvent également se faire accompagner par Actalia pour des prestations d'expertise (utiliser des modèles existants, adaptation des modèles existants à un process de fabrication spécifique, etc), à l'échelle d'une entreprise ou à l'échelle d'une filière<sup>20</sup>.



<sup>10</sup> World Health Organization & Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2021). Microbiological risk assessment: guidance for food. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/341630>

<sup>11</sup> ANSES, 2014. Appui scientifique et technique concernant l'étude de l'évolution de *Listeria monocytogenes* dans les fromages de type cantal

<sup>12</sup> ANSES, 2016. AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des protocoles d'échantillonnage des laits et fromages morbier et mont d'or en vue de réduire le risque épidémique de salmonellose

<sup>13</sup> ANSES, 2018 AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif au protocole de reprise de la commercialisation de reblochons proposé par l'entreprise Chabert

<sup>14</sup> ANSES, 2018. AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif aux mesures de maîtrise des salmonelles en filière porcine : état des connaissances et appréciation quantitative des risques

<sup>15</sup> ANSES, 2017. AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la détection des *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC)

considérés comme hautement pathogènes en filière viande hachée bovine

<sup>16</sup> ANSES, 2020. AVIS révisé de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la filière de production des préparations en poudre pour nourrissons

<sup>17</sup> ISO 20976-1:2019(fr) Microbiologie de la chaîne alimentaire — Exigences et lignes directrices pour la réalisation des tests d'épreuve microbiologique — Partie 1: Tests de croissance pour étudier le potentiel de croissance, le temps de latence et le taux de croissance maximal

<sup>18</sup> Perrin et al. 2015 Quantitative Risk Assessment of Haemolytic and Uremic Syndrome Linked to O157:H7 and Non-O157:H7 Shiga-Toxin Producing *Escherichia coli* Strains in Raw Milk Soft Cheeses. *Risk Analysis*. Jan;35(1):109-28. doi: 10.1111/risa.12267

<sup>19</sup> CNIEL. 2016. Fiche synthèse du projet MaGesteC - MAîtrise et GEstion des STEC dans les fromages à pâte pressée non-cuite (AQR/STEC PPNC)

<sup>20</sup> ACTALIA 2020. Catalogue de prestation d'expertise « Evaluer l'impact des mesures de maîtrise et l'efficacité des plans d'échantillonnage en utilisant la modélisation, la microbiologie prévisionnelle et l'appréciation quantitative des risque ».

## IDENTIFICATION DES SÉROGROUPE / SÉROTYPES ET DES PRINCIPAUX FACTEURS DE VIRULENCE

Les gènes *eae*, *stx* ainsi que les marqueurs ciblant les principaux sérogroupes/sérotypes d'intérêt diagnostique ou épidémiologique (O157, O145, O103, O111, O26,) sont identifiés par PCR en temps réel, selon la spécification Technique NF EN ISO 13136/2012. En parallèle, des tests PCR ciblant les mêmes gènes et marqueurs ont été développés par des industriels fournisseurs de kits et sont à disposition dans le commerce. De nouveaux tests sont développés ou en cours de développement par les scientifiques ainsi que les fournisseurs de kits avec pour objectif d'identifier les souches émergentes, comme les STEC O80.

Des analyses plus poussées permettent de déterminer les sous-types de certains de ces gènes, comme les sous-

types des gènes *stx1* (*stx1a*, *stx1c* et *stx1d*) et *stx2* (*stx2a* à *stx2h*) ou les variants *eae-gamma*, *eae-bêta*, *eae-epsilon* et *eae-thêta* préférentiellement associés aux sérotypes majeurs. Ces analyses peuvent être réalisées par certains laboratoires qui ont développé des PCR internes ciblant ces variants ou par des tests rapides commercialisés.

Outre les techniques de PCR mentionnées ci-dessus, il est également possible de déterminer par séquençage (next generation sequencing – NGS) les gènes associés à la biosynthèse des antigènes somatiques et/ou flagellaires ainsi que les facteurs de virulence. Les génomes peuvent être séquencés via différents outils, en sachant que la méthode Illumina est la plus employée de nos jours. Les données de séquençage sont ensuite analysées via des plateformes qui regroupent différents logiciels de bio-informatiques et interrogent des bases de données (comme ENTEROBASE) (Figure 1).

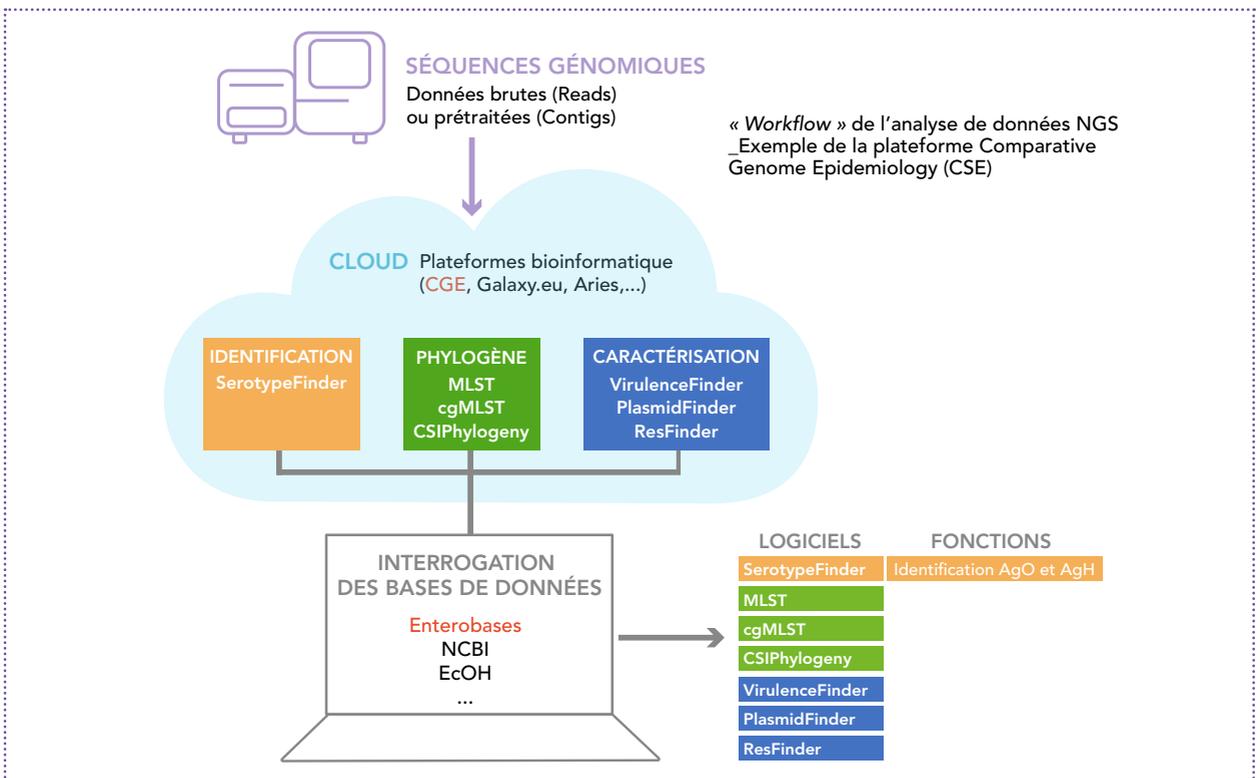


Figure 1 : Analyse de données NGS (source : CGE)

Pour obtenir le sérotype et les facteurs de virulence des souches de STEC analysées, les données de séquençage peuvent être analysées via les logiciels SerotypeFinder et VirulenceFinder sur la plateforme CGE (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/SerotypeFinder/>).

Ces analyses peuvent se faire sans diffusion de séquences, ce qui favorise le respect de la confidentialité des données. Des logiciels tels qu'Abriicate (<https://github.com/tseemann/abriicate>) avec la base de données EcOH (<https://doi.org/10.1099/mgen.0.000064>) permettent également de réaliser cette analyse dans les mêmes conditions. Le logiciel Bionumerics permet également d'identifier le sérotype des souches, ainsi que la présence des facteurs de virulence (y compris les sous-types des gènes *stx1* et *stx2*).

Pour une analyse plus exhaustive des facteurs de virulence présents chez les STEC et une investigation poussée, il convient de réaliser un séquençage total du génome des souches.

Ne pas oublier de collecter et de conserver les métadonnées liées aux prélèvements et souches isolées. Ces données doivent être les plus complètes et les plus uniformes possibles pour faciliter l'identification de voies de dissémination des souches.

### **ANALYSE PHYLOGÉNÉTIQUE PERMETTANT D'APPRÉCIER LA DISTANCE GÉNÉTIQUE ENTRE LES SOUCHES DE STEC**

Les techniques de typage PFGE sont de moins en moins pratiquées par les autorités compétentes pour apprécier la distance génétique entre les souches et repérer les clusters épidémiques. Elles sont en effet beaucoup moins résolutive que les techniques de séquençage. Aujourd'hui, le séquençage NGS du génome total des souches de STEC permet de connaître la phylogénie fine de ces souches. L'identification des clusters est classiquement réalisée après une analyse des SNPs ou une analyse MLST (Multi-Locus\_Sequence Typing) sur le core-génome (cg-MLST) et/ou le génome total (wg-MLST).

Il existe plusieurs possibilités pour effectuer les analyses phylogénétiques en utilisant notamment les données des souches déposées dans la base de données ENTEROBASE. Les données de séquençage peuvent être analysées par les mêmes outils que ceux précédemment détaillés. Les données peuvent par exemple être analysées via l'application cgMLSTFinder du CGE ou les plateformes [Galaxy \(usegalaxy.org\)](https://usegalaxy.org) ou aries. Ces deux dernières plateformes présentent l'avantage d'être accessibles sans diffusion du génome. Le logiciel Bionumerics offre également la possibilité de réaliser ces analyses phylogénétiques (wgMLST, wgSNP, etc...).



# PLANS DE SURVEILLANCE ET DE CONTRÔLES OFFICIELS

Annexe  
5

## LES ENJEUX

Les plans de surveillance et de contrôle ou PSPC sont des contrôles officiels qui font partie du dispositif général d'évaluation et de maîtrise de la sécurité sanitaire des aliments. La DGAL pilote la mise en place de PSPC.

Les plans de contrôle et de surveillance ont pour objectifs d'établir :

- les **taux de contamination** des fromages au lait cru en France par les souches STEC identifiées comme les plus à risque (STEC hautement pathogènes). Ces plans

permettent d'apprécier l'exposition du consommateur à ce danger ainsi que l'efficacité des mesures de maîtrise mises en place par les professionnels,

- **en parallèle, des travaux d'épidémiologie** sont mis en œuvre sur les échantillons analysés. Ils consistent à rechercher les souches STEC tout venant dans les échantillons. Ils permettent de surveiller les souches STEC HP présentes dans les produits et éventuellement d'identifier de nouvelles souches émergentes.

Les protocoles employés lors des PSPC

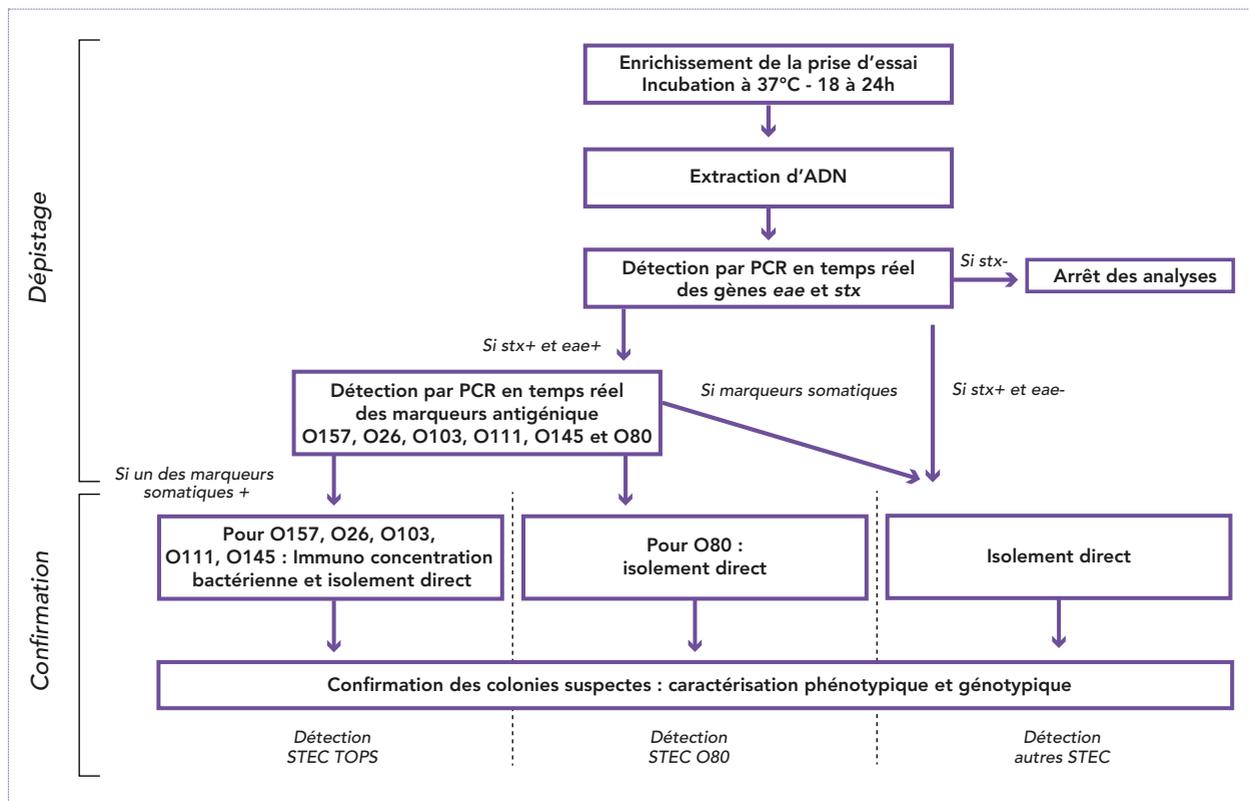


Figure 1 : Schéma des analyses mises en œuvre dans le cadre des PSPC STEC HP

## Les résultats obtenus lors des PSPC ciblant les fromages au lait cru

Année	Produit	Stade	Taux de contamination en % [IC 95%] (Nb échantillons contaminés/ Nb total d'échantillons)
2005	Fromages au lait cru de chèvres	Production	0 [0-0,4] (0/871)
2007	Fromages au lait cru de chèvres, brebis et vaches	Production	0 [0-0,9] (0/392)
2009	Fromages au lait cru de chèvres, brebis et vaches	Production	0,9 [0,6-1,4] (17/1911)
2014	Fromages au lait cru de chèvres, brebis et vaches	Production	0,19 [0,02-0,6] (2/1052)
2018	Fromages au lait cru de chèvres, brebis et vaches	Production	0,8 [0,2-2] (4/490)

Tableau 1 : Synthèse des données obtenues au cours des PSPC STEC mis en œuvre en France

### Les souches isolées au cours des PSPC sont décrites dans les histogrammes

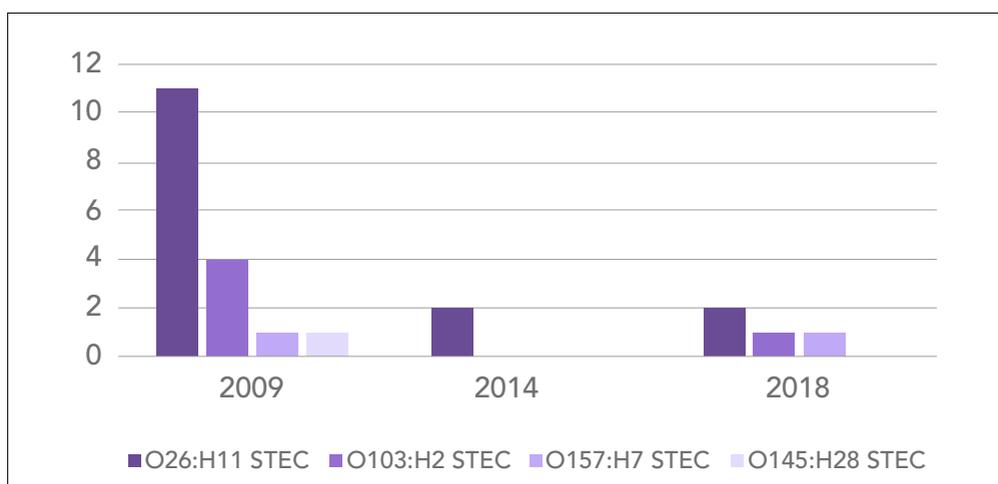


Figure 2 : Sérotypes des souches STEC isolées dans le cadre des PSPC STEC HP

Les résultats obtenus indiquent que les taux de contamination des fromages au lait cru sont faibles et relativement stables. Ces données montrent que le risque d'exposition de l'Homme via la consommation de ce type d'aliments en France reste limité. Néanmoins, des souches potentiellement pathogènes ont été isolées dans certains échantillons analysés.

Les résultats obtenus rappellent l'importance de la maîtrise de ce danger en amont par les professionnels ainsi que la sensibilisation des consommateurs aux recommandations de consommation mentionnées sur l'étiquetage.

Les PSPC constituent ainsi un outil essentiel de la surveillance sanitaire des aliments et contribuent dans le même temps à la valorisation des produits agricoles. Les résultats des PSPC sont exploités au niveau national et international. Ainsi, l'ensemble des résultats sont transmis à l'Anses, l'agence en charge de l'évaluation des risques en France. Les données sont également transmises à l'EFSA, l'agence en charge de l'évaluation des risques au niveau européen. La compilation et l'analyse des données permettent d'apprécier la pertinence des PSPC, optimiser la gestion des risques alimentaires sur le territoire français et au sein de l'Union Européenne.

# RECOMMANDATIONS DE TRAVAUX

Annexe  
6

## Pour améliorer la surveillance de STEC HP

Les travaux menés au sein de la plateforme ont souligné que certains points spécifiques à l'analyse des STEC au sein de la filière sont encore insuffisamment renseignés ou traités de façon très variable d'une entreprise à une autre.

Afin de réduire les incertitudes liées à l'emploi de pratiques diverses, et en vue d'établir des recommandations, des études et des actions devront être menées, en particulier sur :

- la sensibilisation des professionnels aux techniques de définition des plans d'échantillonnage,
- l'impact de différentes méthodes de pooling (mélange des échantillons) (dry pooling, wet pooling) sur le résultat d'analyse, en lien avec les données de performance des protocoles de kits de détection,
- l'impact de la nature des filtres (papier, cellulose, taille des pores, etc...), des conditions de conservation (température, durée et bouillon d'enrichissement) sur la recherche des STEC HP,
- la valorisation de l'ajout de marqueurs de virulence supplémentaires pour les kits de détection (exemple : H),
- la caractérisation fine des souches isolées des produits au lait cru et de son environnement à la ferme et à l'usine pour mieux comprendre l'origine, la circulation et l'évolution des souches STEC pouvant se trouver dans le produit fini (ex : O26),
- l'identification de l'émergence éventuelle de nouvelles souches pathogènes (ex : O80).



## GLOSSAIRE

**Anses** : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**AQR** : Appréciation Quantitative des Risques

**Cas** : détection d'une non-conformité à l'un des maillons de la chaîne

**Confirmation** : procédure d'isolement sur gélose et de caractérisation génétique (genre, espèce, facteurs de virulence) par différentes méthodes phénotypiques/immunologiques des bactéries suspectées dans l'échantillon enrichi. Cette confirmation est obtenue au cours de l'analyse de seconde intention

**DDecPP** : Direction Départementale en charge de la Protection des Populations

**DGAL** : Direction Générale de l'alimentation

**DGCCRF** : Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes

**DGS** : Direction Générale de la santé

**EFSA** : European Food Safety Agency (Autorité européenne de sécurité des aliments)

**GBPH** : Guide de Bonnes Pratiques d'Hygiène

**HACCP** : Système d'analyse des risques et de maîtrise des points critiques

**Investigation** : ensemble des démarches entreprises pour identifier les sources de contamination et stopper la contamination du lait et/ou des produits

**Lot** : ensemble de produits, pré-emballés ou non, fabriqués dans des conditions similaires (par exemple, avec la même matière première, entre deux opérations d'hygiène, sur une durée de production définie, issus d'une même ligne de fabrication, avec le même lait de tank de collecte). Des unités d'un lot peuvent être

homogènes pour un caractère mais hétérogènes pour d'autres caractères. La définition de la notion de lot relève de la responsabilité du professionnel

**Non-conformité** : présence dans la matrice de STEC hautement pathogènes

**PMS** : Plan de Maîtrise Sanitaire

**Protocole de discordance** : étape supplémentaire d'analyse à mettre en œuvre lorsque les bouillons suspects en STEC HP ne se trouvent pas confirmés en seconde intention, consistant bien souvent en une nouvelle étape d'enrichissement secondaire des bouillons avant de procéder à une analyse de confirmation

**Résultat non satisfaisant** : dénombrement élevé d'*E. coli* au-delà d'une fréquence et d'un seuil prédéfinis par l'opérateur

**Sérogroupe** : caractérise une souche d'*Escherichia coli* par ses antigènes de surface identifiés par un « O ». Exemple : O157, O26...

**Sérotype** : caractérise plus finement une souche d'*Escherichia coli* par ses antigènes de flagelle (appendice permettant la mobilité de la bactérie), identifiés par un « H », en complément des antigènes de surface « O ». Exemple : O157:H7, O26:H11

**SHU** : Syndrome Hémolytique et Urémique

**SpF** : Santé publique France

**Surveillance** : ensemble des activités (pratiques et contrôles) qui visent à collecter en continu des données, les analyser, et les interpréter pour fournir des informations sur la situation et l'évolution d'une contamination. Ces activités, à un ou plusieurs stades de la chaîne alimentaire, ont pour but de mettre en œuvre des actions de prévention ou de lutte. La surveillance permet également de déterminer si les mesures de maîtrise sont satisfaisantes.

**Surveillance évènementielle** : elle repose sur une notification généralement volontaire de (suspensions de) cas (pathologie animale ou contamination du lait observés en élevage par exemple). Particulièrement adaptée au suivi des évènements rares et à leur détection précoce, elle souffre néanmoins généralement d'une plus faible sensibilité.

**Surveillance programmée** : elle implique la mise en œuvre d'un échantillonnage prédéfini sur la base de critères de représentativité des populations ciblées, de risques, de faisabilité des prélèvements, etc. Bien adaptée à la surveillance des infections asymptomatiques ou au suivi de la maîtrise des dangers au cours des procédés, son coût est souvent plus élevé que la surveillance évènementielle.

**Surveillance de routine** : elle est mise en place de façon systématique en situation normale. L'objectif général est de collecter des données et informations pertinentes pour mettre en place des actions permettant d'améliorer la qualité sanitaire du lait et des fromages.

**Surveillance renforcée** : elle est mise en place lors d'un contexte sanitaire à risque, ou en cas de résultats non conformes ou non satisfaisants sur le lait ou sur le fromage.

**Suspicion** : la présence de STEC hautement pathogènes est suspectée si et seulement si le résultat obtenu de la PCR sur le bouillon d'enrichissement du lait ou du fromage montre la présence simultanée des gènes caractéristiques des STEC HP (*stx*, *eae*, sérogroupes). Cette suspicion est identifiée au cours de l'analyse de première intention. Elle précède l'étape dite de « confirmation ».

**STEC**: *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines. Ces *E. coli* possèdent un gène *stx* (*stx1* et/ou *stx2*) codant pour la production de toxines.

**STEC Hautement Pathogènes (HP)** : *Escherichia coli* pouvant être responsable d'infections graves

chez des personnes sensibles, possédant les gènes codant pour les shigatoxines (variants *stx1* et/ou *stx2*) et l'intimine (gène *eae*), et appartenant à l'un des 5 sérotypes qualifiés de « top 5 » : O157:H7, O26:H11, O145:H28, O103:H2 ou O111:H8.

*Cette définition est soumise à l'évolution des connaissances et le cas échéant à l'actualisation du guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire.*

**Vérification** : activité permanente qui sert à confirmer que les mesures de maîtrise ont été appliquées de manière adéquate.

