



# BE Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Janvier 2017/numéro 77

Numéro spécial  
Surveillance sanitaire  
des aliments

3	Réflexion sur la surveillance épidémiologique des aliments
7	Surveillance officielle des contaminants de la chaîne alimentaire
12	Guide pour la définition des besoins en surveillance
13	Polluants organiques persistants
18	Éléments traces métalliques – focus sur le méthylmercure dans les poissons
23	Phycotoxines dans les coquillages
28	<i>Trichinella</i> chez les animaux de boucherie
33	Cystercose bovine
37	Résidus de médicaments vétérinaires dans les volailles et les œufs
42	Produits phytosanitaires dans les aliments
48	Pesticides dans le miel
52	Promoteurs de croissance
60	<i>E. coli</i> STEC dans les viandes hachées
65	<i>Salmonella</i> dans les carcasses de porc à l'abattoir
70	<i>Salmonella</i> dans les viandes de volailles et résistance aux antibiotiques
75	Réseau <i>Salmonella</i>
82	Bases de données sur <i>Listeria monocytogenes</i>
88	Histamine dans les poissons réfrigérés
93	Alertes alimentaires et surveillances des toxi-infections alimentaires collectives

## ÉDITORIAL

Ce numéro spécial est la première édition du *Bulletin épidémiologique - santé animale, alimentation* - consacré à un bilan annuel sur la surveillance sanitaire des aliments. Cette nouvelle production du BE présente l'organisation et les résultats des principaux dispositifs de surveillance des contaminants chimiques et biologiques susceptibles de se trouver dans l'alimentation humaine.

Les contaminants visés sont associés à des effets indésirables, avérés ou potentiels, chez l'Homme, pour lesquels il existe des dispositifs de surveillance au niveau national. Trois catégories de contaminants font l'objet d'une surveillance : les contaminants d'origine environnementale, ceux liés aux intrants utilisés en élevage et en agriculture et ceux liés à un défaut de maîtrise sanitaire des procédés de transformation des produits alimentaires. Les articles présentent les concepts de base de l'épidémiosurveillance dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments et positionnent l'ensemble des acteurs dans le processus.

Pour chaque article, un encadré synthétise les modalités de la surveillance mise en œuvre et le contexte réglementaire. Les dispositifs sont décrits, accompagnés d'un bilan de l'année la plus récente pour laquelle les données consolidées sont disponibles au niveau national ; le cas échéant, ces résultats sont mis en perspective avec ceux des années précédentes.

Ce numéro spécial du BE est complémentaire des bilans annuels publiés par ailleurs (notamment des fiches de synthèse des bureaux techniques de la direction générale de l'Alimentation, publiées sur le site du ministère en charge de l'Agriculture). En effet, l'exercice spécifique de co-rédaction entre les différentes entités contributrices (administrations centrales, Anses, laboratoires nationaux de référence, centres techniques agro-industriels) est l'occasion d'échanges structurants, contribuant *in fine* à optimiser les actions de surveillance (acquisition d'un vocabulaire technique commun, partage et complémentarité des objectifs, échanges sur la qualité des données, interprétation et mise en perspective des résultats pour l'évaluation ou la gestion du risque).

Ceci illustre, d'ores et déjà, le bénéfice attendu des synergies entre les acteurs de la surveillance, identifiés pour certains, comme les membres potentiels de la Plateforme de surveillance de la chaîne alimentaire prévue par la Loi d'Avenir pour l'Agriculture, l'Alimentation et la Forêt.

Ce document constitue par ailleurs un dispositif de valorisation et de communication aux niveaux national et international. Il fournit un retour détaillé d'informations sur les dispositifs et les données épidémiologiques vers toutes les parties prenantes du processus de surveillance, favorisant ainsi l'appropriation de cette activité à chaque étape, de la collecte à l'analyse et l'interprétation des résultats (opérateurs, laboratoires, agents chargés des contrôles officiels aux niveaux local et national). Ces bilans sont également considérés comme des données de référence communicables au niveau international, dans le cadre d'échanges commerciaux par exemple. Enfin, les bilans et analyses présentés servent de socle pour la gestion et l'évaluation des risques.

Globalement, le niveau général de la qualité sanitaire des aliments en France est considéré comme très favorable, caractérisé par de très faibles taux de non-conformité. Les résultats de surveillance des toxi-infections alimentaires chez l'Homme fournissent, par ailleurs, des indicateurs d'appréciation du niveau de maîtrise général en matière de contaminations biologiques.

Ces bilans soulignent la responsabilité partagée des différents acteurs, des éleveurs jusqu'au consommateur final, dans la caractérisation et la maîtrise des risques sanitaires. Pour l'ensemble des contaminants, l'analyse critique de la situation sanitaire, et l'évaluation de la réalisation et de la pertinence des actions de surveillance et de maîtrise, constituent les éléments essentiels du pilotage sanitaire depuis le niveau local jusqu'au niveau national.

Le comité de rédaction spécial BE SSA

## SOMMAIRE DÉTAILLÉ *TABLE OF CONTENTS*

### Numéro spécial – Surveillance sanitaire des aliments

3	Réflexions autour de la surveillance épidémiologique des aliments <i>Reflections on food chain surveillance</i>
7	Le système de surveillance des contaminants dans la chaîne alimentaire piloté par la DGAL: bilan de la campagne des plans de surveillance et de contrôle en 2014 <i>The surveillance system for food-chain contaminants managed by the DGAL: report on the 2014 surveillance and control plan campaign</i>
12	Brève. Guide d'aide à la définition des besoins en matière de surveillance épidémiologique dans le secteur de la sécurité sanitaire des aliments <i>Short item. Guide to the definition of epidemiological surveillance requirements in the food safety sector</i>
<b>I. Surveillance des contaminants et des agents pathogènes d'origine environnementale</b>	
13	Surveillance des polluants organiques persistants dans les denrées alimentaires d'origine animale en 2014 <i>Surveillance of persistent organic pollutants in foodstuffs of animal origin in 2014</i>
18	Surveillance des éléments traces métalliques dans les denrées alimentaires d'origine animale - focus sur le plan exploratoire de la recherche du méthylmercure dans les poissons <i>Surveillance of trace metals in foods of animal origin - focus on the exploratory plan to test for methylmercury in fish</i>
23	Surveillance des phycotoxines dans les coquillages <i>Surveillance of phycotoxins in shellfish</i>
28	Bilan de surveillance de <i>Trichinella</i> spp. chez les animaux de boucherie <i>Report on Trichinella spp. monitoring in meat</i>
33	Epidémiosurveillance de la cysticercose bovine en France: situation en 2015 <i>Epidemiological monitoring of bovine cysticercosis in France: situation in 2015</i>
<b>II. Surveillance des contaminants liés aux intrants utilisés en agriculture</b>	
37	Le dispositif de surveillance des résidus de médicaments vétérinaires dans les volailles et les œufs <i>Surveillance of veterinary drug residues in poultry meat and eggs</i>
42	Le dispositif français de surveillance des produits phytosanitaires dans les denrées alimentaires d'origine animale <i>The French system for surveillance of contamination by plant protection products in foodstuffs of animal origin</i>
48	Résultats des plans de surveillance et de contrôle des résidus de pesticides dans le miel en 2014 et 2015 <i>Results of the surveillance and control programmes on pesticide residues in honey for 2014 and 2015</i>
52	Le dispositif de contrôle des promoteurs de croissance <i>Surveillance of growth promoters</i>
<b>III. Surveillance des contaminants et des agents pathogènes liés à un défaut de maîtrise sanitaire des procédés</b>	
60	Surveillance des <i>E. coli</i> producteurs de shigatoxines (STEC) dans les viandes hachées de bœuf réfrigérées mises sur le marché en France en 2015 <i>Surveillance of shigatoxin-producing E. coli (STEC) in refrigerated fresh minced beef on the French market in 2015</i>
65	Surveillance de la contamination des carcasses de porcs par <i>Salmonella</i> via le bilan des autocontrôles réalisés à l'abattoir <i>Surveillance of Salmonella contamination of pig carcasses through self-inspections undertaken at the slaughterhouse</i>
70	Surveillance programmée de la contamination par <i>Salmonella</i> spp. des viandes fraîches de volaille au stade de l'abattoir et de la résistance aux antibiotiques des souches isolées en 2014 <i>Programmed surveillance of Salmonella spp. contamination of fresh poultry meat at slaughterhouse and the antimicrobial resistance of strains isolated in 2014</i>
75	Le réseau <i>Salmonella</i> , un dispositif de surveillance des salmonelles sur la chaîne alimentaire: bilan 2015 <i>The Salmonella network: a surveillance scheme for Salmonella in the food chain: 2015 results</i>
82	Une base de données moléculaires partagée au service de la surveillance de <i>Listeria monocytogenes</i> dans la chaîne alimentaire en France <i>A shared molecular database for the surveillance of Listeria monocytogenes in the food chain in France</i>
88	Surveillance de l'histamine dans les poissons réfrigérés à forte teneur en histidine en France (2010 à 2012 et 2015) <i>Results of histamine monitoring in refrigerated fish with high histidine concentrations in France (2010-2012 and 2015)</i>
93	Place des alertes alimentaires et des toxi-infections alimentaires collectives dans la surveillance de la chaîne alimentaire <i>The role of food alerts and food-borne outbreaks in food chain surveillance</i>
95	Note sur rapport. Zoonoses, agents zoonotiques et toxi-infections alimentaires collectives en Europe en 2014 <i>Report memo. Zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in Europe in 2014</i>

Le *Bulletin épidémiologique* est une publication conjointe de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail et de la Direction générale de l'Alimentation du ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt.

# Réflexions autour de la surveillance épidémiologique des aliments

Corinne Danan (corinne.danan@agriculture.gouv.fr) (1), Didier Calavas (2)

(1) Direction générale de l'Alimentation, Sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments, Bureau d'appui à la surveillance de la chaîne alimentaire, Paris, France

(2) Anses, Laboratoire de Lyon, France

## Résumé

Les activités de surveillance des aliments, sous la responsabilité de nombreux acteurs, représentent une source précieuse de données sanitaires souvent sous-exploitées. Une optimisation des dispositifs de surveillance des aliments au niveau national est envisagée avec la mise en place d'une plateforme d'épidémiosurveillance, telle que prévue par la loi d'avenir pour l'agriculture. Dans le secteur de la sécurité sanitaire des aliments, cette perspective se construit progressivement par une concertation avec les différents partenaires. Cet article fait la synthèse des résultats des consultations organisées par la DGAL depuis fin 2015 et décrit les éléments fondamentaux d'une approche d'épidémiosurveillance sur lesquels pourront se fonder les travaux futurs.

## Mots-clés

Sécurité sanitaire des aliments, surveillance épidémiologique

## Abstract

### *Reflections on food chain surveillance*

*Food surveillance activities produce valuable health-related data under the responsibility of many stakeholders in the food chain but are often under-exploited. The optimisation of surveillance systems at national level is expected in the framework of the French law for agricultural modernisation, implementing an epidemiological surveillance platform. In the food safety sector, this project is being built step by step through consultations with the different stakeholders. This paper summarises the results of these consultations organised by the Directorate General for Food since the end of 2015; it describes the fundamental elements of an epidemiological surveillance approach on which future work can be based.*

## Keywords

*Food safety, Epidemiological surveillance*

La surveillance épidémiologique est essentielle à toute politique de santé publique car elle permet de fournir des informations et des analyses précises et fiables sur la situation et l'évolution des dangers sanitaires, qu'ils soient d'origine biologique ou chimique. Elle « n'agit » pas directement sur la diffusion d'un danger sanitaire, mais informe sur sa situation et son évolution.

La pertinence et la qualité d'un dispositif de surveillance sont donc des éléments influençant directement la pertinence des mesures prises par le gestionnaire de risque, la qualité de l'expertise menée à des fins d'évaluation du risque, et la qualité et la faisabilité des travaux de recherche à mener<sup>(1)</sup>. Il est également à noter que la surveillance épidémiologique recouvre les activités d'épidémiosurveillance et d'épidémiovigilance, respectivement consacrées aux dangers sanitaires présents sur le territoire, et aux dangers exotiques ou émergents (i.e. dangers non identifiés sur le territoire à un moment donné).

Dans le domaine de la santé, humaine et animale, la surveillance épidémiologique bénéficie d'une certaine antériorité par rapport à la surveillance épidémiologique en sécurité sanitaire des aliments. Il convient ainsi d'adapter les concepts, les définitions et les outils développés dans ce cadre, aux caractéristiques et aux spécificités de la sécurité sanitaire des aliments. De même, la Plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale (Plateforme ESA) mise en place en octobre 2011 constitue un exemple de réalisation à prendre en compte, mais certainement pas à transposer sans adaptation, dans la perspective de mise en place d'une telle plateforme en sécurité sanitaire des aliments.

La surveillance épidémiologique repose sur des activités multi-partenariales et pluridisciplinaires. Dans un secteur aussi vaste et diversifié que celui de la production agro-alimentaire, les acteurs sont nombreux et souvent centrés sur un type de production ou une étape de la chaîne alimentaire dont ils ont la responsabilité. Les réflexions en cours pour développer les actions de surveillance épidémiologique dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments doivent donc

optimiser les liens entre les acteurs de la chaîne alimentaire. Elles doivent également contribuer à ce que ces acteurs s'approprient des référentiels et des outils proposés par les épidémiologistes, afin de les aider à mettre en place des dispositifs efficaces et à interpréter leurs résultats.

Dans ce contexte, un préalable essentiel consiste à s'entendre sur un vocabulaire de référence, dans un secteur globalement peu familier avec ce type d'approche. Par ailleurs, l'épidémiosurveillance doit être distinguée de la gestion ou de l'évaluation des risques, même si les acteurs sont quelquefois les mêmes.

Les réflexions présentées dans cet article sont le fruit de l'expérience de la Plateforme ESA et de séances de cogitation collective organisées par la DGAL, depuis fin 2015, auprès de plusieurs représentants d'interprofessions de la chaîne agro-alimentaire, de scientifiques de l'Anses, de centres techniques agricoles et agro-industriels et de laboratoires d'analyse. Au cours de ces séances, l'usage des termes « surveillance épidémiologique » ou « épidémiosurveillance » n'est pas apparu naturel, dans la mesure où la surveillance s'exerce sur des catégories d'aliments que l'on ne peut pas associer à un « état de santé » au sens strict. De plus, la surveillance épidémiologique a été le plus souvent instinctivement associée à la surveillance des « épidémies ». Or, cette association ne correspond pas aux définitions utilisées par les épidémiologistes dans les domaines de la santé humaine ou animale plus familiarisés avec les approches d'épidémiosurveillance.

Les définitions dans les trois secteurs, santé animale, santé humaine ou sécurité sanitaire des aliments se rejoignent finalement, dans le sens où elles font référence à une population d'individus (aliments, animaux, végétaux ou humains), présentant un état sanitaire à surveiller et sur laquelle il est envisagé d'adopter des mesures de contrôle, de lutte, etc. (Encadré 1).

Dans la suite de ce document, on préférera utiliser l'expression « Surveillance sanitaire de la chaîne alimentaire » (SSCA) plutôt qu'« Epidémiosurveillance sanitaire des aliments » qui nous paraît plus adapté et évite l'utilisation du terme épidémiosurveillance, par trop connoté « santé ».

1. D'après un document de travail sur l'avenir de la Plateforme ESA (2016).

# Objectifs et modalités de la surveillance sanitaire de la chaîne alimentaire

## Objectifs

On distingue les objectifs des activités de surveillance, de ceux des activités de contrôle qui consistent en cas de détection d'une non-conformité ou de situations sanitaires préoccupantes, à mettre en œuvre des mesures afin de supprimer la source ou de réduire les risques d'exposition du consommateur vis-à-vis de la contamination détectée.

La SSCA peut avoir différents objectifs :

- estimer le niveau de contamination d'une « population » (i.e. une catégorie d'aliments à un stade de la chaîne alimentaire) et en analyser les tendances. Cet objectif peut contribuer à vérifier le niveau de maîtrise sanitaire aux étapes amont, à évaluer l'impact d'une mesure de gestion, ou à valoriser/communiquer des données représentatives d'une « population » vers tout utilisateur de cette information (évaluateur ou gestionnaire du risque),
- détecter précocement des contaminations inhabituelles, dans une démarche de prévention des risques, avant la manifestation de cas pathologiques chez l'Homme.

### Encadré 1. Définitions

**Dans le domaine de la santé animale**, l'épidémiologie est une méthode d'observation fondée sur des enregistrements en continu permettant de suivre l'état de santé ou les facteurs de risque d'une population définie, en particulier de déceler l'apparition de processus pathologiques et d'en étudier le développement dans le temps et l'espace en vue de l'adoption de mesures appropriées de lutte (Toma et al. 1991).

**Dans le domaine de la santé humaine**, la surveillance épidémiologique s'entend de la collecte, de la compilation et de l'analyse systématiques et continues de données à des fins de santé publique et la diffusion d'informations de santé publique en temps voulu à des fins d'évaluation et aux fins d'une action de santé publique, selon les besoins (Règlement sanitaire international<sup>(1)</sup>).

**Dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments**, « l'épidémiologie des aliments » doit s'entendre comme un ensemble d'activités visant : i) à collecter régulièrement des données sur le niveau d'un ou plusieurs contaminants (Encadré 2) dans une catégorie d'aliments à un stade de la chaîne alimentaire (la « population »), ii) à les interpréter, et iii) à communiquer les informations qui en découlent aux organismes et structures responsables de la sécurité sanitaire des aliments. Dans tous les cas, « l'épidémiologie des aliments » regroupe des activités qui s'inscrivent dans le temps et s'intéresse, *in fine*, à des problématiques de santé humaine sur lesquels on cherche à prendre des mesures d'évaluation des risques, de gestion des risques, ou d'autres mesures de prévention ou de surveillance.

1. <http://www.who.int/ihr/publications/9789241596664/fr/>.

### Encadré 2. Qu'entend-on par contaminant ?

Un contaminant se définit comme tout élément chimique, substance chimique ou agent biologique, qui n'est pas intentionnellement ajouté à la denrée alimentaire, mais qui peut cependant être présent dans celle-ci, issu de la fabrication (y compris les traitements appliqués aux cultures et au bétail), de la transformation, de la préparation, du traitement, du conditionnement, de l'emballage, du transport ou du stockage de ladite denrée, ou à la suite de la contamination par l'environnement. Les radionucléides sont considérés comme des contaminants physiques dans le contexte de la surveillance officielle. Les corps étrangers (tels que, par exemple, débris d'insectes, poils d'animaux) ne sont pas couverts par cette définition.

Par rapport au règlement (CEE) n°315/93, nous englobons dans la définition de contaminant les agents biologiques (virus, bactéries, parasites).

## Les acteurs de la surveillance sanitaire de la chaîne alimentaire

Les gestionnaires des dispositifs de SSCA peuvent être :

- les gestionnaires publics des risques (autorités de contrôle au niveau national : DGAL, DGCCRF, DGS) gérant les dispositifs de plans de surveillance et de contrôle officiels,
- les gestionnaires privés des risques (ensemble des opérateurs exerçant à tous les stades de la chaîne alimentaire) gérant leurs dispositifs d'autocontrôles à titre individuel ou collectif,
- les gestionnaires de dispositifs de surveillance thématiques intégrés le plus souvent dans des laboratoires nationaux de référence (par ex : Réseau *Salmonella* géré par l'Anses).

Au sein des dispositifs, on peut identifier de nombreux acteurs de dimension nationale ou locale (Encadré 3). La pérennité des actions de surveillance repose sur le maintien d'une animation des acteurs engagés et un retour d'information vers les producteurs et les utilisateurs des données (gestionnaires privés du risque, gestionnaires publics du risque, évaluateurs du risque et si besoin, consommateurs).

## Les couples « contaminant/produit » à surveiller

Le choix des contaminants à intégrer dans les activités de SSCA doit faire référence aux maladies et aux effets indésirables sur la santé chez l'Homme.

Le périmètre couvre l'ensemble des contaminants susceptibles de se retrouver dans les denrées alimentaires d'origine animale ou végétale (Encadré 2). Le stade de la surveillance peut être différent selon le contaminant, en fonction de son évolution au cours des étapes de la chaîne alimentaire (certains contaminants apparaissent ou disparaissent du fait des procédés de fabrication) et en fonction de l'objectif du dispositif de surveillance. Ce choix doit être fondé sur le risque, selon une approche intégrée, et correspondre au stade le plus approprié de la chaîne alimentaire pour mettre en place une action efficace. En raison du risque du transfert possible des contaminants des aliments pour animaux aux denrées alimentaires, la surveillance des aliments pour animaux doit être incluse dans le périmètre de la surveillance sanitaire de la chaîne alimentaire.

Contrairement aux domaines de la santé animale ou végétale, les dangers sanitaires d'origine alimentaire ne font pas encore l'objet d'une catégorisation officielle. Les réflexions menées dans le cadre du plan d'action du Comité interministériel pour la modernisation de l'action publique (Cimap) devraient conduire à cette catégorisation (cf. supra).

## Contexte réglementaire de la surveillance des aliments

### Principes de la législation européenne

#### Principes généraux

L'objectif de la législation européenne en matière de sécurité des aliments est de garantir un haut niveau de sécurité pour le consommateur. Aucun aliment ne doit être mis sur le marché s'il est considéré dangereux au sens du règlement CE N°178/2002. Afin d'atteindre cet objectif, la réglementation européenne a instauré des principes généraux reposant sur l'analyse des risques, la responsabilité première des exploitants, l'obligation de traçabilité et d'information des services de contrôles (Paquet hygiène). L'évaluation et la gestion des risques y sont clairement distinguées.

De plus, les États membres doivent mettre en œuvre des dispositifs de surveillance dont les résultats (agents responsables de zoonose et contaminants chimiques des denrées alimentaires) font l'objet d'une restitution annuelle vers l'Autorité européenne de sécurité des aliments (Efsa).

#### Place des autocontrôles

Les exploitants de la chaîne alimentaire sont soumis à une obligation de résultats et s'appuient sur une analyse des dangers et des points

### Encadré 3. Les acteurs de la surveillance de la chaîne alimentaire<sup>(1)</sup>

- L'autorité administrative (direction générale et services déconcentrés) prend toutes les mesures destinées à collecter, traiter et diffuser les données et informations d'ordre épidémiologique concernant les dangers sanitaires de première catégorie, ainsi que, dans la mesure où cela s'avère nécessaire, les dangers sanitaires de deuxième catégorie (art. L. 201-3 et -4 du code rural); ces mesures aujourd'hui ne concernent que les secteurs de la santé animale et de la santé des végétaux, pour lesquels les dangers sanitaires ont été catégorisés; la réflexion est en cours dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments dans le cadre du plan d'action du Comité interministériel de modernisation de l'action publique (Cimap).
- Les réseaux sanitaires: un réseau sanitaire est un regroupement d'acteurs reconnu par l'État, représentant 60 % de la population surveillée; l'autorité peut reconnaître ces réseaux sanitaires afin de favoriser la prévention des dangers sanitaires, la surveillance sanitaire des animaux et des végétaux et la mutualisation des coûts correspondants (art. L. 201-10 du code rural; ordonnance N°2015-1242 du 7 octobre 2015); une réflexion spécifique doit être menée dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments pour lequel aucun réseau sanitaire n'est reconnu actuellement.
- Les associations sanitaires régionales: une fédération des organismes à vocation sanitaire constituée sous la forme d'association régie par la loi 1901 peut être reconnue par l'État dans le domaine de la prévention, la surveillance et la maîtrise de l'ensemble des dangers sanitaires (art. L. 201-11 du code rural); une réflexion spécifique doit être menée dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments pour lequel aucune association sanitaire régionale n'est reconnue actuellement.
- Les laboratoires d'analyse agréés participent à la surveillance épidémiologique, à la détection précoce de foyers et de situations sanitaires à risques, par leur connaissance analytique et par leur implication dans le contexte épidémiologique local. Ils peuvent participer aux plateformes d'épidémiosurveillance mentionnées

(1) A ce jour, aucune association sanitaire régionale ni réseau sanitaire n'ont été reconnus dans les secteurs cibles, santé animale et santé des végétaux.

critiques pour leur maîtrise (HACCP) pour définir leurs autocontrôles. Ces autocontrôles leur permettent de valider l'efficacité des mesures de maîtrise de l'hygiène. Ces autocontrôles doivent être réalisés à tous les maillons de la chaîne agro-alimentaire (production, transformation, distribution) de l'alimentation animale à l'alimentation humaine, à l'exception de la production primaire. Pour les agents microbiologiques présents dans les aliments, le règlement (CE) N°2073/2005 établit une liste minimale de critères à intégrer dans le plan de maîtrise sanitaire (PMS) des exploitants. Cette liste n'est pas exhaustive et doit être adaptée à l'analyse des dangers de chaque entreprise. Pour les contaminants chimiques, le choix des contaminants à inclure dans le PMS repose uniquement sur l'analyse de danger menée par chaque entreprise.

Le Paquet hygiène donne ainsi une place prépondérante aux autocontrôles pour démontrer l'efficacité du dispositif mis en place par les exploitants du secteur alimentaire à maîtriser les contaminations. Ces autocontrôles représentent par conséquent une quantité massive de données sur les contaminants des aliments, réparties au sein des entreprises.

#### Les contrôles officiels

Les contrôles officiels contribuent à évaluer de façon globale les PMS mis en œuvre dans les entreprises et à vérifier le respect de la législation. Ils sont organisés selon une approche européenne harmonisée en matière de conception et de mise en œuvre (règlement (CE) N°882/2004). Cette vérification se fait en partie par la réalisation de campagnes annuelles de prélèvements d'aliments pour la recherche de contaminants, qu'il existe ou non des teneurs maximales réglementaires (système/dispositif des plans de surveillance et de contrôle, PSPC).

Le règlement (CE) N°854/2004 définit par ailleurs des règles spécifiques pour l'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine. Des contrôles officiels sont notamment organisés en routine à l'abattoir en vue de réduire le risque de transmission de zoonoses alimentaires (en particulier dépistage des cysticercoses bovines et de la trichinellose). Ces « contrôles » représentent *de facto* des dispositifs de surveillance programmée.

à l'article L. 201-14 du code rural. (décret N°2015-1902 du 30 décembre 2015). Les départements participent à la veille sanitaire par l'intermédiaire des laboratoires d'analyse départementaux (ordonnance N°2015-1242 du 7 octobre 2015).

- Les laboratoires nationaux de référence (LNR) participent aux missions d'épidémiosurveillance conduites par l'État principalement par leurs missions de confirmation des résultats d'analyse de première intention, de développement et déploiement de méthodes analytiques, d'animation de réseaux de laboratoires officiels.
- L'Anses apporte un appui scientifique et technique à ses tutelles en matière de surveillance et de référence. Elle assure par ailleurs des missions de veille, d'alerte, de surveillance et de vigilance; dans le cadre de ses missions de référence, l'Anses a la responsabilité d'être à l'origine d'alertes dans les domaines des médicaments vétérinaires, des substances phytopharmaceutiques, de la sécurité sanitaire des aliments (y compris l'eau d'alimentation), de la santé animale et végétale. L'Anses s'appuie sur des dispositifs de collecte de données, principalement issus de réseaux de laboratoires animés par des LNR, ce qui lui confère, par définition, des missions de surveillance.
- Les instituts techniques agro-industriels (ITAI) peuvent apporter un appui scientifique et technique aux opérateurs dans la mise en œuvre de leur plan de maîtrise sanitaire; ils exercent des missions d'intérêt général et sont reconnus par l'administration (art. D823-1 et 2 du code rural).
- Des réseaux mixtes technologiques (RMT) reconnus par l'État en application de l'article 91 de la loi d'orientation agricole N°2006-11 du 5 janvier 2006, ont pour objet la mise en commun de ressources humaines par les membres du réseau pour la réalisation de travaux collaboratifs sur des thématiques prioritaires pour le développement des secteurs agricoles et agroalimentaires. Certains RMT ont des activités portées sur la sécurité sanitaire des aliments (par ex. RMT Qualima, Quasaprove).

#### Réglementation nationale

L'État a le devoir d'organiser la sécurité sanitaire sur l'ensemble de son territoire. À ce titre, il doit mettre en œuvre des conditions de détection et de maîtrise des dangers sanitaires, en lien avec l'ensemble des acteurs.

Les dispositions générales relatives à l'épidémiosurveillance sanitaire dans les domaines de la santé des végétaux, des animaux et de la sécurité sanitaire des aliments ont été précisées par l'ordonnance N°2015-1242 du 7 octobre 2015, relative à l'organisation de la surveillance en matière de santé animale, de santé végétale et d'alimentation. Cette ordonnance prévoit notamment des « plateformes d'épidémiosurveillance » en vue d'apporter un appui aux gestionnaires des risques (publics et privés).

#### Définition et missions attendues de la Plateforme SSCA

##### Définition et objectifs

On peut définir une plateforme comme un espace de concertation multi-partenarial et pluridisciplinaire, ayant pour objectif d'optimiser les actions de surveillance contribuant à atteindre un haut niveau de sécurité sanitaire des aliments. Elle doit apporter d'une part un appui aux gestionnaires des risques pour « la conception, le déploiement, l'animation, la valorisation et l'évaluation des dispositifs de surveillance » (ordonnance N°2015-1242) et d'autre part une information validée aux évaluateurs des risques. Les concertations entre les partenaires permettront également d'identifier des actions de recherche en matière de surveillance.

Chaque gestionnaire reste néanmoins responsable de son dispositif. Une telle plateforme ne peut être mise en place que si les partenaires, privés et publics, de domaines différents, acceptent de partager des ressources, des compétences et des outils au bénéfice de l'ensemble.

##### Missions

Pour rappel dans le domaine de la santé animale, l'objectif général de la Plateforme ESA est « de faciliter la coordination, la déclinaison opérationnelle et le suivi des politiques de surveillance en santé

animale adoptées et mises en œuvre par ses membres. Elle doit en particulier s'assurer de l'adéquation entre les risques sanitaires présents ou qui menacent le territoire et les dispositifs mis en place pour les surveiller. »<sup>(2)</sup>. D'un point de vue opérationnel, elle assure également l'animation et la coordination des dispositifs de surveillance qui entrent dans son programme d'activité, et constitue un lieu d'expertise épidémiologique pour chacun de ces dispositifs.

Pour la mise en place de la Plateforme SSCA, il est indispensable de clarifier les limites de l'appui à la surveillance avec les missions :

- de surveillance proprement dite, dont le pilotage et l'organisation restent sous la responsabilité des gestionnaires des dispositifs de surveillance (cf. supra),
- d'évaluation des risques, mission relevant de l'Anses au niveau national,
- de gestion des risques et d'alertes sous la responsabilité des gestionnaires privés et publics des risques.

À noter qu'une plateforme n'a pas pour objectif premier d'accéder aux données, ni *a fortiori* d'en détenir, mais de renforcer les dispositifs permettant l'acquisition de données de bonne qualité.

Ainsi, les actions conduites dans le cadre d'une plateforme d'épidémiosurveillance apportent deux types d'appui : un appui scientifique et technique (que l'on peut qualifier « d'ingénierie de la surveillance ») et un appui stratégique :

---

2. Calavas *et al.* (2015). Bulletin Épidémiologique en santé animale et alimentation, N°48. <http://bulletinepidemiologique.mag.anses.fr/sites/default/files/BEP-mg-BE48-art1.pdf>.

- Appui scientifique et technique en amont de la collecte des données.
  - Méthodologies pour la mise en place de dispositifs de surveillance.
  - Protocoles de prélèvements (plan d'échantillonnage, identification des acteurs, des méthodes d'analyses, des outils de prélèvement...).
  - Recommandations pour la collecte de données, les systèmes d'information, l'animation d'un dispositif.
  - Charte d'utilisation des données.
- Appui scientifique et technique en aval de la collecte des données.
  - Méthodes d'analyse statistique et de représentation des résultats.
  - Expertise et interprétation pluridisciplinaire de la situation sanitaire.
- Appui stratégique pour la surveillance.
  - Evaluation de l'efficacité et de l'efficience des dispositifs (Oasis, RiskSur...).
  - Veille sur des dangers émergents (notamment en lien avec les évolutions technologiques ou de nouvelles pratiques des consommateurs).
  - Veille internationale (par ex : risque d'importation de matières premières ou de produits finis contaminés).
  - Identification de besoins en matière de travaux de recherche en méthodologie de surveillance.

La DGAL poursuit actuellement les discussions pour aboutir à une proposition d'organisation et de gouvernance de la Plateforme SSCA au niveau national. Sur la base des engagements des différents partenaires privés et publics, la Plateforme SSCA devrait démarrer ses travaux d'ici le premier trimestre 2017.

# Le système de surveillance des **contaminants dans la chaîne alimentaire** piloté par la DGAL : bilan de la campagne des plans de surveillance et de contrôle en 2014

Marion Bordier (marion.bordier@agriculture.gouv.fr)

Direction générale de l'Alimentation, Ministère de l'Agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt, Paris, France

## Résumé

La direction générale de l'Alimentation (DGAL) du ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt pilote un système de surveillance de la contamination des productions alimentaires. Le système fait intervenir et interagir de nombreux acteurs. Son objectif principal est de vérifier la conformité sanitaire des productions et de suivre les niveaux de contamination susceptible de se retrouver dans les denrées alimentaires.

En 2014, 25 plans de surveillance ou de contrôle ont été mis en œuvre, répartis dans toutes les filières et aux différentes étapes de la chaîne alimentaire. Un total de 58 179 prélèvements ont été effectués et environ 800 000 résultats d'analyses ont été produits. Comme les années précédentes, les niveaux de contamination des denrées et des aliments pour animaux, et les taux de non-conformités évalués au regard des seuils réglementaires, sont faibles. Les données sont exploitées d'une part par les autorités pour la mise en place des mesures de gestion immédiates du risque et d'autre part par la communauté scientifique pour la réalisation de travaux de recherche. Elles permettent par ailleurs aux autorités de communiquer sur leurs actions. Au vu des résultats de 2014, le système de surveillance mis en place a montré son efficacité, malgré les contraintes réglementaires et méthodologiques, grâce à une implication forte des différents acteurs et aux importants efforts humains et financiers consentis. Cependant, un certain nombre de points pourraient être améliorés pour optimiser le système, et ainsi améliorer la qualité et la valorisation des données produites.

## Mots-clés

Surveillance, chaîne alimentaire, contaminant, plan de surveillance, plan de contrôle

## Abstract

**The surveillance system for food-chain contaminants managed by the DGAL: report on the 2014 surveillance and control plan campaign**

*The Directorate General for Food (DGAL) of the French Ministry of Agriculture, Agri-food and Forestry manages a surveillance system for contaminants in food and feed. The system is complex and involves many stakeholders interacting with one another. Its main objectives are to verify if products are safe and to monitor trends in contamination over time.*

*In 2014, 25 surveillance programmes were implemented, across the different food sectors all along the food chain. No less than 58,179 samples were collected and approximately 800,000 analytical results were produced. As in previous years, contamination levels in food and feed were low. Data were processed on the one hand by the authorities to implement immediate risk-mitigation measures and to communicate about official actions, and on the other hand by the scientific community to conduct research work.*

*In 2014 again, the surveillance system in place has shown evidence of effectiveness, despite many regulatory and methodological constraints, thanks to the strong commitment of the different stakeholders and the significant allocation of human and financial resources. However, a number of points could be improved to optimise the system and thus improve data quality and processing.*

## Keywords

Surveillance, Food chain, Contaminant, Targeted surveillance, Random surveillance

Dans le cadre des contrôles officiels mis en œuvre par les autorités françaises pour s'assurer de la sécurité sanitaire des aliments, la direction générale de l'Alimentation (DGAL) du ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt (MAAF) pilote un système de surveillance de la contamination des productions primaires animale et végétale, des denrées alimentaires d'origine animale et des aliments pour animaux. Au sein de ce système, sont mis en œuvre différents dispositifs ciblant la recherche d'un contaminant ou d'une famille de contaminants spécifique dans une production donnée (couple contaminant/produit), à une étape précise de la chaîne alimentaire. Ces dispositifs sont appelés plan de surveillance (PS) ou plan de contrôle (PC), en fonction de l'objectif attendu et de la stratégie d'échantillonnage mise en œuvre. Dans le cas des PS, l'échantillonnage est aléatoire afin que le niveau de contamination calculé soit une estimation de celui de la production surveillée. Dans le cas des PC, l'échantillonnage est ciblé, et vise des produits pour lesquels la maîtrise sanitaire est jugée insuffisante ou défaillante (productions sur des zones potentiellement contaminées par des polluants organiques) ou des mésusages de substances pharmacologiquement actives sont suspectés.

Les contaminants recherchés présentent un effet néfaste suspecté ou avéré sur la santé, que ce soit à court ou à long terme, et peuvent être : i) des substances chimiques (résidus de médicaments vétérinaires, d'hormones, de produits phytopharmaceutiques, ii) des contaminants

chimiques environnementaux et industriels, iii) des contaminants physiques (radionucléides), iv) des agents pathogènes (bactéries, virus, parasites), ou v) des bactéries antibiorésistantes. Toutes les filières de production d'aliments sont concernées, et le stade de prélèvement choisi dépend du contaminant recherché, de l'objectif de la surveillance, des niveaux de maîtrise aux différentes étapes de la chaîne alimentaire et de l'existence d'autres systèmes ou dispositifs de surveillance.

## Objectifs du système de surveillance

Le système des plans de surveillance et des plans de contrôle (PSPC) participe à l'organisation générale de l'évaluation et de la maîtrise de la sécurité sanitaire des aliments. Il répond à plusieurs objectifs. Tout d'abord, il contribue à la vérification de la qualité sanitaire des denrées produites et permet d'exercer une pression de contrôle chez les exploitants des secteurs agricoles et agro-alimentaires (quand le contaminant recherché bénéficie d'un seuil réglementaire pour la matrice surveillée). Il permet par ailleurs de suivre les niveaux de contamination dans les productions nationales et importées, et d'identifier les tendances voire de détecter des émergences. En outre, certains contaminants recherchés étant des intrants utilisés en agriculture (médicaments vétérinaires, produits phytosanitaires), les PSPC permettent la mise en évidence de mésusages de substances (non-respect des temps d'attente pour les médicaments vétérinaires,

utilisation de produits phytopharmaceutiques non autorisés pour la culture traitée) voire de pratiques frauduleuses (utilisation de produits interdits). Le système contribue aussi au recueil de données pour estimer l'exposition du consommateur aux dangers alimentaires et pour proposer des mesures pour maîtriser les risques. Enfin, le système représente une garantie sanitaire, pour les produits importés des pays-tiers et surveillés au niveau des postes frontaliers européens, ainsi que pour les produits nationaux exportés vers des marchés étrangers.

Un certain nombre de couples contaminant/produit est surveillé pour répondre à des exigences réglementaires européennes précises. Ces PSPC participent ainsi à l'harmonisation du statut sanitaire des productions européennes vis-à-vis de certains dangers sanitaires.

## Fonctionnement du système

Le système de surveillance officielle des contaminants dans la chaîne alimentaire fait intervenir et interagir un certain nombre d'acteurs. L'organisation institutionnelle du système est présentée dans la Figure 1.

La DGAL est le gestionnaire du système. Elle a pour rôle d'élaborer les protocoles de surveillance et de piloter leur mise en œuvre. Tous les ans, sur la base des textes réglementaires, des appels à données européens, des travaux d'évaluation des risques et des capacités analytiques disponibles, elle définit une campagne de PSPC. Pour cela, elle sélectionne les couples contaminant/produit qui seront surveillés, élabore le plan d'échantillonnage et formule la définition du cas

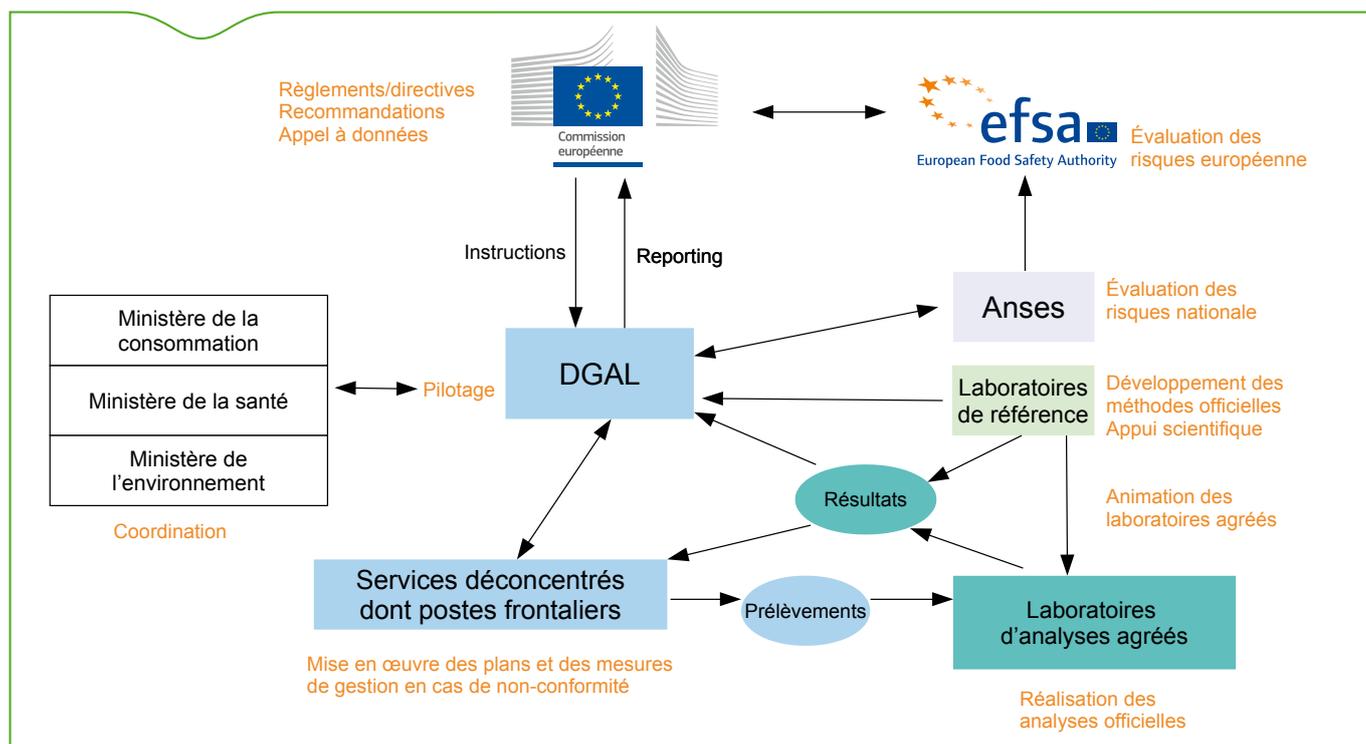


Figure 1. Organisation institutionnelle du système de surveillance officielle de la chaîne alimentaire

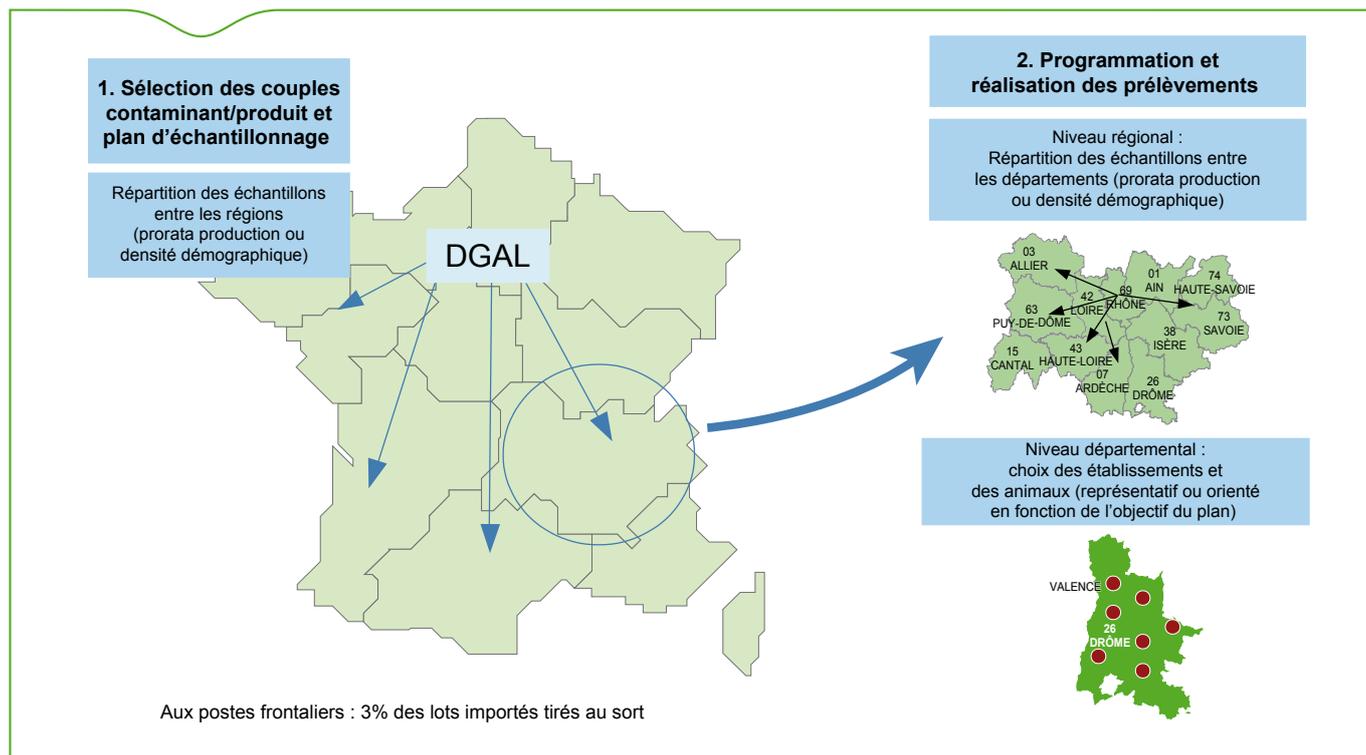


Figure 2. Organisation fonctionnelle du système de surveillance officielle de la chaîne alimentaire

(échantillons conformes, suspects et non-conformes). Cette étape se déroule en concertation avec les autres gestionnaires de systèmes ou dispositifs de surveillance et avec l'appui de l'Anses et des laboratoires nationaux de référence (LNR). Parallèlement, elle s'assure que les réseaux de laboratoires agréés, seuls destinataires des échantillons prélevés dans le cadre des PSPC, sont opérationnels pour recevoir et analyser les prélèvements selon les méthodes officielles (normes internationales ou nationales, méthodes développées et validées par les LNR). Une fois la programmation réalisée au niveau national, les prélèvements sont alloués aux régions, puis aux départements, au prorata de leur production si le plan se déroule en amont de la chaîne alimentaire, ou de la taille de la population si le plan se déroule au niveau de la distribution. Les services déconcentrés ont ensuite pour mission de sélectionner les sites et dates de prélèvement en fonction des spécificités de chaque plan, de réaliser les prélèvements et d'acheminer les échantillons jusqu'au laboratoire (laboratoire agréé ou LNR). Ils gèrent le suivi des résultats au fil de l'eau et en cas de résultats non-conformes, doivent mettre en œuvre des mesures de gestion appropriées pour réduire le risque d'exposition du consommateur et, au besoin, sanctionner les opérateurs. La Figure 2 illustre l'organisation fonctionnelle du dispositif.

## Résultats de la campagne PSPC 2014

En 2014, 25 plans ont été mis en œuvre, répartis sur toutes les filières et aux différentes étapes de la chaîne alimentaire, de la production à la mise sur le marché, dans le champ de compétences de la DGAL (Tableau 1). Un total de 58 179 prélèvements ont été effectués et environ 800 000 résultats d'analyses ont été produits. Le budget consacré par la DGAL à la réalisation de ces PSPC s'est élevé à environ 12 millions d'euros pour les seuls frais analytiques, de prélèvements et de logistique. Le nombre d'inspecteurs affectés à la réalisation des prélèvements et au suivi de la programmation fut à peu près équivalent à 110 ETPT (équivalent temps plein travaillé).

Dans le secteur des productions animales, la grande majorité des prélèvements a été réalisée en élevage et en abattoir (91 %), contre 4,5 % à la distribution et 2 % en transformation. Les filières ayant bénéficié de la pression de prélèvements la plus importante sont les filières « boucherie » et « volailles », avec respectivement 57,1 % et 21,9 % des prélèvements. La filière « produits de la pêche » arrive en troisième position avec 7,2 % des prélèvements. Les contaminants recherchés sont essentiellement les anabolisants, les substances interdites ou indésirables (38,8 % des prélèvements) tels que le chloramphénicol et les hormones, ainsi que les résidus de médicaments vétérinaires (28,4 % des prélèvements) tels que les antibiotiques ou les anti-inflammatoires. La recherche des contaminants environnementaux et industriels représente 12,5 % des prélèvements et celle des contaminants biologiques (dont toxines) représente approximativement 11,6 % des prélèvements.

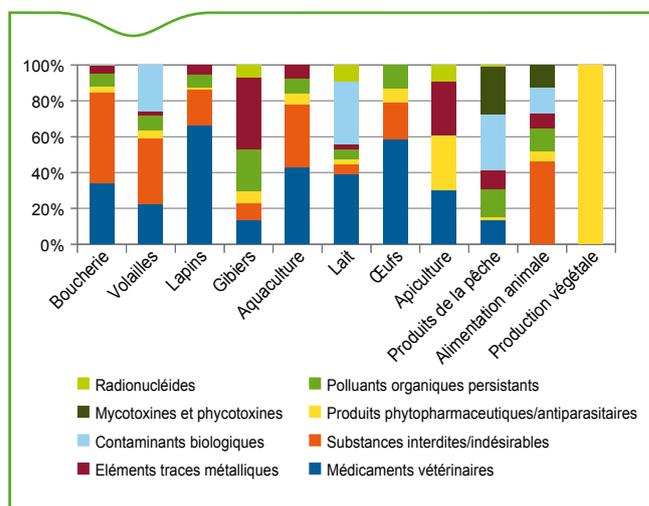
En production végétale, 1 525 prélèvements ont été réalisés pour rechercher les résidus de produits phytopharmaceutiques. Ils ont été effectués au stade de la production primaire, à la récolte, principalement sur des fruits et légumes, en appui ou non aux contrôles chez les utilisateurs de ces produits.

La Figure 3 présente la répartition des prélèvements par famille de contaminants et par filière.

Cette répartition s'explique par le fait que, dans le partage des missions entre les différentes administrations en charge de la sécurité sanitaire des aliments, la DGAL est compétente pour les productions primaires animales et végétales, et que les denrées issues des filières « boucherie », « volailles » et « produits de la pêche » sont les denrées les plus consommées. À ce stade de production et dans ces filières, les substances interdites, les résidus de médicaments vétérinaires, les contaminants environnementaux et les résidus de produits phytopharmaceutiques sont les dangers qui nécessitent la plus grande vigilance. En 2014, on note une augmentation des prélèvements pour la recherche des contaminants industriels et environnementaux, qui

**Tableau 1. Les plans de surveillance et de contrôle de la DGAL pour la campagne 2014**

<b>Surveillance de la contamination chimique et physique des productions animales</b>
Plans de contrôle des résidus chimiques (anabolisants, substances interdites, médicaments vétérinaires, pesticides, polychlorobiphényles (PCB), dioxines, éléments traces métalliques (ETM) dans les animaux de boucherie, volailles, lapins, gibiers, poissons d'élevage, lait, œufs, miel Plan de surveillance de la contamination des denrées animales issues d'animaux terrestres par certains retardateurs de flamme bromés (RFB) Plan de surveillance de la contamination des denrées alimentaires animales par les radionucléides Plan de surveillance de la résistance aux antibiotiques de certaines bactéries sentinelles et zoonotiques chez les volailles et les porcins
<b>Surveillance de la contamination biologique des productions animales terrestres</b>
Plan de surveillance de la contamination des viandes marinées de volaille et de porc par <i>Salmonella</i> spp. au stade de la production Plan de surveillance de la contamination des viandes fraîches de volaille par <i>Salmonella</i> spp. à l'abattoir Plan de surveillance de la contamination des fromages au lait cru par <i>Escherichia coli</i> producteurs de shigatoxines (STEC) au stade de la production
<b>Surveillance des produits de la mer et d'eau douce (hors aquaculture)</b>
Plan de surveillance des phycotoxines et des contaminants chimiques (ETM, Dioxines, PCB, Pesticides, hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), RFB) dans les mollusques bivalves Plan de surveillance des contaminants chimiques (ETM, Dioxines, PCB, Pesticides, HAP, RFB) du milieu aquatique dans les produits de la pêche Plan de surveillance des médicaments vétérinaires dans les produits de la pêche d'élevage mis sur le marché Plan exploratoire de la recherche de méthyl mercure dans les poissons mis sur le marché Plan de surveillance de l'histamine dans les produits de la pêche Plan de surveillance de la contamination en <i>Escherichia coli</i> dans les mollusques bivalves vivants
<b>Surveillance de l'alimentation animale</b>
Plan de surveillance et plan de contrôle des substances ou produits indésirables dans les matières premières et aliments composés destinés à l'alimentation animale
<b>Surveillance de la production primaire végétale</b>
Plan de contrôle des résidus de produits phytopharmaceutiques dans les productions primaires végétales Plan de surveillance des résidus de produits phytopharmaceutiques dans les productions primaires végétales
<b>Surveillance des produits importés en postes frontaliers</b>
Plan de surveillance des produits d'origine animale destinés à la consommation humaine ou animale en provenance des pays tiers Plan de surveillance de la contamination des aliments pour animaux d'origine non animales en provenance de pays tiers



**Tableau 2. Taux de non-conformité des PSPC de la campagne 2014**

Intitulé du plan : contaminant/produit	S	C	Contaminant ou famille de contaminants surveillés	Production surveillée	Taux de non-conformité (IC <sub>95</sub> )*
Résidus chimiques/animaux de boucherie		X	Anabolisants, substances interdites, médicaments vétérinaires, contaminants environnementaux	Bovins, ovins/caprins, porcins, équins	0,1 % (0,1-0,2)
Résidus chimiques/volailles		X		Poules de réforme/coqs, poulets de chair/coquelets, dindes, autres	0,0 % (0,0-0,1)
Résidus chimiques/lapins		X		Lapins de chair	0,0 % (0,-0,8)
Résidus chimiques/gibier		X		Petits gibiers à plumes, gros gibiers à poils	0,3 % (0,1-1,6)
Résidus chimiques/lait		X		Lait cru entier de vache, de brebis, de chèvre	0,1 % (0,0-0,4)
Résidus chimiques/œufs		X		Œufs de poule, œufs de caille	0,4 % (0,1-1,0)
Résidus chimiques/poissons d'élevage		X		Poissons de mer et d'eau douce (étang, bassin)r	0,2 % (0,0-1,1)
Résidus chimiques/miel		X		Miel de producteur	0,7 % (0,1-3,8)
Aliments pour animaux	X		Contaminants chimiques et microbiologiques (hors PAT)	Aliments pour animaux d'origine animale et végétale	0,1 % (0,0-0,5)
		X	PAT		0,3 % (0,1-1,0))
Histamine/produits de la pêche	X		Histamine (+ 3 amines biogènes)	Poissons histaminogènes	0,4 % (0,1-1,3)
Phycotoxines/mollusques bivalves	X		Toxines lipophiles, PSP et ASP	Moules, huîtres, coquilles Saint-Jacques	0,4 % (0,2-1,1)
<i>Escherichia coli</i> /mollusques bivalves vivants	X		<i>Escherichia coli</i>	Mollusques bivalves nationaux et importés	3,8 % (2,4-5,8)
Polluants organiques persistants/produits de la pêche (hors aquaculture)	X		Dioxines, PCB DL, PCB NDL, RFB, HAP	Poissons de mer et d'eau douce, crustacés, céphalopodes, mollusques	1,0 % (0,4-2,4)
Éléments traces métalliques/produits de la pêche (hors aquaculture)	X		Cadmium, Plomb, Mercure	Poissons de mer et d'eau douce, crustacés, céphalopodes, mollusques	1,8 % (0,9-3,5)
<i>Escherichia coli</i> STEC/fromages au lait cru	X		<i>E. coli</i> STEC	Fromage au lait cru de vache et de petits ruminants	0,2 % (0,1-0,7)
<i>Salmonella</i> spp/viandes marinées	X		<i>Salmonella</i> spp	Viandes marinées de volaille et de porc	3,9 % (1,8-8,2)
Résidus de produits phytopharmaceutiques/productions primaires végétales		X	Produits phytopharmaceutiques	Fruits et légumes	5,7 % (4,2-7,6)
Résidus de produits phytopharmaceutiques/productions primaires végétales	X		Produits phytopharmaceutiques	Céréales, légumes feuillus, céréales de stockage	2,8 % (1,9-4,2)
Produits d'origine animale présentés en poste d'inspection frontalier	X		Contaminants chimiques et biologiques	Produits d'origine animale (alimentation humaine et animale)	0,4 % (0,2-0,8)
Aliments pour animaux d'origine non animale, présentés en point d'entrée désigné	X		Contaminants chimiques et biologiques	Végétaux, minéraux, additifs, pré-mélanges	0,0 % (0,0-3,4)

S = plan de surveillance; C = plan de contrôle; IC<sub>95</sub> = intervalle de confiance à 95 %  
\* calculé avec le logiciel openepi (<http://www.openepi.com/Proportion/Proportion.htm>)

représentent un risque sanitaire chronique et une préoccupation majeure des consommateurs.

Comme les années précédentes, les niveaux de contamination et les taux de non-conformité des denrées et des aliments pour animaux, évalués au regard des seuils réglementaires, restent faibles. Le **Tableau 2** présente les taux de non-conformité des PSPC de la campagne 2014.

En production animale, les taux de non-conformité varient de 0,0 % à 3,8 %. La surveillance des viandes fraîches de volailles à l'abattoir a montré une prévalence en *Salmonella* de 14 %. La contamination reste donc très élevée, notamment dans la filière « dindes d'engraissement », avec cependant un effet abattoir très marqué (la majorité des souches ont été isolées dans un nombre restreint d'abattoirs). Les taux de non-conformité des PC sont généralement plus élevés que ceux des PS car ils ciblent des produits à risque. Leur valeur dépend donc à la fois du niveau de contamination et de la définition et du respect des critères de ciblage.

En production végétale, les taux de non-conformité sont de 2,8 % pour le PS et de 5,6 % pour le PC concernant les résidus de produits phytopharmaceutiques. Là encore, la différence peut s'expliquer par la différence de stratégie d'échantillonnage mise en œuvre, qui est ciblée

sur des productions à risque dans le cadre du PC. Les résultats de ce PC sont inférieurs à ceux de l'année 2013 (8,8 %), mais l'échantillonnage appliqué ne permet pas de comparer statistiquement les évolutions.

## Analyse du système de surveillance

En 2014, le système de surveillance mis en place a montré son efficacité, avec une gestion coordonnée d'environ 60 000 prélèvements, dans un cadre contraint par les obligations réglementaires et méthodologiques, grâce à des procédures harmonisées et partagées par les différents acteurs. Si l'objectif principal du dispositif est la surveillance des dangers sanitaires d'origine alimentaire pour l'Homme, il a également servi de cadre organisationnel et fonctionnel pour le déploiement de plans qui sont hors de ce périmètre (recherche de contaminants dans les aliments pour animaux de compagnie, plan exploratoire pour la recherche de méthyl-mercure dans les poissons), afin d'optimiser les ressources.

Les budgets alloués ainsi que le très bon taux de réalisation des prélèvements montrent l'importance que revêt cette mission pour la DGAL et ses services déconcentrés. Il existe une implication forte des agents en administration centrale pour élaborer des protocoles de

surveillance pertinents et valorisables, et des agents dans les services déconcentrés pour respecter au mieux la programmation. Les données ont été exploitées à différents niveaux. Elles ont été utilisées par les autorités pour mettre en place des mesures de gestion immédiates en cas de résultats non conformes, pour communiquer sur leurs actions auprès des professionnels et des consommateurs<sup>(1)</sup> et pour valoriser les productions nationales auprès des partenaires commerciaux. Elles ont servi à alimenter les bases de données de contamination, qui sont exploitées par la communauté scientifique pour la réalisation de travaux de recherche, et notamment par les évaluateurs de risque pour les études d'exposition des consommateurs.

Cependant, un certain nombre de points pourraient être améliorés pour optimiser le système.

Ainsi, actuellement, le choix des couples contaminant/produit surveillés se fait sur la base d'une priorisation sectorielle, par filière ou par famille de contaminants. S'il existe un certain nombre d'actions collaboratives avec les autres gestionnaires, publics ou privés, de dispositifs de surveillance, il n'existe pas de priorisation globale et coordonnée permettant d'affiner le périmètre de surveillance assuré par le système des PSPC et de s'assurer d'une couverture optimale de la chaîne alimentaire en matière de surveillance.

En outre, l'élaboration et la mise en œuvre des plans sont encadrées par des dispositions réglementaires, plus ou moins contraignantes en fonction des dispositifs et pouvant manquer d'harmonisation d'une filière et d'une famille de contaminant à l'autre. Ceci complexifie l'animation du système et la mise en œuvre des protocoles de surveillance (difficulté d'accès à certaines matrices, de respect de la stratégie d'échantillonnage, etc.) et ne répondent pas toujours aux préoccupations nationales (obligation de surveillance de certains couples contaminant/produit à caractère non prioritaire en France). Certains protocoles de surveillance manquent d'assise scientifique dans la définition du plan d'échantillonnage (taille d'échantillon, méthode d'échantillonnage, etc.), ce qui peut être à l'origine de biais dans l'interprétation des résultats; les contraintes de mise en œuvre sont parfois mal anticipées, ce qui entraîne des difficultés de mise en œuvre sur le terrain et, par conséquent, des manquements quant au respect des prescriptions d'échantillonnage et de recueil de données. Le retour d'information, en cours et fin de campagne, vers les différents acteurs du système (notamment les services déconcentrés et laboratoires agréés), n'est pas spécifique à chaque groupe d'acteurs, et ne favorise pas leur pleine adhésion aux procédures du système. Enfin, la qualité des données relatives aux échantillons ou aux résultats analytiques doit encore être améliorée, afin d'en optimiser l'exploitation et la valorisation, par la DGAL pour mettre en œuvre des mesures de gestion appropriées et animer le système, et d'autre part, par la communauté scientifique, aux niveaux national et européen, pour les études de contamination et d'exposition.

## Amélioration attendue du dispositif

Malgré la bonne performance « quantitative » du système des PSPC, le bilan de la campagne 2014 permet de dégager des axes d'amélioration pour optimiser le rôle des PSPC dans le dispositif général de sécurisation sanitaire des aliments, notamment en matière de qualité des données. Différentes actions, à toutes les étapes du système de surveillance, pourraient contribuer à cette amélioration de la donnée produite: i) priorisation plus robuste des couples contaminant/produit à surveiller et amélioration de la qualité des protocoles de surveillance d'un point de vue épidémiologique et opérationnel, ii) meilleure animation du système pour augmenter l'adhésion des acteurs de terrain et améliorer ainsi le respect des prescriptions en matière de programmation, de stratégie d'échantillonnage et de recueil des données, iii) mise à disposition des services et des LNR d'un outil permettant d'analyser la qualité des données saisies (indicateurs automatisés) et d'animer

les réseaux qu'ils pilotent. De plus, le système mériterait de bénéficier d'évaluations régulières et robustes, afin d'en évaluer sa performance et son rapport coût-efficacité.

Certains points d'amélioration ont d'ores et déjà été traduits en actions concrètes. Dans le cadre du plan d'action qui a fait suite au rapport de la mission d'évaluation de la politique de la sécurité sanitaire des aliments en France, conduite à la demande du Cimap (comité interministériel pour la modernisation de l'action publique), l'Anses a été saisie sur deux thématiques: l'optimisation de la surveillance officielle des contaminants chimiques dans les denrées et la hiérarchisation des dangers microbiologiques et chimiques permettant d'orienter les contrôles officiels. Dans le cadre de la mise en place de la Plateforme de la surveillance sanitaire de la chaîne alimentaire<sup>(2)</sup>, un projet est en cours pour améliorer la qualité des données produites par les PSPC, fondé sur l'animation du système de surveillance et le suivi d'indicateurs automatisés.

1. Les bilans annuels des campagnes de surveillance sont disponibles sur le site internet du ministère à l'adresse: <http://agriculture.gouv.fr/plans-de-surveillance-et-de-contrôle>.

2. Dans le cadre de l'ordonnance 2015-1242 du 7 octobre 2015 relative à l'organisation de la surveillance en matière de santé animale, de santé végétale et d'alimentation, prise en application de la loi pour l'avenir de l'agriculture, de l'alimentation et de la forêt (LAAAF).

# Brève. Guide d'aide à la définition des besoins en matière de surveillance épidémiologique dans le secteur de la sécurité sanitaire des aliments

## Short item. Guide to the definition of epidemiological surveillance requirements in the food safety sector

Corinne Danan (1) (corinne.danan@agriculture.gouv.fr), Isabelle Berta-Vanrullen (2), Anne Bronner (3), Didier Calavas (4), Pascal Hendriks (5)

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

(2) Anses, Direction des laboratoires, Unité de coordination et d'appui à la surveillance, Maisons-Alfort, France

(3) Direction générale de l'Alimentation, Service des actions sanitaires en production primaire, Paris, France

(4) Anses, Laboratoire de Lyon, Unité Épidémiologie, Lyon, France

(5) Anses, Direction des laboratoires, Unité de coordination et d'appui à la surveillance, Lyon, France

Cette brève est complémentaire de l'article de cadrage de Danan et Calavas (Réflexions autour de la surveillance épidémiologique des aliments) publié dans ce même numéro. Il précise le périmètre de la surveillance à l'égard des activités de gestion et d'évaluation des risques dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments, et doit aider chaque acteur du dispositif de surveillance à se positionner précisément dans le processus.

### Objectifs généraux de la surveillance sanitaire de la chaîne alimentaire

La surveillance épidémiologique est un ensemble d'activités qui fournissent des informations fiables et validées sur la situation et l'évolution d'une contamination à un stade de la chaîne alimentaire. Ces informations sont destinées à aider le gestionnaire ou l'évaluateur du risque à dimensionner ses actions.

Les activités couvrent la collecte régulière de données, leur analyse et leur interprétation, l'animation des dispositifs de surveillance composés de différents acteurs (cf. infra), la transmission d'une information aux instances en charge de mettre en œuvre des actions de prévention et de contrôle. La collecte peut être organisée à des fréquences régulières selon une méthodologie permettant la comparaison des données. L'interprétation des données conduit à évaluer le niveau de la contamination, y compris la détection d'urgences, à formuler des hypothèses sur les facteurs de risque de contamination et/ou à évaluer l'impact de mesures de contrôle ou de prévention mises en œuvre.

Selon les attentes, les dispositifs de surveillance suivront des protocoles spécifiques (choix de la matrice, nature du prélèvement, plan d'échantillonnage, fréquence des prélèvements, méthode analytique, système d'information, etc.).

Pour assurer le bon fonctionnement de l'ensemble du processus, il est recommandé que les acteurs impliqués dans les activités de surveillance soient sensibilisés à la finalité des missions des gestionnaires et des évaluateurs du risque. Le tableau ci-contre illustre la complémentarité de ces différents secteurs d'activités.

Objectif de surveillance	Actions de gestion (G) ou d'évaluation (E) des risques pouvant être mises en place sur la base des résultats de la surveillance
Définir le niveau de présence du contaminant ou de l'agent pathogène X dans la matrice Y (la définition de la matrice est liée au stade de la chaîne alimentaire) et son évolution dans le temps. Cet objectif s'applique aux contaminants et agents pathogènes connus et détectés en situation normale de production, le plus souvent à des niveaux bas de contamination. NB : cet objectif est en particulier associé à un processus de d'évaluation de l'impact d'une (des) mesure de(s) de maîtrise et de vérification de leur efficacité	G : Adapter si besoin les mesures de contrôle existantes G : Mettre en place de nouvelles mesures de contrôle en identifiant le stade de la chaîne alimentaire le plus pertinent, y compris des recommandations auprès du consommateur ou des mesures préventives G : Définir ou réviser un critère réglementaire (nombre d'unités d'un échantillon (n), tolérance (c), limite de détection, stade et nature du prélèvement, méthode) G : Dimensionner un plan d'échantillonnage (modalités, fréquence de prélèvements) adapté à l'objectif de la surveillance
Détecter l'émergence d'un contaminant ou d'un agent pathogène rare ou exotique	E : Evaluer les risques sanitaires associés, dans un contexte nouveau G : Définir des mesures de contrôle, de prévention ou de communication <i>ad hoc</i>
Caractériser la contamination	E : Apprécier les flux de circulation des contaminants et ainsi mieux connaître les sources attribuables pour les cas humains G : Identifier les sources de contamination le plus rapidement possible pour intervenir et réduire l'exposition du consommateur

### Processus de la surveillance sanitaire de la chaîne alimentaire

ACTEURS DE LA SURVEILLANCE*	Opérateurs	Inspecteurs DDecPP <sup>1</sup> , Vétérinaires, Techniciens, Opérateurs	Laboratoires d'analyse privés ou publics	DDecPP, DRAAF <sup>2</sup> , Vétérinaires, Inter-professions locales	LNR <sup>3</sup> , CNR <sup>4</sup>	DGAL, DGCCRF, Anses, Inter-professions	LNR, Actia <sup>5</sup> , Acta <sup>6</sup> , Vétérinaires, Inter-professions	Responsables des dispositifs de surveillance
MISSIONS	Fourniture des données	Réalisation des prélèvements	Analyses de 1 <sup>re</sup> intention	Animation locale	Analyses de référence	Animation Coordination nationale	Appui technique	Pilotage
ACTIONS	Collecter, notifier (auto-contrôles)	Prélever	Détecter	Animer localement	Confirmer	Programmer	Élaborer des protocoles	Recommander
			Quantifier	Réaliser des actions de prévention	Caractériser la contamination	Harmoniser	Développer des méthodes analytiques	Orienter
			Valider	Animer les réseaux de laboratoires	Animer	Analyser les données	Hiérarchiser	
			Transmettre	Participer à l'amélioration de la qualité des données	Sensibiliser		Valider	
			Contrôler		Former		Communiquer vers tout organisme associé à la problématique sanitaire, notamment ceux en charge des actions de contrôle et de prévention	
					Interpréter			
		Communiquer						
		Contrôler la qualité des données						

\* Ce tableau recense exclusivement les actions et les étapes relatives à la surveillance épidémiologique (certains acteurs sont à la fois acteurs de la surveillance et gestionnaires ou évaluateurs du risque).

1. Direction départementale en charge de la protection des populations

2. Direction régionale de l'Alimentation, de l'Agriculture, et de la Forêt

3. Laboratoire national de référence

4. Centre national de référence

5. Association de coordination technique pour l'industrie agroalimentaire

6. Association de coordination technique agricole

# Surveillance des **polluants organiques persistants** dans les denrées alimentaires d'origine animale en 2014

Jean-Cédric Reninger (1) (jean-cedric.reninger@anses.fr), Sandra Favret (1), Laurent Noël (2)

(1) Anses, Direction de l'évaluation des risques, Unité Observatoire des aliments, Maisons-Alfort, France

(2) Direction générale de l'Alimentation, Bureau de la coordination en matière de contaminants chimiques et physiques, Paris, France

## Résumé

En France, les denrées alimentaires sont régulièrement contrôlées dans le but de suivre les niveaux de contamination dans les productions nationales et importées. Cette surveillance permet de suivre des tendances et de s'assurer du respect des teneurs maximales imposées par la réglementation. Cet article s'intéresse au dispositif de surveillance, piloté par la direction générale de l'Alimentation en 2014, relatif aux polluants organiques persistants (POP) : dioxines et polychlorobiphényles (PCB), retardateurs de flammes bromés (RFB) et hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les denrées animales. Une mise en perspective par rapport aux résultats obtenus en 2013 est également proposée.

En 2014, plusieurs plans ont été mis en œuvre pour le suivi des teneurs en POP dans les denrées animales (principalement fixées par le règlement CE n°1881/2006), soit 4932 prélèvements dont une grande majorité concernant les PCB dioxin-like (DL) et dioxines (1954 prélèvements), ainsi que les PCB non-dioxin like (NDL) (2666 prélèvements). Ce nombre de prélèvements est supérieur à celui de 2013 (2697 prélèvements) mais pour ces deux années le constat est identique : les niveaux observés de contamination restent faibles et les non-conformités sont peu fréquentes (moins de 1 %). Ces non-conformités concernent exclusivement des dioxines et PCB (DL ou NDL) dans la chair de poissons. On peut également observer des niveaux de contamination supérieurs aux seuils d'alerte fixés au niveau national pour ces mêmes composés dans la viande de gibier. Toutefois, certaines des conclusions devront être précisées à la faveur des prélèvements qui seront effectués à l'avenir, du fait des faibles nombres de prélèvements et/ou des changements dans les matrices prélevées (denrées de natures, de lieux d'origine, etc., différents d'une année à l'autre).

## Mots-clés

Polluants organiques persistants, plans de surveillance, plans de contrôle, polychlorobiphényles, dioxines, hydrocarbures aromatiques polycycliques, retardateurs de flamme bromés

## Abstract

### **Surveillance of persistent organic pollutants in foodstuffs of animal origin in 2014**

*In France, foodstuffs are regularly monitored in order to track contamination levels in French and imported products. This monitoring makes it possible to study trends and ensures that the maximum limits defined in the regulations are not exceeded. This article deals with the surveillance system managed by the Directorate General for Food (DGAL) in 2014 concerning persistent organic pollutants (POPs) (dioxins and PCBs, brominated flame retardants (BFRs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)) in foodstuffs of animal origin. A comparison with data from 2013 is also proposed.*

*In 2014, various programmes were implemented to monitor levels of POPs in animal foodstuffs (mainly set by Commission Regulation (EC) No 1881/2006), for a total of 4,932 samples taken, the vast majority of which involved DL-PCBs (1,954 samples) and NDL-PCBs (2,666 samples). This number of samples was higher than in 2013 (2,697 samples), but for these two years, conclusions were similar: observed contamination levels were low and the maximum limits were seldom exceeded (at a rate of less than 1%). Exceeded limits involved only dioxins and PCBs (DL and NDL) in fish meat. The alert thresholds (defined at national level) were also exceeded for the same compounds in game meat.*

*However, the conclusion should be confirmed in light of future sampling, due to small sample numbers and/or changes in the sampled matrices (foodstuffs of different natures, with different places of origin, etc. from one year to another).*

## Keywords

*Persistent organic pollutants, Surveillance programmes, Monitoring programmes, Polychlorinated biphenyls, Dioxins, Polycyclic aromatic hydrocarbons, Brominated flame retardants*

Les administrations (la direction générale de l'Alimentation, DGAL, la direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes, DGCCRF, et la direction générale de la santé, DGS) mettent en œuvre chaque année des plans de surveillance et des plans de contrôle (PSPC) afin de suivre les niveaux des contaminants chimiques dans les aliments.

Ces PSPC portent sur des substances très variées (contaminants inorganiques, organiques, médicaments vétérinaires, résidus de pesticides, mycotoxines...) et concernent l'ensemble des aliments disponibles sur le marché français<sup>(1)</sup>.

Ce bilan s'intéresse plus particulièrement aux PSPC 2014 effectués par la DGAL qui visent à suivre les niveaux de contamination des polluants organiques persistants (POP) dans les matrices d'origine animale. Ces composés que l'on retrouve dans l'environnement et qui résultent majoritairement de l'activité humaine (industrielle et domestique) sont persistants, bio-accumulables et mobiles. La communauté scientifique

a défini, pour les composés présentant des effets toxiques avérés pour l'Homme, des valeurs de référence toxicologique.

## Polluants organiques persistants faisant l'objet de surveillance

Les POP étudiés dans ce bilan sont les suivants :

- les retardateurs de flamme bromés (RFB),
- les dioxines et furanes (PCDD/PCDF),
- les polychlorobiphényles (PCB), parmi lesquels on distingue les PCB dioxin-like (PCB-DL) qui ont une action toxique selon le même mécanisme que les PCDD et les PCDF, et les PCB non dioxin-like (ou PCB-NDL) qui ont une action toxique différente des dioxines,
- les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).

### **Retardateurs de flamme bromés**

Les RFB sont des substances chimiques incorporées dans une grande variété de produits et de matériaux (plastiques, textiles, équipements électroniques...) pour diminuer leur inflammabilité. Les plus

1. Voir l'article de Marion Bordier, Le système de surveillance des contaminants dans la chaîne alimentaire piloté par la DGAL : bilan de la campagne des plans de surveillance et de contrôle en 2014, dans ce même numéro.»

couramment utilisés sont les polybromodiphényléthers (PBDE), les hexabromocyclododécane (HBCD), le tétrabromobisphénol A (TBBPA) et les polybromobiphényles (PBB). En raison de la mise en évidence de propriétés toxiques de certains de ces RFB, l'utilisation de plusieurs de ces molécules est interdite depuis plusieurs années. C'est notamment le cas pour les PBB ainsi que la quasi-totalité des PBDE à l'exception du décabromodiphényléther (PBD-209) qui est toujours autorisé. Du fait de leur caractère persistant, ces RFB sont toujours présents dans

### Encadré. Surveillance des polluants organiques persistants dans les denrées alimentaires d'origine animale réalisée par la DGAL en 2014

#### Objectifs

Suivi des niveaux de contamination par les dioxines, les polychlorobiphényles (PCB) dioxin-like (PCB-DL) et non dioxin-like (PCB-NDL), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les retardateurs de flamme bromés (RFB) dans les denrées alimentaires d'origine animale.

#### Cadre de la programmation

Directive 96/23/CE du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits.

Décision 97/747/CE fixant les niveaux et fréquences de prélèvement d'échantillons prévus par la directive 96/23/CE du Conseil en vue de la recherche de certaines substances et de leurs résidus dans certains produits animaux

Décision 98/179/CE fixant les modalités de prise d'échantillons officiels pour la recherche de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits.

Règlement (CE) N° 1881/2006 de la Commission du 19 décembre 2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires.

Règlement (CE) N° 589/2014 de la Commission du 2 juin 2014 portant fixation des méthodes de prélèvement et d'analyse d'échantillons à utiliser pour le contrôle des teneurs en dioxines, en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine de certaines denrées alimentaires.

Règlement (CE) N° 333/2007 de la Commission du 28 mars 2007 portant fixation des modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en plomb, en cadmium, en mercure, en étain inorganique, en 3-MCPD et en benzo(a)pyrène dans les denrées alimentaires.

Les modalités de prélèvements pour la recherche de RFB ne sont pas définies réglementairement mais ont été définies au niveau national avec le laboratoire national de référence en charge de ces substances.

#### Protocole

L'évaluation des niveaux de contamination des POP dans les denrées d'origine animale a été réalisée à l'aide de plusieurs plans :

- des plans de contrôle des résidus chimiques (incluant les dioxines et PCB) dans les animaux de boucherie, les volailles, les lapins, les gibiers, les poissons d'élevage, le lait et les œufs,
- un plan de surveillance de certains RFB dans les denrées animales issues d'animaux terrestres,
- un plan de surveillance des dioxines, PCB, HAP et RFB dans les mollusques bivalves,
- un plan de surveillance des contaminations chimiques (incluant les dioxines, PCB, HAP et RFB) dans les produits de la pêche.

Productions concernées : animaux de boucherie (bovins, ovins, caprins, équins), volailles, lapins, gibiers, poissons d'élevage, œufs, lait et produits de la pêche (poissons, crustacés, céphalopodes et mollusques bivalves).

Stade de la chaîne alimentaire : production primaire ou de première transformation. Ensemble des circuits de distribution pour les produits de la pêche (GMS, poissonnerie, marché ambulants...).

Méthodes analytiques : méthodes officielles par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution ou par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem.

Échantillon non-conforme : un échantillon est déclaré non conforme lorsque la teneur d'un contaminant quantifié dans cet échantillon, dépasse le seuil réglementaire compte tenu de l'incertitude de mesure élargie ( $k = 2$ ) associée au résultat d'analyse.

l'environnement, même s'ils ne sont désormais plus utilisés. C'est pourquoi, dans le cadre des plans mis en œuvre en 2014, huit PBDE (-28, -47, -99, -100, -153, -154, -183, -209) ainsi que trois PBB (-52, -101, -153) ont été recherchés dans chaque échantillon, en plus des trois formes du HBCD (alpha, beta, gamma) et du TBBPA.

#### Dioxines et furanes

Les dioxines (polychloro-dibenzo-para-dioxines (PCDD)) et les furanes (polychloro-dibenzo-furanes (PCDF)) regroupent respectivement 75 et 135 molécules différentes. Parmi ces nombreux congénères, seuls les congénères considérés comme les plus toxiques (7 PCDD et 10 PCDF) sont réglementés.

#### Polychlorobiphényles

En plus des dioxines, douze congénères de la famille des polychlorobiphényles (PCB) se caractérisent par des propriétés toxiques similaires aux dioxines (les PCB-DL) et sont également recherchés lors des analyses.

#### Hydrocarbures aromatiques polycycliques

Les HAP constituent une famille de plus d'une centaine de molécules organiques comportant au moins deux cycles aromatiques. Initialement basée sur la seule teneur en benzo(a)pyrène, une actualisation de la réglementation européenne (règlement CE n°1881/2006) a également fixé des teneurs maximales, à partir de 2012, pour la somme de quatre HAP : le benzo(a)pyrène, le benzo(a)anthracène, le benzo(b)fluoranthène et le chrysène.

#### Plans de surveillance et de contrôle mis en œuvre en 2014

Le transfert de ces différentes familles de POP de l'environnement (sol, sédiment, matières en suspension), vers les organismes vivants conduit à leur accumulation dans les matières grasses animales. Cette lipophilie est à l'origine de leur accumulation dans les denrées d'origine animale. Les PSPC mis en œuvre en 2014 par la DGAL ont concerné les denrées suivantes :

- pour les animaux terrestres : viandes, abats, graisses, laits et œufs,
- pour les produits de la mer et d'eau douce : chair de poissons, de crustacés, de céphalopodes et de mollusques bivalves.

Les prélèvements sont issus d'animaux d'élevage (animaux de boucherie, poissons d'aquaculture...) et sauvages (gibier, produits de la pêche...).

Les données recueillies en 2014 sont également comparées aux données équivalentes de l'année précédente afin de mettre en lumière d'éventuels écarts entre les niveaux de contamination de ces deux années.

## Matériels et méthodes

#### Prélèvements et analyses

Les prélèvements effectués dans le cadre d'un plan de surveillance sont aléatoires, c'est-à-dire sans critère de ciblage défini, alors que ceux des plans de contrôle sont ciblés sur les denrées issues d'exploitations dans des zones susceptibles d'être contaminées (selon les bases de données IREP<sup>(2)</sup>, BASOL<sup>(3)</sup>...). Toutefois, il arrive qu'aucun ciblage ne puisse être réalisé au moment du prélèvement. Les niveaux de contamination observés portent donc à la fois sur des échantillons prélevés aléatoirement et sur des échantillons ciblés, y compris dans certains cas au sein d'un même plan.

La mise en œuvre du dispositif fait intervenir différents acteurs. La DGAL fixe un nombre de prélèvements à réaliser par région, en fonction généralement des niveaux de production. Chaque région répartit ensuite ce nombre entre ses différents départements qui assurent

2. IREP : répertoire du registre français des émissions.

3. BASOL : base de données sur les sites et sols pollués.

par l'intermédiaire des services déconcentrés la mise en œuvre des prélèvements. Cette répartition départementale peut se faire selon différents critères (volumes de productions, nombre d'élevages...) ou par répartition simple (division du nombre de prélèvement entre les différents départements).

Les analyses sont réalisées par les laboratoires agréés<sup>(4)</sup> par le ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt pour la réalisation d'analyses ainsi que par le Laborca, laboratoire national de référence (LNR) pour certains plans spécifiques.

### Gestion des données censurées

Les résultats présentés dans ce bilan se basent sur l'hypothèse haute (ou UpperBound) définie par l'OMS (WHO, 1995). Cette hypothèse engendre un traitement des données censurées<sup>(5)</sup> comme suit : lorsque la teneur d'une substance est inférieure à la limite de détection (LOD), cette teneur est assimilée comme égale à cette LOD. De même, lorsque la teneur d'une substance est inférieure à la limite de quantification (LOQ), cette teneur est assimilée comme égale à cette LOQ. Les valeurs quantifiées, quant à elles, sont conservées telles quelles.

### Calcul des sommes en équivalent toxique (TEQ) pour les dioxines, furanes et PCB

La concentration globale d'un échantillon en dioxines et PCB-DL est caractérisée par la somme du mélange des différents congénères. Les dioxines et PCB-DL ayant chacun un degré de toxicité spécifique, des facteurs d'équivalence toxique (TEF) ont été définis par rapport au congénère le plus toxique : le 2,3,7,8-TCDD dite dioxine de Seveso (Martin van den Berg *et al.*, 2006). Ce coefficient de pondération indique le degré de toxicité par rapport à cette molécule de référence, auquel une valeur de 1 a été donnée. Le produit « TEF x concentration du congénère » permet de calculer pour chaque molécule un équivalent toxique (TEQ). Les équivalents toxiques de tous les constituants du mélange d'un échantillon sont ensuite additionnés et définissent, en TEQ, la toxicité relative du mélange de cet échantillon.

### Conformité réglementaire

À des fins de contrôle, les résultats des analyses effectuées dans le cadre des plans présentés, sont comparés aux limites maximales (LM) fixées dans les réglementations ou aux seuils décisionnaires nationaux qui s'appliquent à certains couples analyte/matrice pour lesquels des

LM ne sont pas définies. Dans ce second cas de figure, nous parlerons alors de seuil d'alerte car ils n'ont pas de valeur réglementaire.

Les limites réglementaires pour les dioxines, PCB et HAP dans les denrées animales sont définies dans le règlement (CE) N° 1881/2006. Réglementairement, les teneurs en PCB et dioxines ne sont pas définies pour les gibiers. Dans ce cas, la DGAL a défini des seuils d'alerte au niveau national en prenant comme référence les LM des animaux de boucherie ou des volailles les plus proches des gibiers en question. Ainsi, un seuil d'alerte égal à la LM des porcins a, par exemple, été utilisé pour les sangliers et un seuil d'alerte égal à la LM des volailles fut retenu pour les gibiers à plumes.

Il n'existe aucune limite réglementaire pour les RFB. En revanche, il existe une recommandation de surveillance européenne (recommandation 2014/118/UE du 3 mars 2014, sur la surveillance des traces de RFB dans les denrées alimentaires). Celle-ci recommande aux États membres de surveiller la présence de RFB dans des denrées alimentaires différentes afin de refléter les habitudes de consommation et ainsi préciser l'exposition du consommateur.

En ce qui concerne les HAP, il est important de noter que de nouvelles teneurs pour le benzo(a)pyrène et la somme des quatre HAP fixées par le règlement (CE) n°1881/2006 pour les poissons fumés sont appliquées depuis le 1<sup>er</sup> septembre 2014.

## Résultats et discussions

Le dispositif de surveillance mis en œuvre en 2014 a concerné 4932 prélèvements dont 1954 prélèvements étaient dédiés à la recherche de PCB-DL et dioxines, 2666 prélèvements aux PCB-NDL, 121 prélèvements aux HAP et 191 prélèvements à la quantification des RFB.

Chaque année, les résultats issus de ces analyses sont transmis à l'Anses par les autorités de contrôle, dans le cadre d'un accord d'échange de données signé entre les administrations et l'Agence.

### Les retardateurs de flamme bromés

Il n'est ici pas pertinent de définir des taux de non-conformité étant donné qu'il n'existe pas de seuil réglementaire applicable pour ces molécules.

Le taux de réalisation, c'est-à-dire le ratio entre le nombre de prélèvements prévu pour la campagne et le nombre de prélèvements effectivement réalisé, était de 97,4 % pour le plan 2014 RFB (5 échantillons prévus n'ont pas été prélevés). Ce taux est sensiblement identique à celui de 2013 (100 %).

4. Liste disponible sur : <http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-reconnus-methodes-officielles-en-alimentation>.  
5. Données dont les résultats sont inférieurs à la limite analytique.

**Tableau 1. Nombre de prélèvements et moyennes de contamination (selon l'hypothèse haute), en ng/g de matière grasse (ou de poids frais pour les produits de la pêche), pour les PSCP 2013 et 2014 de la DGAL, relatifs aux retardateurs de flamme bromés (PBDE, PBB, HBCD et TBBPA)**

Matrice	Nombre de prélèvements		Moyenne des sommes des 8 PBDE (ng/g)		Moyenne des sommes des 3 PBB (ng/g)		Moyenne des sommes des 3 HBCD (ng/g)		Moyenne du TBBPA (ng/g)	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014
Viande bovine	10	10	0,61	5,63	0,02	0,04	0,36	0,42	0,04	0,02
Viande porcine	10	9	0,28	0,93	0,01	0,01	0,13	1,56	0,03	0,03
Viande ovine	9	9	2,05	1,04	0,01	0,01	0,12	0,36	0,04	0,02
Foie d'ovin	10	9	0,74	1,03	0,03	0,04	0,12	0,27	0,07	0,03
Viande de lapin	4	6	1,06	5,75	0,03	0,02	0,10	0,12	0,04	0,02
Viande de volaille	10	10	1,73	1,05	0,02	0,01	1,57	0,70	0,21	0,07
Œufs	20	19	0,80	0,35	0,01	0,01	0,38	0,10	0,01	0,01
Lait	25	25	0,18	0,50	0,01	0,01	0,06	0,08	0,03	0,01
Crustacés	6	5	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00
Mollusques	52	47	0,08	0,07	0,00	0,00	0,09	0,07	0,00	0,00
Céphalopodes	1	2	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00
Poissons	37	40	0,26	0,17	0,01	0,00	0,08	0,10	0,03	0,00
Viande de gibier	10	0	1,04	-	0,02	-	0,17	-	0,09	-
<b>Total</b>	<b>204</b>	<b>191</b>								

Le **Tableau 1** présente les résultats pour les RFB en fonction des différentes familles de matrices. Les moyennes de contamination sont exprimées en ng/g de matière grasse, à l'exception des produits de la pêche pour lesquels les résultats sont exprimés en ng/g de poids frais.

**Tableau 2.** Nombre de prélèvements, moyennes de contamination (selon l'hypothèse haute), en pg TEQ/g de matière grasse (ou de poids frais pour les produits de la pêche) et nombre de non-conformités, pour les PSPC 2013 et 2014 de la DGAL, relatifs aux dioxines, furanes et PCB-DL

Matrice	Nombre de prélèvements		Moyenne des sommes des dioxines et PCB-DL (pg TEQ/g)		Nombre de non-conformités	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014
Viande de volaille	53	478	0,43	0,21	0	0
Viande de lapin	7	10	0,47	0,35	0	0
Œufs	36	20	0,50	0,57	0	0
Lait	43	54	0,91	1,00	0	0
Graisse de bovin	61	195	0,91	0,78	0	0
Graisse de porcine	50	575	0,15	0,12	0	1
Graisse d'ovin/caprin	24	99	0,71	0,60	0	0
Foie d'ovin/caprin	0	99	-	0,28	-	0
Viande de gibier	12	45	2,38	1,35	1*	8*
Poissons d'élevage	8	10	0,33	0,29	0	0
Poissons sauvages	205	184	1,04	0,77	4	3
Crustacés	29	31	0,27	0,11	0	0
Céphalopodes	7	4	0,04	0,21	0	0
Mollusques	150	150	0,71	0,59	0	0
<b>Total</b>	<b>685</b>	<b>1954</b>				

\* dépassement de seuil d'alerte nationale (valeur non réglementaire).

**Tableau 3.** Nombre de prélèvements, moyennes de contamination (selon l'hypothèse haute), en ng TEQ/g de matière grasse (ou de poids frais pour les produits de la pêche) et nombre de non-conformités, pour les PSC 2013 et 2014 de la DGAL, relatifs aux PCB-NDL

Matrice	Nombre de prélèvements		Moyenne des sommes des PCB-NDL (ng TEQ/g)		Nombre de non-conformités	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014
Viande de volaille	227	477	3,84	2,69	0	0
Viande de lapin	13	10	4,76	4,68	-	-
Œufs	97	90	3,02	3,56	0	0
Lait	80	81	3,91	4,25	0	0
Graisse de bovin	364	594	4,09	3,17	0	0
Graisse de porcine	329	576	2,20	2,20	0	0
Graisse d'ovin/caprin	95	298	4,41	2,55	0	0
Foie d'ovin/de caprin (MG)			-	9,31	-	0
Foie d'ovin/de caprin (PF)	0	99	-	0,51	-	0
Viande de gibier	32	42	20,83	12,59	2*	1*
Poissons d'élevage	32	30	3,35	4,53	0	0
Poissons sauvages	207	184	9,96	5,87	2	2
Crustacés	29	31	0,91	0,20	0	0
Céphalopodes	7	4	0,44	1,11	0	0
Mollusques	150	150	3,22	2,58	0	0
<b>Total</b>	<b>1662</b>	<b>2666</b>				

\* dépassement de seuil d'alerte nationale (valeur non réglementaire).

Il est important de noter que ces résultats ne sont pas comparables entre produits d'origine terrestre et produits de la mer du fait d'un dénominateur différent (g de matière grasse vs g de produit frais).

Pour les produits issus d'animaux terrestres, les valeurs maximales observées pour la viande bovine et la viande de lapin ont entraîné une augmentation significative de la moyenne des huit PBDE par rapport à 2013. Mais le faible nombre de prélèvements dans les filières d'animaux terrestres (inférieur ou égal à 10) induit une faible précision de ces résultats. Ce faible nombre de prélèvements, lié à une valeur maximale élevée, est également à l'origine de l'augmentation de la moyenne de la somme des trois HBCD dans la viande porcine entre 2013 et 2014.

À l'inverse, entre 2013 et 2014, on peut observer une diminution de la moyenne de contamination relative à la somme des trois HBCD dans la viande de volaille. Malheureusement, cette diminution portant encore sur un groupe de denrée de faible effectif (seulement 10 analyses réalisées chaque année), il est difficile de conclure.

### Les dioxines (PCDD/PCDF) et PCB

Les taux de réalisation sont très proches en 2013 et 2014 avec respectivement 98,9 % et 96,8 % des échantillons prévus qui ont pu être prélevés.

Le **Tableau 2** présente les résultats pour la somme TEQ des dioxines, furanes et PCB-DL en fonction des différentes familles de matrices. Les teneurs observées sont exprimées en pg TEQ/g de matière grasse pour l'ensemble des matrices, sauf pour les produits de la pêche où elles sont exprimées en poids frais.

Compte tenu du contexte réglementaire particulier qui impose un taux de contrôle représentatif du niveau national de production (directive CE n°96/23), le nombre de prélèvements est quasi constant d'une année à l'autre pour la plupart des matrices. Toutefois, le nombre de prélèvements a été augmenté en 2014 pour les graisses (bovines, porcines et ovines/caprines), les muscles de volailles et de gibiers. La matrice foie d'ovin a également été ajoutée. Ces modifications ont porté le nombre total d'échantillons prélevés à 1954 en 2014, contre seulement 685 en 2013.

Les niveaux de contamination observés en 2014 restent faibles et globalement du même ordre de grandeur qu'en 2013. Les taux de non-conformité sont inférieurs à 1 %, avec respectivement 0,60 % pour 2013 et 0,22 % pour 2014.

Pour ces deux années, la viande de gibier reste la matrice présentant les plus fortes teneurs en dioxines, furanes et PCB-DL. La diminution de la teneur moyenne entre ces deux années reste malgré tout sujette à caution étant donné que le nombre de prélèvements a été multiplié par trois entre ces deux années, et que les espèces prélevées au sein des gibiers peuvent avoir évolué. On constate d'ailleurs un nombre plus important de dépassements des seuils d'alerte en 2014 en comparaison à 2013. En 2013 et 2014, ces alertes concernaient respectivement un échantillon d'autruche et huit échantillons de sanglier.

Pour les poissons sauvages, les trois échantillons non conformes en 2014 sont deux maquereaux (océan Atlantique pour l'un et zone non renseignée pour le second) et un thon (mer Méditerranée). En 2013, quatre dépassements avaient pu être observés. Ils concernaient deux saumons (mer Baltique), un thon (mer Méditerranée) et une anguille (en provenance des Pays-Bas).

Concernant les PCB-NDL, parmi l'ensemble des congénères existants, six d'entre eux (PCB-28, -52, -101, -138, -153 et -180) représentent généralement la moitié de la quantité totale de PCB contenue dans les aliments. Depuis 2011, la somme de ces six PCB est réglementée, car considérée comme étant un bon indicateur de la contamination en PCB-NDL. Ces congénères ne présentant pas les mêmes caractéristiques de toxicité que les dioxines, la somme calculée n'est pas pondérée par un coefficient d'équivalence toxicologique.

Entre 2013 et 2014, le taux de réalisation est stable, à 97,2 %, et ce malgré un nombre de prélèvements beaucoup plus important en 2014 (2666 prélèvements, contre 1662 en 2013).

Le **Tableau 3** présente les résultats pour les PCB-NDL en fonction des différentes familles de matrices. Les teneurs observées sont exprimées en ng TEQ/g de matière grasse pour l'ensemble des matrices, sauf pour les produits de la pêche où elles sont exprimées en poids frais. Deux lignes différentes sont mentionnées pour les foies d'ovin et de caprin: une ligne où le résultat est exprimé en ng TEQ/g de matière grasse (MG) et une ligne où le résultat est exprimé en ng TEQ/g de poids frais (PF). Ceci s'explique par le changement de définition de la teneur maximale intervenu en 2014, dans le règlement n°1881/2006 (passage d'une teneur maximale de 40 ng TEQ/g de matière grasse à 3,0 ng TEQ/g de poids frais).

Les niveaux de contamination observés en 2014 restent faibles et comparables aux teneurs rapportées en 2013. Le taux de non-conformité calculé pour 2014 est très proche de celui de 2013 (respectivement 0,08 % et 0,12 %).

En 2014, un échantillon de muscle de sanglier sauvage a dépassé le seuil d'alerte, au-delà duquel une enquête est déclenchée afin d'identifier la source de contamination dans l'environnement. En 2013, les deux dépassements du seuil d'alerte étaient liés à des échantillons d'autruche d'élevage et de muscle de sanglier sauvage. Comme dans le cas des dioxines et PCB-DL, la diminution de la teneur en PCB-NDL observée dans les viandes de gibiers entre 2013 et 2014 pourrait provenir de l'échantillonnage (espèces différentes prélevées ces deux années) et non d'une réelle réduction de la contamination. Cette tendance serait donc à confirmer.

Les deux échantillons de poissons non conformes en 2014 sont les mêmes échantillons de maquereaux (océan Atlantique et zone non renseignée) que les échantillons non conformes en dioxines et PCB-DL. Pour 2013, un thon (mer Méditerranée) et une anguille (en provenance des Pays-Bas) étaient non conformes. Il s'agit des mêmes échantillons déjà non conformes pour les teneurs en dioxines et PCB-DL.

### Les hydrocarbures aromatiques polycycliques

Pour 2013 et 2014, les taux de réalisation ont été respectivement de 100 % et 99 %, seul un échantillon n'ayant pas pu être prélevé en 2014. On peut toutefois noter que le nombre de prélèvements entre ces deux années a diminué, notamment en ce qui concerne les poissons fumés (une vingtaine de prélèvement en moins).

Le **Tableau 4** présente les résultats pour les HAP en fonction des différentes familles de matrices. Les teneurs observées sont exprimées en µg/kg de poids frais pour l'ensemble des matrices.

Les niveaux de contamination sont sensiblement les mêmes entre 2013 et 2014. Pour ces deux années, aucun prélèvement ne dépasse les seuils de conformité en HAP. Au cours de l'année 2014, les seuils réglementaires pour les poissons fumés ont été abaissés pour le benzo(a)pyrène (2 µg/kg au lieu de 5 µg/kg) et pour la somme des quatre HAP (12 µg/kg au lieu de 30 µg/kg) mais sans entraîner de non-conformité.

## Conclusions et perspectives

Pour l'ensemble des POP suivis dans les PSPC, les niveaux de contamination observés restent globalement faibles et inférieurs aux seuils fixés, soit par la réglementation européenne (cas des limites

maximales), soit au niveau national par la DGAL (cas des seuils d'alerte). Dans le cas des seuils réglementaires, les non-conformités observées portent exclusivement sur des dépassements des teneurs en dioxines et PCB (DL ou NDL) dans la chair de poisson. Ces mêmes composés se retrouvent également impliqués dans les dépassements des seuils d'alerte fixés au niveau national pour la viande de gibier. Néanmoins, les efforts conjugués sur les sources de contamination (incinérateurs en particulier) et sur les contrôles des denrées ont permis une réduction importante de l'exposition des consommateurs aux dioxines et PCB (Anses, 2011). La nouvelle réglementation sur les PCB-NDL a permis de renforcer ce dispositif.

En 2015, le plan d'échantillonnage relatif aux dioxines, PCB et HAP a été reconduit quasiment à l'identique par rapport à 2014, excepté pour les produits de la pêche. En effet, une analyse de l'ensemble des données de contamination des produits de la pêche disponibles sur les cinq dernières campagnes de PSPC a permis l'élaboration d'un nouveau plan d'échantillonnage. Ainsi, pour un même nombre de prélèvements au niveau national que les années précédentes, ce nouveau plan se concentre sur les espèces les plus pertinentes, c'est-à-dire les plus contaminées (cas par exemple des poissons prédateurs) et/ou les plus consommées. Une part des prélèvements est restée malgré tout dédiée aux espèces peu contaminées et peu consommées, permettant ainsi de maintenir une surveillance minimale sur ce type d'espèces.

Concernant les RFB, il n'existe actuellement pas de réglementation européenne fixant des limites maximales de ces composés dans les denrées alimentaires. En 2015, les recherches sur les RFB se sont poursuivies afin de répondre à la recommandation 2014/118/UE relative à leur surveillance. Il sera intéressant de faire un bilan de la recherche des RFB menée de 2012 à 2015, afin d'améliorer la précision des résultats pour chaque matrice.

Enfin, il est à noter que certaines des conclusions devront être précisées à la faveur des prélèvements qui seront effectués à l'avenir, étant donné le nombre parfois limité d'échantillons pour un couple « famille de denrées/famille de contaminants ». Pour 2014, seule une dizaine d'analyses de RFB a été réalisée pour chaque type de viande de boucherie (bovins, ovins, porcins). Il est donc primordial de maintenir une pression de prélèvements importante car, outre son objectif majeur de suivi des niveaux de contamination, le présent plan engendre également des données de contamination qui sont adressées aux experts de l'évaluation des risques (Anses, Efsa). Ceci permet une mise à jour régulière de cette évaluation. Cette évaluation pourra être d'autant plus précise que les limites analytiques retenues par les laboratoires seront faibles et que les plans mis en place par la DGAL répondront bien aux objectifs définis par l'ensemble des acteurs.

## Références bibliographiques

- Anses, 2011. Étude de l'alimentation totale française 2 (EAT2) Tome 1 Contaminants inorganiques, minéraux, polluants organiques persistants, mycotoxines, phyto-œstrogènes.
- Martin van den Berg *et al.*, 2006. The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds. *Toxicological Sciences* 93(2), 223-241.
- WHO, 1995. Report on the Second Workshop on Reliable Evaluation of Low-Level Contamination of Food, 26-27 May 1995, Kulmbach, Federal Republic of Germany

**Tableau 4.** Nombre de prélèvements, moyennes de contamination (selon l'hypothèse haute), en µg/g de poids frais et nombre de non-conformités, pour les PSPC 2013 et 2014 de la DGAL, relatifs aux HAP

Matrice	Nombre de prélèvements		Moyenne du benzo(a)pyrène (µg/g)		Moyenne des sommes des 4 HAP (µg/g)		Nombre de non-conformités pour le benzo(a)pyrène		Nombre de non-conformités pour la somme des 4 HAP	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014
Poissons fumés	75	53	0,21	0,22	0,70	0,55	0	0	0	0
Mollusques bivalves	71	68	0,30	0,33	2,95	2,41	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>146</b>	<b>121</b>								

# Surveillance des éléments traces métalliques dans les denrées alimentaires d'origine animale - focus sur le plan exploratoire de la recherche du méthylmercure dans les poissons

Rachida Chekri (1) (rachida.chekri@anses.fr), Jean-Cedric Reninger (2), Thierry Guérin (1), Laurent Noël (3)

(1) Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, Maisons-Alfort, France

(2) Anses, Direction de l'évaluation des risques, Maisons-Alfort, France

(3) Direction générale de l'Alimentation, Bureau de la coordination en matière de contaminants chimiques et physiques, Paris, France

## Résumé

La surveillance officielle des éléments traces métalliques (ETM) tels que l'Arsenic, le Plomb, le Cadmium, le Nickel ou le Mercure dans les denrées alimentaires d'origine animale est assurée grâce à un dispositif qui permet de maîtriser le risque alimentaire par l'identification, la quantification et la caractérisation du danger lié à la présence de ces éléments dans les aliments.

En 2014, divers plans de surveillance et de contrôle (échantillonnage ciblé) ainsi qu'un plan exploratoire ont été mis en œuvre pour la surveillance des ETM (Plomb, Cadmium, Mercure et Méthylmercure) dans les denrées alimentaires. Ces plans ont engendré 6 908 analyses dans diverses matrices (produits de la pêche, animaux de boucherie, laits, gibiers, volailles, lapins et miels). L'exploitation des résultats obtenus, a indiqué un taux de réalisation de 99,3 % et un taux de non-conformités (au regard des teneurs maximales réglementaires ou des seuils d'alerte nationaux) variant de 0,7 à 16 %, toutes filières confondues, hors filière équidés. Les non-conformités mises en évidence ont fait l'objet de mesures de gestion adaptées en fonction du risque identifié. Elles ont également permis de maintenir ou de renforcer la surveillance de certains couples analyte/matrice tels que le Plomb dans le muscle de gibier ou le Cadmium dans le foie d'équidés.

De manière générale, le système de surveillance mis en place a contribué à l'évaluation du niveau d'exposition du consommateur aux ETM ainsi qu'à l'alimentation des bases de données de contamination (plan exploratoire Méthylmercure), pour une meilleure évaluation du risque. L'analyse du dispositif a permis de présenter des perspectives d'amélioration, notamment la nécessité de définir des critères de ciblage des prélèvements, plus adaptés et plus simple à mettre en œuvre; ainsi que la mise en place d'un outil pour l'amélioration de la qualité des données générées par les plans de surveillance et de contrôle.

## Mots-clés

Dispositif de surveillance, éléments traces métalliques, Plomb, Cadmium, Mercure, Méthylmercure

## Abstract

### **Surveillance of trace metals in foods of animal origin - focus on the exploratory plan to test for methylmercury in fish**

The surveillance of trace metals such as arsenic, lead, cadmium, nickel and mercury in foodstuffs of animal origin is ensured by an operational plan aiming at risk identification and the quantification and characterisation of the hazards related to trace metals found in foods.

In 2014, several surveillance and control plans (targeted sampling) as well as an exploratory plan were implemented to monitor trace metals (lead, cadmium, mercury and methylmercury) in foodstuffs. These plans generated 6,908 analyses in various matrices (fish products, livestock products, milk, game, poultry, rabbits and honey). Processing of the results showed a completion rate of 99.3% and a rate of non-compliance (with the regulatory maximum levels or national alert thresholds) ranging from 0.7% to 16% across all sectors, excluding the equine industry. The identified non-compliances were managed based on the identified risk. They also helped to maintain or strengthen the surveillance of certain analyte/matrix pairs, such as lead in game meat and cadmium in equine liver.

In general, the surveillance system in place has contributed to estimating consumer exposure to trace metals as well as to populating databases (Methylmercury exploratory plan) for enhanced risk assessment. The analysis of the monitoring system was an opportunity to present prospects for improvement including the need to define more suitable sample targeting criteria that are easier to implement. Another area for improvement would be the implementation of a tool for improving the quality of data generated by monitoring and control plans.

## Keywords

Surveillance, Trace metals, Lead, Cadmium, Mercury, Methylmercury

Chaque année, divers plans de surveillance et plans de contrôle (PSPC) sont mis en œuvre afin d'assurer la surveillance de la contamination des productions primaires animale et végétale, des denrées alimentaires d'origine animale et de l'alimentation animale. Ils constituent également un moyen de recueillir des données de contamination en vue de l'évaluation des risques liés à l'alimentation.

Les éléments traces métalliques (ETM) dans les denrées alimentaires d'origine animale font partie des contaminants dont la surveillance est assurée au travers de ce dispositif. Les éléments principalement recherchés sont le Plomb (Pb), le Cadmium (Cd) et le Mercure (Hg). Les sources d'ETM sont d'origines naturelles ou anthropiques (relative à l'activité humaine: industrielle, agricole,...). De par les différents processus de transformation qu'ils subissent (physico-chimique, oxydo-réduction, activité biologique, absorption-désorption...), on retrouve les ETM sous différentes formes chimiques, organiques

ou inorganiques, d'une durée de vie variable, et plus ou moins toxiques selon l'élément considéré. Ils sont adsorbés dans les sols, les sédiments et dans les milieux aquatiques et peuvent également se retrouver dans l'air. Ils entrent ensuite dans la chaîne alimentaire (eau-phytoplancton/plante-poisson/animal) où ils sont bio-amplifiés et/ou bio-accumulés. L'ingestion de ces ETM via l'alimentation, est associée à des perturbations des fonctions métaboliques essentielles à l'Homme. La toxicité du Plomb et du Mercure entraîne des lésions rénales, neurotoxiques et cardiovasculaire et le Cadmium est classé « cancérigène pour l'Homme », il affecte les fonctions rénales et provoque des troubles de la reproduction.

Dans cet article, nous présentons les objectifs du dispositif de surveillance des ETM mis en œuvre en 2014, son fonctionnement au travers de la programmation et du protocole de surveillance (choix des couples analyte/matrice à surveiller, stratégie et plan d'échantillonnage,

méthode d'analyse...) ainsi que les résultats et les perspectives d'amélioration, et nous nous focalisons plus particulièrement sur le plan Méthylmercure (MeHg) dans les poissons. En effet, le Mercure (réglementé) s'accumule dans les poissons principalement en tant que Méthylmercure (non réglementé), qui est la forme présentant un risque toxicologique pour le consommateur. Cependant, les plans de surveillance mis en œuvre concernent principalement le Mercure, ainsi en 2014, un plan exploratoire a été planifié afin de collecter des données de contamination spécifiques à l'espèce la plus toxique (MeHg), dans les poissons consommés en France.

## Objectifs du dispositif de surveillance

Ses objectifs sont: i) de contrôler la conformité des denrées animales mises sur le marché français au prorata des quantités produites, ii) de fournir des données pour l'évaluation du risque pour les consommateurs lié à la contamination des denrées animales par les ETM. À noter que les éventuelles alertes européennes (RASFF<sup>(1)</sup>) sont également prises en compte dans la mise en place du dispositif, afin d'instaurer une vigilance supplémentaire ou de mettre en place des plans orientés sur des couples analyte/matrice spécifiques.

Ainsi les PSPC mis en œuvre en 2014 ont concerné les denrées d'origine animale, au stade de la production primaire ou de première transformation: viandes et abats, lait et miel pour les animaux terrestres, chair pour les poissons d'élevage, les produits de la mer et d'eau douce; ils ont été organisés comme suit:

- plan de contrôle Plomb et Cadmium chez les animaux de boucherie, volailles, lapins, gibiers, poissons d'élevage et dans le miel,
- plan de contrôle Plomb dans le lait, bovins, ovins et caprins,
- plan de surveillance Plomb, Cadmium et Mercure dans les produits de la pêche (poissons, crustacés, céphalopodes et mollusques bivalves),
- plan exploratoire Méthylmercure dans les poissons.

1. RASFF: Food and feed safety alerts – European Commission.

La majorité des plans programmés répondent aux objectifs réglementaires, fixés par l'Union européenne, de surveiller les niveaux de contamination des aliments par différents contaminants et d'harmoniser le suivi sanitaire des productions européennes vis-à-vis de certains dangers sanitaires. C'est le cas des ETM dans les productions primaires animales.

D'autres plans spécifiques ont des objectifs de surveillance nationale et concernent des couples analyte/matrice non réglementés mais d'intérêt. Il s'agit du Plomb et du Cadmium dans le miel et chez le lapin, du Cadmium chez les gibiers (d'élevage et sauvage) auquel la recherche de Plomb a été ajoutée en 2014.

Outre ces plans mis en œuvre pour contrôler la conformité des produits, un plan exploratoire de recherche du MeHg dans les poissons a été organisé. Son objectif était de récolter des données sur les concentrations en MeHg et en mercure total (HgT) observées dans les poissons mis sur le marché. En effet, actuellement, la réglementation européenne fixe uniquement la concentration en HgT dans les denrées alimentaires avec une limite maximale réglementaire (TM) de 1 mg/kg pour les poissons prédateurs et de 0,5 mg/kg pour les autres poissons. Pourtant, la toxicité du mercure dépend de sa spéciation (étude des différentes espèces chimiques (entité chimique: atome ou groupe d'atomes liés qui peut être un ion, une molécule ou un radical) formées par l'élément) et de la quantité ingérée de ces différentes espèces, qui peut être différente de la concentration en HgT. Les espèces organo-mercurielles sont beaucoup plus toxiques que les espèces inorganiques. C'est le cas du MeHg, la forme la plus dangereuse pour l'Homme, qui est neurotoxique et tératogène.

La première source d'exposition de l'Homme au MeHg est la consommation de produits de la pêche. Par ailleurs, le calcul d'exposition de la population au MeHg est généralement réalisé à partir d'une hypothèse qui considère que la proportion moyenne de mercure présent sous forme de MeHg dans la chair de poisson varie de 80 à 100 % du HgT. Afin d'évaluer au plus juste cette exposition, la connaissance des teneurs en MeHg, en complément des teneurs en HgT permettrait aux instances européennes d'émettre de nouvelles valeurs

### Encadré.

#### Objectifs

Plan de surveillance: suivi du niveau de contamination des éléments traces métalliques réglementés dans les denrées d'origine animale: Plomb (Pb), Cadmium (Cd) et Mercure (Hg) dans les productions primaires.

Plan exploratoire de la recherche du Méthylmercure (MeHg) dans les poissons: fournir des données complémentaires pour l'évaluation du risque lié à la consommation de poisson.

#### Cadre de programmation

Directive 96/23/CE du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits.

Décision 97/747/CE fixant les niveaux et fréquences de prélèvement d'échantillons prévus par la directive 96/23/CE du Conseil en vue de la recherche de certaines substances et de leurs résidus dans certains produits animaux.

Décision 98/179/CE fixant les modalités de prise d'échantillons officiels pour la recherche de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits.

Règlement (CE) N° 1881/2006 de la Commission du 19 décembre 2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires.

Règlement (CE) N° 333/2007 de la Commission du 28 mars 2007 portant fixation des modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en plomb, en cadmium, en mercure, en étain inorganique, en 3-MCPD et en benzo(a)pyrène dans les denrées alimentaires.

#### Protocole

Les plans pour la recherche des ETM dans les denrées alimentaires d'origine animale, mis en œuvre en 2014 sont: un plan de contrôle

Plomb et Cadmium dans les animaux de boucherie, les volailles, le lapin, le miel et le gibier; un plan de contrôle Plomb dans le lait; un plan de surveillance Plomb, Cadmium et Mercure dans les produits de la pêche et un plan exploratoire MeHg dans les poissons.

Les productions concernées: animaux de boucherie (bovins, ovins, caprins, équidés), volailles, lapins, gibiers, poissons d'élevage, œufs, miel, lait, bovins, ovins et caprins et produits de la pêche (poissons, crustacés, céphalopodes et mollusques bivalves).

Stade de la chaîne alimentaire: production primaire ou première transformation. Ensemble des circuits de distribution pour les produits de la pêche (GMS, poissonnerie, marché ambulant...).

Échantillon non-conforme: de façon générale un résultat est dit non conforme lorsque la teneur maximale d'un contaminant présent dans le produit, est dépassée compte tenu de l'incertitude de mesure élargie ( $k = 2$ ) associée au résultat.

Le dispositif de surveillance des ETM mis en œuvre en 2014 a concerné 3 140 échantillons, et 59 échantillons ont été analysés dans le cadre du plan exploratoire MeHg.

Stratégie d'échantillonnage: échantillonnage ciblé sur les denrées issues des zones susceptibles d'être contaminées pour les plans de contrôle et prélèvements au stade de la distribution de façon aléatoire pour le plan de surveillance et le plan exploratoire.

Méthode analytique: méthodes officielles pour la détermination des teneurs en ETM (Pb, Cd et Hg) dans les denrées alimentaires d'origine animale, par spectrométrie d'absorption atomique (SAA) ou par spectrométrie de masse liée à un plasma induit (ICP-MS) et méthode de détermination par dilution isotopique de la teneur en MeHg dans les produits de la pêche.

toxicologiques de référence et des recommandations alimentaires plus précises (commission du *Codex Alimentarius*).

## Fonctionnement du dispositif de surveillance

Le dispositif fait intervenir différents acteurs autour d'actions relatives à des domaines de compétence précis: le pilotage et la programmation (stratégie d'échantillonnage, choix des couples analyte/matrice pertinents...), la mise en œuvre (prélèvement, développement de méthodes analytiques appropriées, analyse, mise en évidence des non-conformités...) et l'exploitation des résultats du dispositif (mesures mises en place suite aux non-conformités ou émergences identifiées, conclusions, propositions d'amélioration du dispositif...)<sup>(2)</sup>.

## Pilotage et cadre de programmation

Le pilotage et la programmation sont assurés par la direction générale de l'Alimentation (DGAL). Les plans de contrôle sont élaborés et mis en œuvre conformément aux prescriptions de la directive 96/23/CE du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits, et des décisions 97/747/CE (fixant les niveaux et fréquences de prélèvement d'échantillons prévus par la directive 96/23/CE du Conseil en vue de la recherche de certaines substances et de leurs résidus dans certains produits animaux) et 98/179/CE (fixant les modalités de prise d'échantillons officiels pour la recherche de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits).

Les limites réglementaires pour les ETM dans les denrées animales sont définies dans le règlement (CE) N° 1881/2006 de la Commission du 19 décembre 2006 portant sur la fixation de teneurs maximales (TM) pour certains contaminants dans les denrées alimentaires.

Les modalités de prélèvement et les critères de performance des méthodes d'analyses sont définis dans le règlement (CE) N° 333/2007 de la Commission du 28 mars 2007 portant sur la fixation des modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en plomb, en cadmium, en mercure, en étain inorganique, en 3-MCPD et en benzo(a)pyrène dans les denrées alimentaires.

## Stratégie d'échantillonnage

La stratégie d'échantillonnage est assurée par la DGAL en concertation avec les autres gestionnaires du dispositif et avec l'appui de l'Anses et du laboratoire national de référence (LNR) « Éléments traces métalliques dans les denrées alimentaires d'origine animale ».

Les modalités de prélèvements d'échantillons (nombre d'échantillons, représentativité des prélèvements des lots et sous-lots, ou d'unités, conditionnement, étiquetage, envoi) sont celles précisées dans le règlement (CE) N° 333/2007.

La stratégie d'échantillonnage dépend du type de plan et est réalisée comme suit.

### Plan de surveillance

L'échantillonnage est réalisé de manière aléatoire. Le choix des lots à prélever est fait au hasard, quels que soient la date, le lieu, l'origine (élevage ou sauvage) ou l'espèce concernée, en fonction de la population humaine de chaque région. Les prélèvements sont réalisés au niveau de la distribution. Concernant le plan de surveillance dans les produits de la pêche, les prélèvements sont réalisés, quelle que soit l'espèce, au niveau de la remise au consommateur final, dans l'ensemble des circuits de distribution (GMS, poissonnerie, marché ambulant...).

2. Voir l'article de Marion Bordier, Le système de surveillance des contaminants dans la chaîne alimentaire piloté par la DGAL: bilan de la campagne des plans de surveillance et de contrôle en 2014, dans ce même numéro.

### Plan de contrôle

L'ensemble des prélèvements est réalisé de manière ciblée. Les critères pris en compte sont par exemple la localisation d'exploitations agricoles à proximité de zones polluées ou susceptibles de l'être. Les bases de données apportant des informations sur les zones à risque Irep<sup>(3)</sup>, Basol<sup>(4)</sup> sont mises à profit pour répartir les prélèvements au niveau départemental.

Tous les modes d'élevage ou de production (intensifs, biologiques, label, etc.) sont concernés. Par ailleurs, les prélèvements pour la recherche de Plomb et de Cadmium dans la filière équidés sont effectués sur le muscle et le foie du même animal (ajout de cette matrice en 2014). En effet, en l'absence de données récentes de contamination des abats de chevaux de plus de deux ans, un renforcement de la surveillance du Plomb et du Cadmium dans le foie a été programmé en 2014 afin d'apprécier le niveau de contamination de cette matrice et le cas échéant de réviser les modalités de gestion actuelles (saisie systématique des foies des animaux de plus de 2 ans). Pour le lait, les prélèvements sont réalisés au sein d'exploitations où les animaux ont accès à l'extérieur, prioritairement en zone polluée ou potentiellement polluée.

### Plan exploratoire MeHg dans les poissons

Les prélèvements ont été réalisés au stade de la distribution, de façon aléatoire. Un total de 54 échantillons a été programmé et réparti sur l'ensemble des régions métropolitaines ainsi que les cinq départements d'Outre-Mer

Les espèces prédatrices étant fortement bio-accumulatrices comparées aux autres espèces, il a été choisi d'effectuer un prélèvement de poisson prédateur et non prédateur par région en France métropolitaine et deux prélèvements de poisson différents (prédateur ou non) au choix, pour les cinq départements d'Outre-Mer.

## Modalités de mise en œuvre

La mise en œuvre du dispositif est assurée conjointement par les services déconcentrés qui réalisent les prélèvements, les laboratoires agréés et le LNR en charge des analyses, ainsi que par l'ensemble des acteurs pour la gestion des non-conformités.

### Méthodes analytiques

Les analyses sont réalisées par les laboratoires agréés par le ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt pour la réalisation d'analyses ainsi que par le LNR pour certains plans spécifiques. L'ensemble des laboratoires est accrédité par le Cofrac pour la réalisation des analyses conformément aux dispositions de la norme NF EN ISO/CEI 17025 « Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essai » et selon le programme d'accréditation 99-3 « Analyse de contaminants chimiques chez les animaux dans leurs produits et les denrées alimentaires destinées à l'homme ou aux animaux: métaux ». Les méthodes utilisées pour les analyses réglementaires sont les méthodes officielles (note de service DGAL N° DGAL/SDPPST/N2011-8081 « Méthodes officielles pour la détermination des teneurs en ETM (Pb, Cd et Hg) dans les denrées alimentaires d'origine animale »).

Deux techniques principales sont utilisées selon la disponibilité des équipements dans les laboratoires à savoir: la spectrométrie d'absorption atomique (SAA) et la spectrométrie de masse liée à un plasma induit (ICP-MS). Ces méthodes sont développées et validées par le LNR, conformément aux normes en vigueur, afin d'évaluer les paramètres de performance tels que les limites de détection (LD) et de quantification (LQ), la justesse et la fidélité intermédiaire; puis elles sont transférées aux laboratoires agréés. Conformément à la réglementation européenne, ces critères de performance doivent

3. Irep: Répertoire du registre français des émissions polluantes. <http://www.irep.ecologie.gouv.fr/IREP/index.php>

4. Basol: Base de données sur les sites et sols pollués. <http://basol.developpement-durable.gouv.fr/>

satisfaire les exigences prédéfinies, notamment en termes de LQ et d'incertitude de mesure sur le résultat. La méthode doit être suffisamment sensible pour quantifier les faibles teneurs au niveau et en dessous (1/5 à 2/5) des TM et doit présenter une incertitude de mesure en accord avec une valeur maximale réglementaire (calculée en fonction de la concentration d'intérêt). En effet, la déclaration de conformité d'un échantillon étant basée sur le résultat d'analyse, soustrait de son incertitude, une limite maximale de la valeur de l'incertitude a été établie afin d'éviter toute surestimation de l'incertitude qui impacterait la conclusion.

Pour les analyses non réglementées relatives au plan exploratoire MeHg dans les poissons, la méthode de détermination par dilution isotopique de la teneur en MeHg dans les produits de la pêche a été utilisée: extraction solide/liquide et quantification par dilution isotopique chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse couplée à un plasma induit (ID-GC/ICP-MS).

### Conformité réglementaire

À des fins de contrôle, les résultats des analyses sont comparés aux TM ou aux seuils décisionnaires nationaux qui s'appliquent au couple analyte/matrice considéré. L'échantillon est conforme si le résultat soustrait de l'incertitude de mesure élargie (facteur d'élargissement fixé à 2, pour un niveau de confiance de 95 %) est inférieur ou égal à cette teneur maximale.

À noter qu'en l'absence de seuil réglementaire pour certains couples analyte/matrice surveillés, des seuils d'alerte, fixés au niveau national, sont définis par la DGAL, sur la base de données antérieures des PSPC et/ou de données bibliographiques, ou encore sur la base de TM de matrices ou espèces similaires (ex: gibier à plume associé aux volailles).

C'est notamment le cas pour le Plomb et le Cadmium dans le gibier, le lapin et le miel et le Plomb chez le cheval. Par exemple, concernant le miel, les seuils retenus sont de 0,10 mg/kg pour le Plomb et de 0,05 mg/kg pour le Cadmium, ces seuils représentent des seuils de conformité au-delà desquels une enquête est déclenchée afin d'identifier une éventuelle source de contamination de l'environnement. À noter que depuis 2015, une TM a été fixée pour le Plomb dans le miel à 0,10 mg/kg (règlement (CE) n° 2015/1005 de la Commission du 25 juin 2015).

Lors de la mise en évidence d'un résultat non conforme, les laboratoires informent le service déconcentré ayant procédé au prélèvement, qui en informe alors la mission des urgences sanitaires (MUS) de la DGAL. Cette dernière apporte son appui technique aux services déconcentrés, en collaboration avec le bureau sectoriel concerné, pour expertiser les signalements. Elle s'assure de la mise en application d'une éventuelle procédure de retrait ou rappel de lot et, en l'absence de risque immédiat, oriente, le cas échéant, la gestion du cas vers le bureau sectoriel de la DGAL et les directions générales qui pourraient être concernées.

## Résultats et discussions

Le dispositif de surveillance des ETM mis en œuvre en 2014 a concerné 3 140 échantillons, le taux de réalisation a été de 99,3 %. Il a varié entre 73 % et 114 % en fonction du couple analyte/matrice, excepté pour le Plomb dans le lait de brebis (40 %) et le Plomb et Cadmium dans le petit gibier d'élevage (32 %). Ces faibles taux sont dus soit à des prélèvements non effectués suite à des difficultés rencontrées sur le terrain, soit à un défaut de transmission des résultats dans Sigal (non transmission ou résultat transmis non exploitable). À noter que le dispositif de surveillance a concerné 23 couples analyte/matrice différents, ce qui représente un nombre important au regard du nombre d'échantillons. Néanmoins, le nombre de prélèvements répond aux minima réglementaires européens et s'intègre dans une surveillance globale des dangers sanitaires sur la base d'une priorisation sectorielle par filière ou par famille de contaminants en prenant en compte les contraintes budgétaires.

Le nombre d'analyses total a été de 6 790. D'une manière générale, les résultats quantifiés (24,9 %), sont très inférieurs aux teneurs

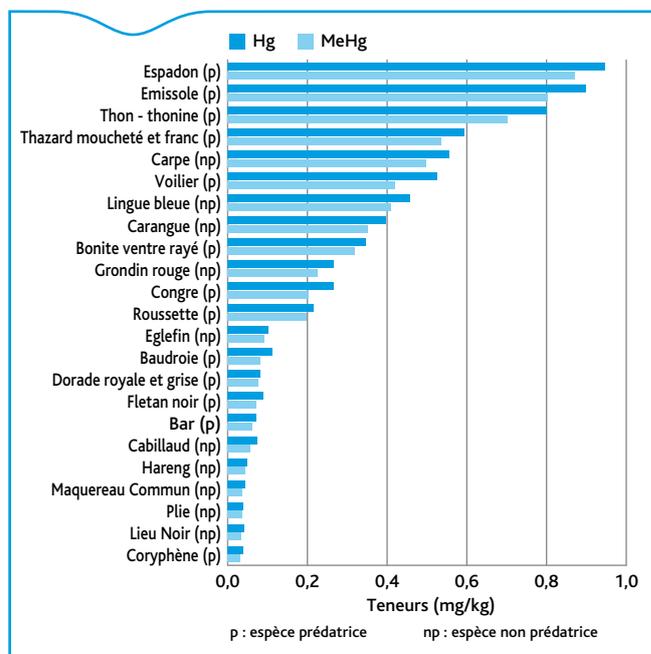


Figure 1. Distribution de teneurs en HgT et MeHg en fonction des espèces de poissons

maximales autorisées. Les non-conformités identifiées concernent (le HgT dans les poissons (2,6 %), le Cadmium dans les crustacés (6,5 %, échantillonnage de 31 prélèvements), le Plomb dans le foie d'équidés (0,6 %) et le Cadmium dans le muscle d'équidés (0,6 %), le Cadmium dans le foie de volailles et dans le muscle de gibier (0,7 %) et le Cadmium dans le foie de bovins (9 %, échantillonnage de 22 prélèvements)). Ces non-conformités ont fait l'objet d'une enquête épidémiologique qui a conduit lorsque la contamination était avérée à des mesures de saisie ou de retrait des lots. À titre d'exemple, suite à un résultat non conforme en Cadmium dans des foies de bovins issus d'une exploitation située dans une zone dont le sol est contaminé en Plomb et en Cadmium, la saisie systématique des abats des animaux issus de cette zone a été mise en place.

Par ailleurs, un taux de non-conformités élevé mais attendu (78 %) a été relevé sur les analyses de Cadmium dans le foie d'équidés. Ce plan avait été programmé afin de confirmer le maintien de saisie systématique des foies d'équidés de plus de deux ans à l'abattoir en lien avec la législation française spécifique concernant les abats des animaux « tardivement abattus » qui bio-accumuleraient le Cadmium dans leur foie à des teneurs supérieures à la TM de 0,5 mg/kg et qui seraient impropres à la consommation.

Concernant les gibiers, la recherche de Plomb a été ajoutée en 2014 à la recherche de Cadmium afin d'estimer une éventuelle contamination en Plomb à laquelle serait exposée le consommateur. 16,6 % de non-conformités en Plomb dans le muscle et 5,5 % dans le foie ont été mis en évidence dans les gibiers ainsi que 12 % en Cadmium dans le foie et 0,7 % dans le muscle.

Habituellement, les foies sont plus contaminés que les muscles, ce qui est vérifié pour le Cadmium mais pas pour le Plomb. En effet, cette augmentation des taux de non-conformités en Plomb dans le muscle est probablement due au recours à des munitions en plomb pour la chasse, et des prélèvements contaminés en conséquence, malgré les consignes de prélèvement à effectuer hors trajet de la balle.

Le gibier étant consommé ponctuellement, il ne représente pas une source majeure d'exposition au Cadmium ou au Plomb. Néanmoins, il n'est jamais exclu que des consommateurs ayant un régime particulier (fort consommateurs de gibier) puissent être plus exposés. Il serait intéressant de mieux caractériser la situation de façon à préconiser si besoin des recommandations de consommation. Les sources de contamination pouvant être naturelles mais possiblement artificielles (activité humaine type industrie...) avec une accumulation logique chez le gibier, compte tenu du régime de certains animaux et de leur âge.

Par ailleurs, en comparaison des PSPC mis en œuvre en 2014, le nombre de prélèvements effectué en 2013 était légèrement inférieur (2273 *versus* 3 140) avec un taux de réalisation équivalent. On observait également une faible présence des ETM dans les matrices analysées et quelques non-conformités qui ont concerné deux échantillons de muscle d'équidés et de bovins et un échantillon d'espadon (Océan indien) pour le Cadmium et deux échantillons de lingue (Océan Atlantique NE) pour le Hg. Les seuils d'alerte ont également été dépassés pour 22 foies et muscles de gibiers pour le Cadmium et le Plomb, un échantillon d'oursin (Océan Atlantique NE) et deux échantillons de miel pour le Plomb (dont un dépassement lié à la présence de Plomb dans le matériel).

### Focus sur le plan exploratoire recherche du MeHg dans les poissons

Un total de 59 échantillons ont été analysés et les résultats des teneurs moyennes en HgT et MeHg en fonction de l'espèce (23 poissons prédateurs et 36 non prédateurs) sont représentés dans la Figure 1.

Le taux de réalisation est de 109 % avec cinq échantillons supplémentaires d'espadon (*Xiphias gladius*) en provenance de la Réunion analysés en plus de la programmation définie. Tous les échantillons ont été quantifiés en HgT et en MeHg.

À noter six dépassements de la TM en HgT compte tenu des teneurs individuelles mesurées dans les espèces pêchées dans des zones inconnues excepté pour le Thazard moucheté (*S. brasiliensis*) pêché dans l'océan Atlantique (1,6 mg/kg > 1,0 mg/kg (TM poisson prédateur)), la Carpe (*Cyprinus carpio*) (0,82 mg/kg > 0,50 mg/kg (TM poisson non prédateur)), l'Espadon (*Xiphias gladius*) (respectivement 1,3 – 1,8 – 3,1 mg/kg > 1,0 mg/kg (TM poisson prédateur)), la Thonine (*Euthynnus alletteratus*) (1,3 mg/kg > 1,0 mg/kg (TM poisson prédateur)). Cela représente une proportion d'échantillons non conformes de 10 % à considérer avec prudence, compte tenu de l'échantillonnage du plan (59 prélèvements correspondant à 25 espèces différentes en provenance de divers lieux de pêche). Un échantillonnage ciblé et plus important en nombre permettrait une meilleure évaluation de la contamination des poissons par le MeHg. Par ailleurs, la teneur en MeHg représente en moyenne 87 % du HgT (74 à 97 % selon l'espèce), ce qui est en adéquation avec les données de la littérature (saisine Afssa 2003, Avis EFSA 2012).

Comme attendu, les teneurs en HgT et MeHg sont plus élevées chez les espèces prédatrices qui accumulent plus facilement le HgT et le MeHg (Tableau 1).

Ce plan exploratoire a ainsi permis d'obtenir des données en MeHg et en HgT dans les poissons mis sur le marché français. Les forts consommateurs d'espèces prédatrices sont susceptibles d'être plus exposés au HgT et au MeHg.

À noter que des discussions relatives à la proposition de révision des teneurs maximales pour le Mercure dans les produits de la pêche, issues du règlement (CE) n° 1881/2006 du 19 décembre 2006, sont en cours au sein du comité européen d'experts sur les contaminants environnementaux. En effet, une autre catégorisation des TM est envisagée: quatre teneurs sont proposées: 0,30 – 0,50 – 1,0 et 2,0 mg/kg, établies sur la base d'un examen des données de contamination disponibles montrant que selon les espèces, les niveaux de contamination moyens en Mercure sont très en dessous ou très au-dessus des TM actuelles. À titre d'exemple, les poissons les plus riches en Mercure sont les poissons prédateurs en fin de chaîne alimentaire les plus avancés en âge (exemple des thons, espadons...), mais aussi les prédateurs de taille plus réduite mais à croissance très

lente. La TM actuellement fixée pour les espadons et les requins ne reflète pas les niveaux de contamination fréquemment rencontrés. Il conviendrait donc de fixer la TM en Hg pour ces espèces en appliquant le principe utilisé habituellement pour fixer des teneurs maximales en contaminants (principe ALARA<sup>(5)</sup> résultant de la comparaison de l'exposition théorique déduite des données de contamination disponibles et de la Valeur toxicologique de référence (VTR) dudit contaminant).

## Analyse et perspectives d'amélioration du dispositif de surveillance

De manière générale, le dispositif de surveillance 2014 des ETM dans les denrées alimentaires d'origine animale a contribué à la protection du consommateur par la gestion des contaminations jugées non conformes.

Les plans spécifiques nationaux tels que la recherche du Cadmium dans le foie d'équidés ou le Plomb et le Cadmium dans le miel ont permis de maintenir une surveillance et des dispositions adéquates en fonction des risques caractéristiques associés (confirmation de la nécessité de saisie systématique des foies d'équidés de plus de deux ans, surveillance de la contamination du miel et du gibier par le Plomb et le Cadmium hors exigences européennes).

Par ailleurs, les données du plan exploratoire de la recherche du MeHg/HgT ont servi à alimenter les bases de données de contamination, qui sont exploitées par la communauté scientifique pour une meilleure évaluation du risque.

Compte tenu du taux significatif de non-conformités en Plomb dans le muscle de gibier, un travail collaboratif entre la DGAL, les services déconcentrés, les laboratoires d'analyse et le LNR, a été initié et doit être poursuivi afin d'identifier l'origine de la contamination, environnementale ou essentiellement liée aux pratiques de chasse (balles en plomb) et de mettre en œuvre des mesures en adéquation avec les risques identifiés. Il s'agit d'assurer une traçabilité accrue du dispositif conformément aux consignes et recommandations en vigueur (prélèvement hors trajet de balle par les services déconcentrés puis par les laboratoires, signalement par les laboratoires, le cas échéant, de résultats d'analyses hétérogènes en lien avec la pulvérisation des balles en Plomb dans la matrice, non visible à l'œil nu), signalement de toute irrégularité par l'ensemble des acteurs concernés. De plus, la DGAL a saisi l'Anses sur le risque sanitaire lié à la consommation de gibier au regard des contaminants chimiques environnementaux (dioxines, polychlorobiphényles (PCB), Cadmium et Plomb).

D'autres actions pourraient être menées afin d'optimiser le système de manière générale, notamment en menant une réflexion sur les critères de ciblage des prélèvements des plans de contrôle qui sont difficiles à prendre en compte, compte tenu du manque d'instructions et d'indications précises ainsi que des difficultés de mise en œuvre sur le terrain.

La qualité des données est également un point à améliorer afin d'optimiser l'exploitation des données des PSPC; la mise en place d'un outil informatique permettant le suivi qualitatif des données des PSPC à l'aide d'indicateurs a également été initiée par l'Anses par le biais d'une convention entre la DGAL et l'Anses.

5. Alara: « *As Low As Reasonably Achievable* », qui se traduit en français par « Aussi bas que raisonnablement possible ».

Tableau 1. Données moyennes de contamination en HgT et MeHg dans les poissons

	Valeurs moyenne de contamination (mg/kg)			
	Tous poissons (n = 59)	Poissons non prédateurs (n = 23)	Poissons prédateurs (n = 36)	Poissons prédateurs hors espadon et requin (n = 19)
MeHg (mg/kg)	0,33	0,12	0,46	0,21
HgT (mg/kg)	0,37	0,14	0,51	0,24

# Surveillance des phycotoxines dans les coquillages

Marina Nicolas (1) (marina.nicolas@anses.fr), Catherine Belin (2), Pauline Favre (3), Laurence Rudloff (3)

(1) Anses, Laboratoire national de référence Biotoxines marines, Maisons-Alfort, France

(2) Ifremer, Nantes, France

(3) Direction générale de l'Alimentation, Sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments, Bureau des produits de la mer et d'eau douce, Paris, France

## Résumé

Cet article présente le dispositif national de surveillance de trois groupes de biotoxines marines réglementées dans les coquillages mis en œuvre, d'une part au niveau de zones marines de production par le réseau Rephy-Rephytox de l'Ifremer et, d'autre part au stade de la distribution par le réseau des laboratoires agréés de la direction générale de l'Alimentation dans le cadre des plans de surveillance et des plans de contrôle mis en place chaque année. La réglementation européenne, la nature des phycotoxines recherchées et les méthodes analytiques mises en œuvre sont présentées. Les modalités et la stratégie d'échantillonnage pour chacun des deux dispositifs sont décrites. Les résultats obtenus en 2015 sont exposés et discutés.

## Mots-clés

Phycotoxines, coquillages, toxines lipophiles, ASP, PSP, surveillance

## Abstract

### Surveillance of phycotoxins in shellfish

This paper presents the French national system for monitoring three groups of marine biotoxins regulated in shellfish, implemented firstly in marine production areas by the REPHY REPHYTOX network of IFREMER and secondly at distribution level through the network of laboratories accredited by the Directorate General for Food within the framework of official controls. The European regulations, the nature of the shellfish toxins, and analytical methods used are presented. The sampling procedures and strategy, as well as the results obtained by each of the two systems mentioned, are presented and discussed.

## Keywords

Phycotoxins, Shellfish, Lipophilic toxins, ASP, PSP, Surveillance

Les coquillages, du fait de leur contact direct avec le milieu marin et de leur activité de filtration (pour les coquillages filtreurs), concentrent les contaminants présents dans le milieu et notamment les phycotoxines (toxines d'algues produites par le phytoplancton toxique).

Les phycotoxines suivantes sont réglementées dans les coquillages au titre du Paquet hygiène (règlement (CE) N° 854/2004 du 29 avril 2004) :

- toxines lipophiles incluant les DSP (Diarrhetic Shellfish Poison) (acide okadaïque, dinophysistoxines, pectenotoxines, yessotoxines et azaspiracides), produites notamment par *Dinophysis*. Elles sont susceptibles de produire chez le consommateur des troubles digestifs d'apparition rapide (30 minutes à 12 h après ingestion), sans gravité le plus souvent, excepté pour des personnes présentant un état de santé fragile;
- toxines amnésiantes ou ASP (Amnesic Shellfish Poison) (acide domoïque), produites en France par *Pseudo-nitzschia*. Elles sont susceptibles de produire chez le consommateur des troubles neurologiques d'apparition généralement rapide (15 minutes à 38 h après ingestion), potentiellement graves, car des convulsions et un coma peuvent entraîner le décès du patient;
- toxines paralysantes ou PSP (Paralytic Shellfish Poison) (saxitoxine), produites en France par *Alexandrium*. Elles sont susceptibles de produire chez le consommateur des troubles neurologiques d'apparition rapide (30 minutes à 12 h après ingestion), potentiellement graves, car une paralysie des muscles respiratoires peut entraîner le décès du patient.

Les teneurs maximales réglementaires dans les coquillages sont prescrites dans le règlement (CE) N° 853/2004 du 29 avril 2004 (annexe III, section VII, chapitre V) (Tableau 1).

Ces phycotoxines sont suivies dans les coquillages grâce à deux dispositifs complémentaires :

- d'une part au niveau des zones marines de production, via le dispositif Rephy-Rephytox de l'Ifremer, respectivement Réseau d'observation et de surveillance du phytoplancton et de l'hydrologie dans les eaux littorales, et Réseau de surveillance des phycotoxines dans les organismes marins,
- et d'autre part au stade de la mise sur le marché via les plans de surveillance et plans de contrôle (PSPC) mis en place par la DGAL.

## Surveillance des phycotoxines dans les coquillages au niveau de leurs zones marines de production (dispositif Rephy-Rephytox)

### Matériel et méthode

Les zones de production de coquillages sont contrôlées régulièrement afin de s'assurer de la qualité des coquillages qui en sont issus. Les modalités de surveillance phycotoxinique des zones de production de coquillages sont décrites dans le cahier de procédures Rephytox de l'Ifremer (Neaud-Masson & Belin)<sup>(1)</sup>

La surveillance des phycotoxines est étroitement liée à la surveillance du phytoplancton toxique, réalisée dans le cadre du Rephy, dont les procédures sont en cours de refonte<sup>(2)</sup>.

Des procédures Rephy-Rephytox locales précisent, le cas échéant, ces dispositions nationales.

1. [http://envlit.ifremer.fr/content/download/83181/601705/version/9/file/Cahier-Procédures-REPHYTOX\\_v1.pdf](http://envlit.ifremer.fr/content/download/83181/601705/version/9/file/Cahier-Procédures-REPHYTOX_v1.pdf).

2. [http://envlit.ifremer.fr/surveillance/phytoplancton\\_phycotoxines/mise\\_en\\_oeuvre](http://envlit.ifremer.fr/surveillance/phytoplancton_phycotoxines/mise_en_oeuvre).

Tableau 1. Seuils réglementaires des phycotoxines dans les coquillages

Nom des groupes de toxines	Seuil réglementaire	
Saxitoxines (toxines à effet PSP)	800 µg/kg de chair	
Acide domoïque (toxines à effet ASP)	20 mg/kg de chair	
Toxines lipophiles	Groupe acide okadaïque	160 µg d'équivalent d'acide okadaïque/kg de chair (pour l'ensemble de l'acide okadaïque, des dinophysistoxines et des pectenotoxines)
	Azaspiracides	160 µg d'équivalent azaspiracide/kg de chair
	Yessotoxines	3,75 mg d'équivalent yessotoxines/kg de chair

### Objectifs

Le réseau Rephytox a pour objectif de détecter et de suivre les phycotoxines réglementées dans les coquillages présents dans les zones marines de production. Il est étroitement lié au réseau Rephy, qui inclut dans ses missions la détection et le suivi des espèces phytoplanctoniques productrices de toxines susceptibles de s'accumuler dans les coquillages.

Les plans de surveillance de la DGAL (dispositif PSPC) relatifs aux phycotoxines dans les coquillages viennent compléter le dispositif de surveillance Rephy-Rephytox des coquillages dans le milieu marin. L'objectif de ces plans est d'évaluer le taux de contamination des coquillages mis sur le marché par les phycotoxines et par conséquent, l'exposition du consommateur.

### Cadre de la programmation

Références réglementaires

- Règlement (CE) N° 853/2004 du 29 avril 2004 (annexe III, section VII, chapitre V)
- Règlement (CE) N° 854/2004 (annexe II, chapitre II, point B)
- Règlement (CE) N° 854/2004 (annexe II, chapitre II point D.2)

### Protocole

- Nature des contaminants recherchés: les trois familles de toxines réglementées, c'est-à-dire toxines lipophiles (acide okadaïque, dinophysistoxines, pectenotoxines, yessotoxines et azaspiracides), toxines amnésiantes du groupe de l'acide domoïque, toxines paralysantes du groupe de la saxitoxine.
- Productions concernées (« population »): coquillages.
- Stade de la chaîne alimentaire: coquillage prélevé directement dans son milieu naturel de production (milieu marin) pour ce qui concerne

le suivi REPHYTOX, coquillages mis sur le marché pour les plans de surveillance.

- Définition du « cas »: échantillon contaminé par des phycotoxines réglementées au-delà des seuils fixés par la réglementation européenne.
- Nombre d'échantillons et modalité d'échantillonnage: entre 2 500 et 3 000 échantillons analysés chaque année pour le suivi Rephytox, la moitié au moins concernant les toxines lipophiles. Environ 1 000 échantillons par an pour le plan de surveillance.
- Stratégie d'échantillonnage: ciblée pour le suivi Rephytox, aléatoire pour les plans de surveillance, le nombre d'échantillons à prélever par région étant proportionnel à la population humaine.
- Méthode analytique, nature du prélèvement:
  - > Recherche (détection et quantification) des toxines lipophiles<sup>(1)</sup> par analyse chimique (chromatographie liquide associée à une détection par spectrométrie de masse en tandem).
  - > Recherche des toxines du groupe de la saxitoxine par bio-essai, dont la quantification repose sur les temps de survie de souris auxquelles on injecte un extrait de coquillages.
  - Recherche des toxines du groupe de l'acide domoïque (acide domoïque et son épimère acide épi-domoïque) par analyse chimique (chromatographie liquide associée à une détection par ultraviolet).

1. Sont recherchées les toxines réglementées (acide okadaïque, dinophysistoxines et pectenotoxines - OA+DTXs+PTXs, yessotoxines - YTX et azaspiracides - AZA) et également certaines toxines non réglementées (Spirolides - SPX, Gymnodimines - GTX et Pectenotoxine 2 sécoacide - PTX2sa).

L'objectif de Rephytox est la recherche et le suivi des toxines susceptibles de s'accumuler dans les produits marins de consommation, en particulier les mollusques bivalves, présents dans les zones de production ou dans les gisements naturels exploités professionnellement. Pour répondre à ses objectifs, le Rephytox assure des prélèvements d'échantillons de coquillages dans un réseau de lieux de prélèvement répartis sur l'ensemble du littoral, avec une couverture spatiale qui répond à un double impératif de pertinence scientifique et d'optimisation du rapport coût/efficacité. Les lieux de prélèvement de Rephytox peuvent être communs avec des lieux de Rephy. En tout état de cause, l'association entre lieux Rephytox et un certain nombre de lieux Rephy est étroite, les résultats phytoplancton sur les lieux Rephy d'une zone donnée déterminant le déclenchement de la recherche de toxines sur les lieux Rephytox de la zone. En cas de présence de phytoplancton toxique<sup>(3)</sup> (au-delà des seuils définis pour chacune des espèces toxiques dans les procédures Rephytox), les analyses toxiniques sont déclenchées dans les coquillages à un rythme hebdomadaire.

Dans certains cas, le suivi du phytoplancton toxique n'est pas suffisamment fiable pour garantir la sécurité sanitaire des coquillages de la zone, les analyses de toxines sont alors réalisées systématiquement dans les coquillages. C'est le cas:

- dans les zones à risque pour les toxines lipophiles pendant des périodes à risque prédéterminées. En effet ces zones jugées plus sensibles au vu des données historiques de contamination par les toxines, peuvent connaître une contamination des coquillages, même en présence de très faibles quantités de phytoplancton toxique difficilement détectable ce qui justifie une analyse systématique dans les coquillages,
- dans les gisements au large, qui sont suivis systématiquement pour les trois types de toxines tous les quinze jours (1 mois avant et pendant la période d'exploitation). En effet, dans ce cas la profondeur de la colonne d'eau ne permet pas d'avoir une vision exhaustive de l'ensemble des espèces de phytoplancton présentes.

S'agissant des toxines lipophiles, les moules sont considérées comme une espèce sentinelle, car les données historiques montrent qu'elles se contaminent toujours plus vite que tous les autres coquillages. Quand elles sont présentes dans une zone de production, les moules sont donc analysées en première intention, les autres coquillages étant analysés dès que les moules deviennent toxiques. Il n'y a pas d'espèces sentinelles pour les ASP et PSP.

Environ 250 points d'échantillonnage sont potentiellement mobilisables pour des prélèvements de coquillages sur l'ensemble du littoral français métropolitain. Les prélèvements peuvent concerner divers types de coquillages, en gisements naturels ou bien élevés selon des modes variés (bouchots, filières, tables, etc.).

Les évolutions des modalités de surveillance sanitaire des zones de production de coquillages (modalités d'échantillonnage notamment) sont définies dans le cadre d'un comité de pilotage national (« Copil surveillance sanitaire des zones de production de coquillages ») regroupant les différents acteurs concernés de l'administration (DGAL, DPMA, DGS, Ifremer, Anses, Santé publique France), qui se réunit au minimum une fois par an.

Les méthodes d'analyse utilisées pour le dispositif REPHY REPHYTOX sont les suivantes.

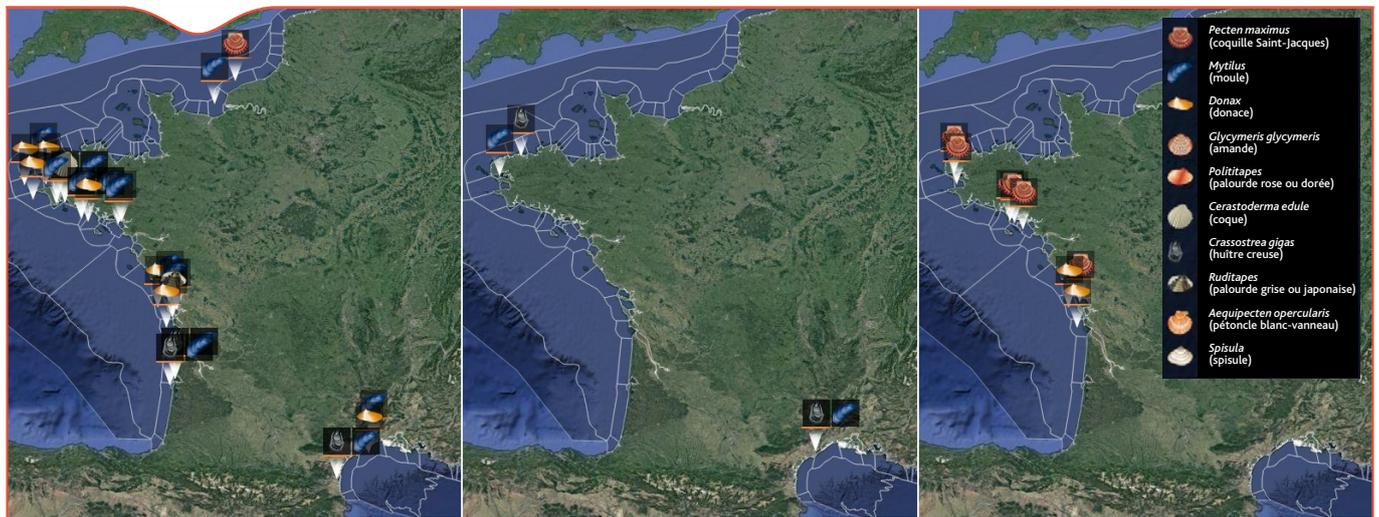
- > Analyse quantitative de l'acide domoïque (toxine ASP) dans les coquillages par chromatographie liquide haute performance avec détection par ultra-violet (CLHP-UV): méthode Anses PBM BM LSA-INS-0140.

**Principe:** l'acide domoïque (AD) et son épimère l'acide épidoïmoïque (si présent) sont extraits à partir d'un tissu homogénéisé avec du méthanol aqueux 50 %. L'extrait est ensuite filtré et analysé par chromatographie liquide haute performance (CLHP) en mode isocratique avec détection UV.

- > Détermination des biotoxines marines lipophiles dans les mollusques par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS): méthode Anses PBM BM LSA-INS-0147.

**Principe:** les toxines des groupes AO, PTX, AZA et YTX sont extraites avec du méthanol à partir d'un tissu homogénéisé. Une aliquote de l'extrait méthanolique est soumise à hydrolyse alcaline pour convertir

3. Les espèces toxiques suivantes sont recherchées: *Alexandrium*, *Dinophysis*, *Pseudo-nitzschia*, *Ostreopsis*, *Gonyaulax spinifera*, *Lingulodinium polyedrum*, *Protoceratium reticulatum*, *Prorocentrum lima*.



**Figure 1.** Répartition géographique des épisodes de toxicité avérée dans les coquillages du littoral, respectivement pour les toxines lipophiles (à gauche), les toxines paralysantes – PSP (au centre) et les toxines amnésiantes – ASP (à droite)

les éventuels esters acylés de l'AO et/ou des DTX en toxines libres. Les extraits sont ensuite purifiés par SPE (étape optionnelle) et analysés par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) en gradient d'éluant. Les extraits non-hydrolysés permettent de rechercher la présence d'AO libre, de DTX1 libre et de DTX2 libre, de PTX1, de PTX2, d'AZA1, d'AZA2, d'AZA3, de YTX, d'homo YTX, de 45 OH YTX et de 45 OH homo YTX; les extraits hydrolysés permettent de déterminer la quantité totale des toxines du groupe AO.

> Bio-essai sur souris pour la détermination des toxines de la famille de la saxitoxine (phycotoxines paralysantes, PSP) dans les coquillages - méthode Anses PBM BM LSA-INS-0143.

**Principe :** la méthode par bio-essai sur souris comporte une étape d'extraction des toxines de la chair par hydrolyse acide à chaud, suivie par une injection par voie intra-péritonéale (ip) de 1 ml d'extrait à au moins trois souris. Le temps de survie, délai compris entre l'injection et la mort, est noté et la toxicité déterminée en unités souris (US) à partir du tableau de Sommer.

Le bio-essai est quantitatif lorsque la mort des souris survient entre cinq et sept minutes après injection. Plusieurs dilutions peuvent être nécessaires pour obtenir un temps de survie cinq et sept minutes. Les US sont ensuite converties en  $\mu\text{g}$   $\text{eq. STX diHCl/kg}$ .

Le laboratoire national de référence (LNR) Biotoxines Marines pilote trois réseaux de laboratoires agréés, un par type de phycotoxines analysées: réseau toxines ASP, réseau PSP et réseau toxines lipophiles. Ces réseaux intègrent des laboratoires de l'Ifremer pour la surveillance des zones de production.

## Résultats (année 2015)

### Toxines lipophiles

Sur les 1300 analyses réalisées pour ces toxines, 140 résultats (soit 11 %) étaient non-conformes (c'est-à-dire supérieurs au seuil réglementaire de  $160 \mu\text{g/kg}$ ), pour la famille acide okadaïque + dinophysistoxines + pecténotoxines. Ce pourcentage est supérieur si on ne considère que les moules: 15 %

Les concentrations maximales détectées au niveau national pour différentes espèces de coquillages sont les suivantes:  $3003 \mu\text{g/kg}$  dans les moules de l'étang de Salses-Leucate (Méditerranée occidentale) en janvier,  $615 \mu\text{g/kg}$  dans les huîtres du Bassin d'Arcachon en mai,  $322 \mu\text{g/kg}$  dans les coquilles Saint-Jacques du Pays de Caux en janvier et  $1315 \mu\text{g/kg}$  dans les donax au large de la Gironde en mai (Figure 1). Pour les familles azaspiracides et yessotoxines, aucun résultat non-conforme n'a été observé en 2015.

### Toxines paralysantes (PSP)

Sur les 529 bio-essais réalisés pour ces toxines, 19 résultats (soit 4 %

[IC95: 2-5]) étaient non-conformes (c'est-à-dire supérieurs au seuil réglementaire de  $800 \mu\text{g/kg}$ ). Ce pourcentage est largement supérieur si on ne considère que les moules: 19 %, sachant que seules les moules et les huîtres ont été contaminées en 2015.

Les concentrations maximales détectées au niveau national pour ces deux espèces de coquillages sont les suivantes:  $3136 \mu\text{g/kg}$  dans les moules de l'étang de Thau (Méditerranée occidentale) en octobre et  $1622 \mu\text{g/kg}$  dans les huîtres de la rivière de Penzé (Bretagne nord-ouest) en juillet (Figure 1).

### Toxines amnésiantes (ASP)

Sur les 661 analyses réalisées pour ces toxines, 40 résultats (soit 6 %) étaient non-conformes (c'est-à-dire supérieurs au seuil réglementaire de  $20 \text{mg/kg}$ ). Ce pourcentage est supérieur si on ne considère que les coquilles Saint-Jacques (10 %), ces coquillages étant les plus contaminés. Les concentrations maximales détectées au niveau national pour les deux espèces de coquillages les plus touchées sont les suivantes:  $284 \text{mg/kg}$  dans les coquilles Saint-Jacques de la rade de Brest en janvier et  $33 \text{mg/kg}$  dans les donax au large de la Gironde en mai (Figure 1).

## Discussion

### Toxines lipophiles

Pour les toxines lipophiles, la configuration des épisodes de toxicité en 2015 est assez similaire à ce qui est observé chaque année. En premier lieu d'un point de vue géographique: i) épisodes peu nombreux en Manche et se situant surtout autour de la baie de Seine, ii) nombreux épisodes en Atlantique, en particulier en Bretagne Ouest et Sud, et dans le bassin d'Arcachon, régions dans lesquelles les toxines lipophiles sont observées de façon récurrente depuis plus de 30 ans, iii) épisodes majoritairement localisés dans les lagunes en Méditerranée. Ensuite d'un point de vue répartition dans l'année: i) pour les coquillages côtiers, les toxicités sont observées à partir du printemps en Atlantique, plutôt l'été en Manche, et plutôt l'hiver dans les lagunes méditerranéennes, ii) pour les pectinidés (coquilles Saint-Jacques surtout), des contaminations peuvent être observées en période de pêche, c'est-à-dire l'hiver. On retrouve comme chaque année les moules en première position de coquillages touchés, sachant que de nombreuses autres espèces de coquillages peuvent être affectés dès lors que les épisodes se prolongent. En considérant les résultats obtenus depuis 2010 (première année d'utilisation d'analyses chimiques pour la détection de ces toxines), les résultats 2015 sont assez élevés pour certains coquillages au regard de la médiane nationale ( $340 \mu\text{g/kg}$ ) calculée sur les valeurs supérieures au seuil sanitaire. Il faut cependant noter qu'ils sont largement inférieurs aux maxima atteints certaines années, en particulier pour certains coquillages: par exemple  $37296 \mu\text{g/kg}$  et  $11755 \mu\text{g/kg}$  respectivement dans les moules et les coques du

bassin d'Arcachon en avril 2012. Pour les familles des azaspiracides et yessotoxines, l'absence de résultat non-conforme en 2015 corrobore les résultats observés pour ces familles de toxines depuis qu'elles sont recherchées sur le littoral français.

### Toxines paralysantes (PSP)

Pour les toxines paralysantes, les trois zones affectées en 2015 (abers bretons, rade de Brest, et étang de Thau en Méditerranée) font partie des quatre zones les plus régulièrement touchées par des épisodes de contamination par des phycotoxines PSP (en ajoutant à celles-ci, la rivière de Penzé en Bretagne Nord-Ouest) depuis 1988<sup>(4)</sup>. Ces épisodes, qui restent donc limités d'un point de vue géographique, demeurent préoccupants étant donné la dangerosité de ces toxines. D'un point de vue répartition dans l'année, les résultats 2015 corroborent ceux observés jusqu'à maintenant : les contaminations sont toujours observées entre juin et septembre en Manche-Atlantique, et toujours entre septembre et décembre pour l'étang de Thau. Des résultats non-conformes n'ont été observés jusqu'à maintenant que dans les moules, les huîtres, les coques ou les palourdes. Les coquillages des gisements au large (dont les coquilles Saint-Jacques) n'ont jamais connu d'épisode PSP. En considérant les résultats obtenus depuis 1990, les résultats 2015 sont assez élevés pour les moules au regard de la médiane nationale (1 622 µg/kg) calculée sur les valeurs supérieures au seuil sanitaire pour tous les coquillages. Il faut cependant noter qu'ils sont largement inférieurs aux maxima atteints certaines années, en particulier pour certains coquillages, par exemple : 11 664 µg/kg dans les moules de la rade de Brest en juillet 2012, 7 360 µg/kg dans les huîtres des abers (Bretagne Nord-Ouest) en août 2001.

### Toxines amnésiantes (ASP)

Pour les toxines amnésiantes, les régions affectées en 2015 (Bretagne Ouest et Sud, Pertuis Charentais) font partie de celles qui sont régulièrement touchées par des épisodes ASP depuis 2000, année de la première apparition de toxines ASP en France. La baie de Seine, et plus rarement la Méditerranée occidentale, sont aussi des zones touchées depuis 2000. D'un point de vue répartition dans l'année, les résultats 2015 corroborent ceux observés jusqu'à maintenant : toute l'année pour les coquilles Saint-Jacques, plutôt entre mars et juin pour les autres coquillages quelle que soit la région. En règle générale, les épisodes ASP touchent majoritairement, sinon exclusivement certaines années, les coquilles St Jacques, et c'est aussi dans ces coquillages que les concentrations les plus élevées sont observées, avec une durée de décontamination particulièrement longue, pouvant se prolonger de nombreux mois. D'autres coquillages peuvent être touchés comme les moules, les huîtres, les donax ou les palourdes, mais avec des concentrations dépassant rarement 100 mg/kg, et surtout des durées de décontamination souvent très courtes. En considérant les résultats sur la période 2000-2015, les résultats 2015 pour les coquilles Saint-Jacques sont assez élevés au regard de la médiane nationale (41 mg/kg) calculée sur les valeurs supérieures au seuil sanitaire pour ces coquillages. Ils sont cependant inférieurs aux maxima atteints certaines années, le record étant de 861 mg/kg en rade de Brest en avril 2014.

Les historiques de contaminations par les trois familles de toxines sont disponibles sur : <http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/parammaps/toxines/index.html#>

4. Année de la première apparition de toxines PSP en France.

## Surveillance des phycotoxines dans les coquillages au stade de leur mise sur le marché (dispositif PSPC)

### Matériel et méthode

Les plans de surveillance de la contamination des coquillages par les phycotoxines à la distribution, mis en place par la DGAL, viennent compléter le dispositif de surveillance Rephy-Rephytox.

Ils s'inscrivent dans le cadre général de la vérification de la conformité des denrées alimentaires qui relève de la responsabilité des autorités compétentes. Les critères réglementaires concernant les phycotoxines dans les coquillages au niveau de la distribution sont décrits dans l'annexe II, chapitre II point D.2 du Règlement (CE) N° 854/2004.

L'objectif de ces plans est également d'évaluer le niveau de contamination par les phycotoxines des coquillages mis sur le marché. Les résultats contribuent, par conséquent, à l'estimation de l'exposition du consommateur. En 2015, 918 prélèvements ont été programmés par la DGAL sur l'ensemble de l'année, avec une répartition régionale établie proportionnellement à la population humaine, soit 306 prélèvements respectivement pour la recherche des toxines ASP, PSP et lipophiles.

Les prélèvements ont été réalisés aléatoirement au stade de la distribution, dans les grandes et moyennes surfaces (GMS) ou dans les magasins de détail (poissonneries) : il s'agissait d'échantillons de mollusques bivalves vivants d'élevage (conchyliculture) ou de pêche, de préférence en provenance de France ou d'autres États membres de l'Union européenne.

Les prélèvements réalisés ont été transmis aux réseaux de laboratoires agréés, selon le type de phycotoxines à rechercher. Les méthodes d'analyse utilisées ont été les mêmes que celles mises en œuvre pour le dispositif Rephy-Rephytox.

### Résultats

Sur les 918 prélèvements de coquillages réalisés, 897 ont donné lieu à un résultat analytique. Le taux de réalisation des analyses est de 97,7 %. Sur l'ensemble des 897 résultats d'analyses, trois dépassements des seuils réglementaires ont été observés, soit un taux de non-conformité de 0,33 % (IC<sub>95</sub>-[0,11-0,98])<sup>(5)</sup> pour les trois familles de toxines réglementées. Le **Tableau 2** présente les résultats de manière globale.

### Toxines amnésiantes (ASP)

Sur 301 prélèvements, 297 ont été analysés. Aucun dépassement du seuil en acide domoïque n'a été mis en évidence, ce qui correspond à un taux de conformité de 100 % (IC<sub>95</sub>-[98,7-100]) des échantillons pour cette famille de toxines.

### Toxines paralysantes (PSP)

Sur 303 prélèvements, 300 ont été analysés. Aucun dépassement du seuil en saxitoxine n'a été mis en évidence, ce qui correspond à un taux de conformité de 100 % (IC<sub>95</sub>-[98,7- 100 %]) des échantillons pour cette famille de toxines.

5. IC<sub>95</sub>. Intervalle de confiance à 95 %.

**Tableau 2.** Répartition des prélèvements et résultats par type de matrice et par analyte

	Nombre de prélèvements					Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons non-conformes	Taux de conformité (%)
	Moule	Huître	Coquille St Jacques (CSJ)	Autre*	Total			
Toxines ASP	162	56	7	76	301	297	0	100
Toxines PSP	179	66	3	55	303	300	0	100
Toxines lipophiles	199	55	7	48	309	300	3 (moules)	99
<b>Total</b>	<b>540</b>	<b>177</b>	<b>17</b>	<b>179</b>	<b>913</b>	<b>897</b>	<b>3</b>	<b>99,6</b>

\* Amandes, prairies, pétoncles, coques, palourdes ou absence d'espèce indiquée.

## Toxines lipophiles

Sur les 309 prélèvements, 300 ont été analysés. trois dépassements du seuil en toxines lipophiles du groupe de l'acide okadaïque (AO+DTXs+PTXs) ont été détectés, ce qui correspond à un taux de non-conformité de 1 % (IC<sub>95</sub>-[0,34-2,90]) des échantillons pour cette famille de toxines.

Dans le 1<sup>er</sup> cas, il s'agissait de moules vivantes en vrac originaires d'Espagne, ayant présenté une teneur supérieure au seuil réglementaire (170,3 µg d'équivalent d'acide okadaïque/kg). À la suite de cette non-conformité, ces moules ont fait l'objet d'un retrait et rappel avec information aux consommateurs.

Dans le 2<sup>e</sup> cas, il s'agissait de moules vivantes originaires d'Espagne ayant présenté une teneur supérieure au seuil réglementaire (204,1 µg d'équivalent d'acide okadaïque/kg). À la suite de cette non-conformité, ces moules ont fait l'objet d'un retrait et rappel avec information aux consommateurs. Au vu de ce résultat non conforme et de la fermeture de la zone de provenance peu de temps après la récolte, une information a été adressée aux autorités espagnoles via le RASFF<sup>(6)</sup>.

Dans le 3<sup>e</sup> cas, il s'agissait de moules vivantes originaires d'Irlande ayant présenté une teneur supérieure au seuil réglementaire (230,1 µg d'équivalent d'acide okadaïque/kg). Il n'a pas été possible de prendre des mesures de gestion en France directement sur les lots des produits concernés par cette non-conformité. Les moules avaient été entièrement distribuées et consommées. Une information a été adressée aux autorités irlandaises via le RASFF.

Par ailleurs, sur l'ensemble des résultats, on constate que 87,6 % (263/300) des échantillons ne présentaient pas de teneur en toxines lipophiles quantifiable.

Pour l'acide okadaïque, les dinophysistoxines et les pectenotoxines pris ensemble, 28 échantillons présentent une teneur en toxines quantifiable inférieure au seuil réglementaire de 160 µg d'équivalent d'acide okadaïque/kg de chair:

- 15 échantillons présentaient une teneur en toxines comprise entre la limite de quantification et 45 µg d'équivalent d'acide okadaïque/kg de chair,
- 13 échantillons présentaient une teneur en toxines comprise entre 45 et 160 µg d'équivalent d'acide okadaïque/kg de chair.

Pour les azaspiracides, seul un échantillon présentait une teneur en toxines quantifiable et inférieure au seuil réglementaire de 160 µg d'équivalent d'azaspiracides/kg de chair. Il s'agissait d'un échantillon de moules originaires des Pays-Bas avec une teneur de 80 µg d'équivalent azaspiracides/kg.

Pour les yessotoxines, cinq échantillons présentaient une teneur en toxines comprise entre la limite de quantification et 1711 µg d'équivalent yessotoxines/kg de chair. Il s'agissait de trois échantillons de moules provenant d'Italie, un échantillon de moules provenant du Danemark et un échantillon de moules provenant de France (étang de Diana en Corse).

6. Système d'alerte rapide pour les produits destinés à l'alimentation humaine et animale.

## Discussion

Les résultats du plan de surveillance 2015 de la contamination des coquillages par les phycotoxines à la distribution indiquent, comme pour les années précédentes, que le taux de contamination des mollusques bivalves par les phycotoxines est faible, avec un taux global de non-conformité de 0,33 % (IC<sub>95</sub>-[0,11-0,98]). Les résultats de ce plan de surveillance indiquent que la surveillance des zones marines de production par l'Ifremer, associée à des mesures de gestion, assurent un bon statut sanitaire des produits nationaux mis sur le marché. Les trois seules non-conformités détectées dans le cadre du plan de surveillance concernaient des coquillages en provenance d'autres États membres de l'Union européenne, qui n'ont donc pas été produits et surveillés dans les zones marines françaises.

En complément, le plan de surveillance permet de réaliser une vérification de la conformité des produits mis sur le marché français, qu'ils soient produits au niveau national ou importés. La combinaison des deux dispositifs de surveillance permet d'assurer un niveau élevé de protection du consommateur.

Seul un échantillon de coquillages français (moules de l'île de Groix) a été impliqué dans un cas de toxi-infection alimentaire collective en 2015, ce qui confirme l'efficacité du dispositif national de surveillance et en particulier de la surveillance en amont au niveau des zones de production.

En 2016, la DGAL a décidé de surveiller exclusivement la contamination des moules par les phycotoxines lipophiles au stade de la distribution. En effet, les résultats des dispositifs de surveillance RePHYTOX mis en place montrent que les moules sont les mollusques bivalves les plus fréquemment contaminés par les phycotoxines et en particulier par les phycotoxines lipophiles. L'objectif de ce plan est d'évaluer le taux de contamination des moules mises sur le marché par les phycotoxines lipophiles et, par conséquent, l'exposition du consommateur.

## Remerciements

Les laboratoires environnement ressources de l'Ifremer pour la mise en œuvre du réseau RePHYTOX et l'acquisition des données.

## Références bibliographiques

- Neaud-Masson N. & Belin C., 2016. Cahier de Procédures REPHYTOX. Document de prescription. Version 1. Rapport ODE/VIGIES/16-08, juin 2016, 48 p. [http://envlit.ifremer.fr/content/download/83181/601705/version/9/file/Cahier-Procédures-REPHYTOX\\_v1.pdf](http://envlit.ifremer.fr/content/download/83181/601705/version/9/file/Cahier-Procédures-REPHYTOX_v1.pdf).
- Belin C. & Le Magueresse A., 2015. Dossier ParamMaps « Les phycotoxines sur le littoral français. Résultats du réseau de surveillance REPHY pour la période 2003-2014 ». Conception, coordination Ifremer: A. Le Magueresse. Conception graphique, traitement, développement, intégration: Des Mondes Singuliers, S. Langlois et M. Pirio. En cours de mise à jour pour l'année 2015. <http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/parammaps/toxines/index.html#>

# Bilan de surveillance de *Trichinella* spp. chez les animaux de boucherie

Isabelle Vallée (1) (isabelle.vallee@anses.fr), Gina Zanella (2), Pascal Boireau (1)

(1) Anses, Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort, Unité mixte de recherche Bipar (Anses-ENVA-Inra), Laboratoire national de référence Parasites transmis par les aliments, Maisons-Alfort, France

(2) Anses, Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort, Unité d'épidémiologie, Maisons-Alfort, France

## Résumé

Les trichines sont des nématodes parasites zoonotiques des viandes. Les larves musculaires de *Trichinella* spp. sont présentes dans les fibres musculaires et infectent l'hôte définitif lorsque la viande est consommée crue ou peu cuite. *Trichinella* spp. est un parasite majeur des porcins, des carnivores et des omnivores. Il circule dans la faune sauvage et peut ainsi contaminer les animaux domestiques qui seraient en contact avec des cadavres d'animaux. La réglementation impose le contrôle des viandes à l'abattoir et des venaisons destinées à la consommation humaine en dehors du cercle privé familial. Dans ce cas (consommation familiale), le contrôle est recommandé mais non obligatoire. Les foyers de trichinellose humaine survenus en France pendant la période 1975-1999 ont conduit à la mise en place d'un dispositif de surveillance, alliant la formation des techniciens des laboratoires vétérinaires départementaux (LVD), la standardisation et l'harmonisation de la technique de détection directe et la mise en place d'un système d'assurance qualité comprenant l'organisation d'essais inter-laboratoires d'aptitude, la délivrance d'un agrément par le ministère en charge de l'Agriculture et l'accréditation des LVD. Grâce à ce dispositif, les carcasses positives sont identifiées dès l'abattoir et n'entrent pas dans la chaîne alimentaire. Ainsi, les seuls cas de contamination humaine autochtone déclarés depuis 1999 sont liés à la consommation de viande n'ayant pas été contrôlée par les services vétérinaires. Le contrôle officiel des viandes est donc aujourd'hui efficace pour protéger les consommateurs vis-à-vis du risque de contamination par *Trichinella*.

## Mots-clés

Parasites transmis par les aliments, *Trichinella*, zoonoses, détection

## Abstract

### Report on *Trichinella* spp. monitoring in meat

*Trichinella* is a foodborne zoonotic parasitic nematode. The infective muscle larvae of the parasite enter the muscle cells of the host. Infection of humans or animals occurs through the consumption of raw or undercooked meat. *Trichinella* spp. is a major parasite of pigs, carnivores and omnivores. The parasite circulates in wildlife and can thus infect domestic animals in contact mainly with contaminated animals' carcasses. Meat inspection at the slaughterhouse is mandatory under the international and European regulations, as is the inspection of all game animals intended for human consumption. In cases of private consumption, testing for larvae in meat is recommended. During the 1975-1999 period, human trichinellosis outbreaks occurred in France and led to the implementation of a monitoring system including the training of technicians from routine laboratories, standardisation and harmonisation of the network with the gold reference method of artificial digestion, as well as the establishment of a quality assurance programme with ring trials, the certification of routine laboratories by the Ministry of Agriculture, and laboratory accreditation. As a consequence, since 1999 the autochthonous cases of human contamination are linked to consumption of meat not controlled by the veterinary services. The implemented system can thus be considered as effective in protecting consumers from *Trichinella* infections.

## Keywords

Foodborne parasite, *Trichinella*, Zoonosis, Detection

*Trichinella* spp. est un nématode parasite zoonotique transmis par la consommation d'une viande crue ou peu cuite. Ce parasite est d'une part cosmopolite avec une adaptation selon les espèces aux différents climats de la planète, et d'autre part, il présente un large spectre d'hôtes (tous les mammifères mono-gastriques). *Trichinella* spp. circule ainsi à l'échelle mondiale et représente un risque sanitaire pour l'Homme (Encadré 1). Il est de fait régulièrement à l'origine d'épidémies pouvant impliquer un nombre variable de personnes en fonction de l'animal de boucherie infecté.

*Trichinella* spp. demeure un problème de santé publique dans certaines régions du Monde (Amérique latine, Asie, Europe de l'Est et Balkans certaines régions du pourtour méditerranéen (Centre de l'Espagne, Corse, Sardaigne)) ou représente pour d'autres régions un problème économique lié au coût du contrôle obligatoire pour la commercialisation des viandes (Europe de l'Ouest, Amérique du Nord). Ce parasite est effectivement le seul à faire l'objet d'une réglementation européenne et internationale pour les viandes destinées à la consommation humaine.

## Le contrôle officiel des viandes destinées à la consommation humaine

Le dispositif français repose sur la réglementation européenne (EU 2015/1375) renforcée par des notes de services de la direction générale

de l'Alimentation (DGAL) permettant d'adapter cette réglementation (Encadré 2) à la situation épidémiologique nationale et aux conditions d'élevage.

L'exposition des porcs hors-sol à *Trichinella* est considérée comme négligeable au plan européen dès lors que la maîtrise de l'élevage est assurée (règlement EU 2015/1375). Cependant, l'absence de tests sérologiques validés pour assurer une surveillance de ces élevages, ne permet pas pour l'instant d'envisager l'arrêt du contrôle de ces porcins et les pays de l'Union européenne (UE) continuent ce contrôle. La France analyse ainsi en test direct par sondage un animal sur mille afin d'assurer une surveillance des élevages hors-sol. L'élevage plein-air ou familial constitue en revanche un facteur de risque de contamination, c'est pourquoi ces animaux sont contrôlés systématiquement en augmentant la sensibilité du test par augmentation de la masse musculaire analysée (Tableau 1).

La recherche directe de larves L1M de *Trichinella* spp. est imposée pour les viandes chevalines et le gibier sensible à ce parasite comme les sangliers. Pour ce qui est des sangliers sauvages, l'analyse est obligatoire pour les venaisons commercialisées en circuit court (remise directe aux commerces de détail, restaurateurs, repas de chasse ou associatif, note de service DGAL/SDSSA/N2008-8250). L'analyse de la viande est fortement recommandée pour les sangliers sauvages destinés à une consommation dans un cercle familial. Néanmoins, la proportion de sangliers sauvages réellement contrôlés reste difficile à évaluer

## Encadré 1. La trichinellose

*Trichinella* spp. est un parasite nématode, responsable de la trichinellose, une zoonose majeure ayant pour origine la consommation d'une viande consommée peu cuite ou crue (Anses, 2011). L'Homme (ou l'animal, hôte définitif) s'infeste en consommant de la viande infectée par des larves L1 musculaires (L1M) de *Trichinella* spp. Ces larves sont libérées dans l'estomac puis migrent vers l'épithélium de l'intestin grêle où elles vont muer jusqu'au stade adulte sexuellement différencié. Les femelles fécondées émettront des larves L1 nouveau-nés (L1NN) au niveau de l'épithélium intestinal, celles-ci migreront alors *via* les vaisseaux sanguins et lymphatiques vers leur niche définitive, les fibres musculaires striées squelettiques. Les L1NN vont détourner la fonction musculaire des fibres au profit d'une cellule nourricière et s'installer pour des années en dormance au stade L1M.

Chez l'animal, la trichinellose est asymptomatique sauf de très rares observations. Chez l'Homme, la contamination par *Trichinella* demeure silencieuse pour les faibles doses ingérées de parasite (moins de 100 larves). En revanche si la contamination a été importante ou massive (1000 L1M et au-delà) les signes cliniques caractéristiques plus marqués vont survenir après un court épisode diarrhéique accompagné de douleurs intestinales plus ou moins intenses. La période d'incubation est proportionnelle à la charge parasitaire ingérée et peut varier d'une à quatre semaines. La triade myalgies, œdème de la face et hyperthermie permet de suspecter cliniquement une trichinellose qui sera confirmée par une forte éosinophilie et une sérologie spécifique. La résolution des symptômes s'opère en quelques semaines mais dans 10 à 20 % des cas de trichinellose « chronique » peuvent s'installer avec des douleurs musculaires récurrentes et/ou une gêne persistante de l'accommodation oculaire. Des complications d'encéphalite, de myocardite, de péricardite

et d'insuffisance cardiaque aiguë peuvent survenir lors de très fortes contaminations (Dupouy-Camet *et al*, 2015). Le coût de traitement reste élevé et est estimé à 2000 € en moyenne par patient pris en charge. Il n'existe pas de traitement efficace pour éliminer les L1M installées dans les muscles (à partir d'une quinzaine de jours post-infection), c'est pourquoi le contrôle vétérinaire des carcasses reste le seul moyen de lutte efficace permettant d'éviter les cas humains.

*Trichinella* spp. est le seul parasite transmis par l'aliment soumis à une réglementation européenne (EU 2015/1375) et internationale (OIE, *Codex alimentarius*).

### Épidémiologie

Espèces affectées: les trichines sont des parasites majeurs des porcins puisque ces animaux sont à l'échelle mondiale la principale source de contamination humaine. Les carnivores ou omnivores sauvages sont également source de contamination directe de l'Homme ou indirecte par la contamination de porcins plein-air exposés à des viandes/carcasses parasitées. La plupart des mammifères monogastriques sauvages et domestiques sont susceptibles de s'infester naturellement. Tous les équidés sont sensibles à cette parasitose: chevaux, poneys, ânes, mulets, etc. Neuf espèces et trois géotypes constituent le genre *Trichinella* et ont des répartitions géographiques différentes. Ainsi *T. spiralis* est un parasite cosmopolite rencontré plus fréquemment en Europe et Amérique du Nord. Trois autres espèces de trichine sont rencontrées en Europe (*T. britovi*, *T. nativa* et *T. pseudospiralis*). La prévalence de l'infection parasitaire est plus intense en Europe de l'Est, dans les pays nordiques comme en Finlande, au centre de l'Espagne et en France dans des régions protégées (parcs naturels).

Tableau 1. Masse à analyser en fonction de l'espèce animale, du mode d'élevage et/ou du statut de l'animal

Espèce animale	Type élevage ou statut	Site de prélèvement	Masse minimale à analyser (en g)	Référence
Porcs domestiques	Hors-sol	Piliers du diaphragme	1	Annexe I, chapitre I du règlement UE 2015/1375
		Si absence de piliers du diaphragme • Muscles masticateurs • Langue • Muscles abdominaux • Diaphragme	2	
	Plein-Air ou Reproducteurs	Piliers du diaphragme	2	Notes de service: DGAL N2007-8054 du 27 Fév 2007 et N2007-8161 du 3 Juillet 2007
		Si absence de piliers du diaphragme • Masséters • Langue	4	
Cas particulier	Si viande • site de prélèvement inconnu • destinée à consommation non cuite à cœur	5	Annexe I du règlement UE 2015/1375, § 2b	
Sangliers	/	Langue ou piliers du diaphragme	5	• Note de service DGAL N2007-8003 du 02/01/2007 • Note de service DGAL N2008-8250 du 24/09/2008 • Annexe III du règlement UE 2015/1375
Chevaux	/	Langue ou masséters	10	• Note de service DGAL N2006-8063 du 01/03/ 2006 • Annexe III du règlement UE 2015/1375
Espèces autres	/	Voir annexe III du règlement UE 2015/1375		

puisque toutes les données chiffrées d'animaux sauvages abattus et gérés directement par les chasseurs ou les fédérations de chasse ne sont pas systématiquement répertoriées au niveau des DDecPP.

Les prélèvements musculaires destinés à l'analyse s'effectuent à l'abattoir pour les porcs et les chevaux, ou en atelier de traitement pour les sangliers d'élevage. L'analyse réglementaire des carcasses repose sur un test de digestion artificielle d'échantillons musculaires prélevés à l'abattoir. Ces échantillons peuvent être groupés au sein d'une même analyse et l'on peut ainsi analyser plusieurs animaux en même temps, dès lors que les masses minimales à analyser sont conformes à celles imposées par l'autorité compétente. Cette analyse est une méthode directe qui conduit à l'isolement du parasite (L1M) dans un liquide de digestion chlorhydro-pepsique. La méthode officielle est décrite dans le chapitre I de l'annexe I du règlement EU 2015/1375; elle a également été normalisée récemment au niveau international (ISO 18743-

2015). Les sites de prélèvement musculaire et les masses à analyser sont imposés par la réglementation européenne. Au plan national, la réglementation en vigueur renforce le texte européen notamment pour la viande chevaline en doublant la masse à analyser (Tableau 1).

## La situation épidémiologique en France

### Chez le Cheval

Entre 1975 et 1999, douze foyers de trichinellose humaine ont été provoqués en France et en Italie par la consommation de viande de cheval infestée provenant d'Europe de l'Est ou d'Amérique du Nord (Boireau *et al*, 2000). Ce sont les enquêtes épidémiologiques cas-témoin mises en œuvre pour des foyers importants (plus de 10 cas

cliniques) qui ont permis d'incriminer le Cheval comme source de contamination. En 25 ans, 3326 cas de trichinellose humaine sur un total de 6250 pour toute l'UE ont eu pour origine la viande de cheval. Pas moins de 2296 personnes ont été atteintes en France pendant cette période, les autres cas apparaissant en Italie. Les habitudes alimentaires expliquent l'émergence de cette maladie dans ces deux pays qui sont les seuls au monde à consommer la viande équine peu cuite. Même si la consommation de viande d'origine équine par habitant est plus importante en Belgique (plus du double de celle de la France) la coutume de cuir à cœur la viande de cheval (viande grise) empêche tout risque de transmission du parasite. Les foyers ont à chaque fois eu pour origine un seul cheval infesté, qui pouvait venir de différentes origines géographiques, avec toutefois une légère prédominance des pays d'Europe de l'Est. Le premier cheval naturellement infesté par *Trichinella* a été saisi à l'abattoir de Brescia en Italie en 1988. Des chevaux contaminés ont été irrégulièrement identifiés en France jusqu'à la mise en place du plan d'assurance qualité en 1999 (Encadré 3). Pendant ce même laps de temps huit autres anadémies (contamination à partir d'une même source) sont survenues et ont eu pour origine une taille insuffisante du prélèvement ou une difficulté de standardiser la lecture du test, ce qui a été résolu depuis 1999.

### Chez le Porc

Les données d'analyses officielles françaises pour la recherche de trichinellose porcine sont répertoriées tous les ans par le LNR auprès des DDecPP pour les porcs selon leur catégorie d'élevage (plein-air, hors-sol, reproducteurs), et les sangliers commercialisés en circuit court depuis 1997. Les mesures sanitaires de gestion des élevages de porcs hors-sol (contrôle de l'alimentation, pas de contact avec la faune sauvage, dératisation...) permettent de protéger les animaux vis-à-vis de la contamination par *Trichinella* spp. Ainsi, il n'y a pas eu de cas détecté de trichinellose porcine dans les élevages hors-sol sur le continent à l'exception d'un porc déclaré positif pour *T. spiralis* en

Bretagne en 2007. Ce cas détecté lors d'un autocontrôle de viandes destinées à l'exportation dans le cadre d'un échange commercial bilatéral est resté exceptionnel et inhabituel pour un porc élevé dans ce type d'élevage. L'enquête épidémiologique qui a suivi n'a d'ailleurs pas permis de mettre en évidence d'autres animaux contaminés dans l'élevage, ni dans la faune sauvage (petits rongeurs) environnante de l'élevage. La contamination ponctuelle de ce porc par un petit rongeur pourrait donc être à l'origine de ce cas.

En 2004, deux porcs plein-air ont été identifiés positifs pour *T. britovi* dans la vallée du Haut-Taravo, en Corse qui était jusqu'alors considérée comme exempte de *Trichinella* spp. Ainsi, depuis 2004 ce sont 25 porcs domestiques qui ont été détectés positifs pour *T. britovi* dans cette même région ou dans les vallées voisines. Les enquêtes sérologiques de surveillance sur l'île pendant la période 2006-2008 ont permis de confirmer la circulation à bas bruit du parasite dans les populations de sangliers (*Sus scrofa*) avec une prévalence de 2,01 % (IC 95 %, 1,36-2,86) (Richomme *et al.*, 2010).

### Dans la faune sauvage

Le parasite circule également dans la faune sauvage et des sangliers sont identifiés positifs pour *T. britovi* essentiellement dans le Sud de la France (régions Occitanie et Provence-Alpes-Côte d'Azur). Ainsi, un sanglier positif a été identifié en Ariège (*T. britovi*) en 2007 puis un en 2011 dans le Gard (*T. britovi*) et un en 2012 dans les Alpes-Maritimes (*T. britovi*). Enfin, des renards ont été identifiés infestés en 2008 (3 dans le Var) et en 2013 (1 en Haute-Savoie) mais aussi des loups en 2007 (4 en Savoie), en 2012 (1 en Isère), en 2013 (1 en Haute-Savoie), et dans les Alpes-Maritimes un en 2014 et un en 2015.

## Discussion - Conclusion

L'efficacité du dispositif de surveillance des trichinelloses animales mis en place en France permet d'éviter de nombreux cas humains. On peut effectivement estimer qu'une carcasse de sanglier sera partagée par

### Encadré 3. L'animation d'un réseau de laboratoires agréés

Au quotidien, les laboratoires vétérinaires départementaux (LVD) agréés effectuent le diagnostic de première intention des carcasses. En cas de suspicion sur un résultat, la(les) larve(s) est(sont) adressée(s) au laboratoire national de référence (LNR) pour confirmation de présence de larve(s) de *Trichinella* spp et identification d'espèce. Depuis 1999, le LNR a mis en place un système d'assurance qualité en plusieurs étapes relatives à la formation, à l'harmonisation du test officiel puis à l'organisation d'essais inter-laboratoires d'aptitude (EILA) et enfin l'accréditation des laboratoires officiels.

#### La formation des techniciens

Le LNR organise au moins une fois par an un stage de formation théorique et pratique sur le diagnostic officiel des trichinelloses animales. Ce stage spécialisé de deux jours permet de présenter: le cycle biologique et épidémiologique de *Trichinella* spp., l'anatomie du parasite, la trichinellose humaine, la méthode officielle de digestion artificielle, la gestion de l'assurance qualité dans le cadre de ces analyses, la réglementation en vigueur et la gestion des résultats non négatifs. Il permet également d'aborder les points limitants et les points critiques de la technique de diagnostic. La formation est élargie aux autres parasites susceptibles d'être identifiés au cours d'une analyse trichine comme le trématode *Alaria alata* qui circule notamment dans l'Est de la France dans des populations de sangliers (Portier *et al.*, 2011). Depuis 1999, environ 400 techniciens des LVD ont suivi cette formation.

#### L'harmonisation de la technique de détection et l'organisation d'EILA

La réglementation européenne reconnaît plusieurs techniques mais celle qui est considérée comme étant la référence est la « Méthode de digestion d'échantillons collectifs utilisant un agitateur magnétique » (Annexe I, Chapitre I, EU 2015/1375). Le réseau de laboratoires français a donc été harmonisé pour l'utilisation de cette technique, abandonnant ainsi la trichinelloscopie (nettement moins sensible) et le Trichomatic 35°.

En 2004, le LNR a organisé le premier EILA au niveau national avec pour objectif d'évaluer la mise en œuvre de la méthode officielle dans les

laboratoires participants. La participation à l'EILA est obligatoire pour les LVD, car la conformité des résultats conditionne l'obtention et le maintien de l'agrément délivré par la DGAL (JO 2008). La participation à l'EILA est également indispensable à l'accréditation des LVD et permet le maintien des compétences des personnels habilités. Afin d'organiser ces EILA, le LNR a mis au point une technique originale permettant la préparation d'échantillons de référence de viande contenant un nombre précis de capsules de L1M de *Trichinella spiralis* (Vallée *et al.*, 2007). Grâce à cette méthode, la France a été le premier pays européen à organiser des EILA pour la méthode de détection des larves de *Trichinella* dans la matrice carnée. La performance des LVD agréés s'est très rapidement améliorée puisque dès le deuxième EILA (2<sup>e</sup> semestre 2004) tous étaient capables de détecter des larves présentes dans un échantillon de viande. L'évolution du réseau sur onze années montre bien que la performance des laboratoires est stabilisée avec plus de 80 % des laboratoires agréés ayant une moyenne supérieure à 75 % d'identification des larves dans les échantillons de référence. Ceci témoigne d'un bon niveau de performance correspondant à ce qui est attendu des laboratoires de routine compte tenu de la sensibilité du test (ICT guidelines). Les EILA ont été organisés de manière semestrielle jusqu'en 2011; puis ils sont devenus annuels à partir de 2012 puisque le réseau apparaissait stable depuis quelques années. En 2016, un total de 59 LVD agréés ont participé à l'EILA et ont obtenu des résultats conformes. Ces LVD agréés constituent donc un réseau national performant pour la détection des larves musculaires de *Trichinella* spp. dans les viandes de porcs, de sangliers et de chevaux.

#### L'accréditation des laboratoires

La réglementation impose que les laboratoires agréés soient accrédités afin d'assurer la traçabilité et la bonne exécution des analyses. Depuis 2011, les 59 LVD participant aux EILAs ont donc initié la démarche d'accréditation auprès du Comité français d'accréditation (Cofrac) et l'ensemble du réseau aura cette reconnaissance d'ici la fin de l'année 2016. La méthode accréditée est celle décrite dans la réglementation EU 2015/1375, annexe I, chapitre I qui est reconnue comme étant la méthode de référence (ICT guidelines).

une quinzaine de consommateurs, un porc par une trentaine et un cheval par 400 à 500 (selon les données des derniers foyers humains survenus en France en 1997-1998). Si l'on considère que deux carcasses de chevaux infestées, 29 carcasses de porcs et quatre carcasses de sangliers infestées ont été découvertes entre 1999 et juin 2016 c'est plus de 1900 personnes qui ont été épargnées depuis 1999. Ainsi, on peut considérer que les consommateurs en France, sont protégés vis-à-vis du risque *Trichinella* dès lors que les viandes sont contrôlées par les services officiels.

En revanche, lorsque les carcasses à risque ne font pas l'objet d'un contrôle par les services vétérinaires, il existe un danger pour le consommateur comme le témoigne l'épisode récent de contamination avec trois cas humains confirmés dus à des figatelles consommées non cuites, préparées avec un porc non contrôlé (Ruetsch *et al.*, 2016). Depuis 1999, les principaux cas humains autochtones sont liés à la consommation de sangliers non contrôlés. Bien que la formation des chasseurs intègre le risque de contamination par *Trichinella*, le nombre d'animaux contrôlés dans le cadre d'une consommation privée reste faible. Par ailleurs, des cas importés sont également rapportés avec pour principale source de contamination ces dernières années, la consommation de viande d'ours polaire à la suite de voyages en région arctique (Canada, Groenland). Ainsi, depuis 2004, ce sont 26 cas qui ont été déclarés positifs, dont trois cas liés en 2016 à la consommation de viande d'ours polaire au Groenland (Dupouy-Camet *et al.*, 2016).

Les cas de trichinellose humaine sont répertoriés par le Service de parasitologie de l'Hôpital Cochin, anciennement centre national de référence, qui est devenu laboratoire conventionné avec l'Agence de nationale de santé publique (Santé publique France (ex-INVS)) en charge de la surveillance des trichinelloses humaines (cnrdestrichinella.monsite-orange.fr). Ce laboratoire, le LNR (Anses), la DGAL et Santé publique France travaillent en collaboration étroite dès lors qu'il existe une suspicion ou un cas humain autochtone déclaré afin de définir le plus tôt possible l'espèce parasitaire incriminée (*T. spiralis*, *T. britovi*...), la charge parasitaire des produits consommés, lorsque cela est possible, et enfin de mener une enquête épidémiologique. L'identification de l'espèce de trichines ainsi que la charge parasitaire sont des éléments importants à prendre en considération dans le traitement des patients.

Le LNR est en charge de collecter auprès des DDecPP les données relatives aux contrôles sanitaires « trichine » des animaux ainsi que le nombre total d'animaux abattus dans chaque département. Il serait aujourd'hui nécessaire de faire évoluer ce système de collecte vers un outil informatisé, afin de disposer des données dont la qualité pourrait être vérifiée rapidement. Cela permettrait également d'avoir une meilleure estimation du nombre total d'analyses réalisées par rapport aux animaux enregistrés soit au niveau des abattoirs, soit des ateliers de traitement. Il serait également nécessaire d'intégrer les données concernant les sangliers sauvages gérés directement par les chasseurs ou les fédérations de chasse, afin de pouvoir estimer plus précisément le nombre de ces animaux qui font effectivement l'objet d'un contrôle officiel trichine.

*Trichinella* spp est un parasite qui nécessite une pression de contrôle permanente puisqu'il est impossible de l'éradiquer compte tenu de la grande diversité d'hôtes et de sa circulation dans la faune sauvage à l'échelle mondiale. La lutte contre la trichinellose nécessite d'une part une protection des élevages porcins hors-sol et un contrôle des viandes à risque (cheval, sangliers, porcins plein-air), et d'autre part une information des consommateurs sur les risques liés à des comportements alimentaires qui tendent à consommer des gibiers sous forme peu cuite. *Trichinella* spp. est ainsi au cœur du concept « One Health » intégrant la santé animale, la sécurité alimentaire et la santé publique.

## Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier les différents acteurs du dispositif: les LVD agréés, les personnels du LNR, les services de la DGAL, les collègues de l'Hôpital Cochin.

## Encadré 2.

### Objectifs de la surveillance

- Détecter à l'abattoir les animaux porteurs de larves de *Trichinella* spp. et les éliminer de la chaîne alimentaire.
- Assurer que les animaux à risque pour le consommateur soient contrôlés.

### Cadre de la surveillance

Règlement européen EU 2015/1375

La faune sauvage fait l'objet d'une surveillance événementielle avec la déclaration des cas confirmés de sangliers sauvages chassés et pour lesquels la recherche de larves de trichines est demandée par le chasseur ou la fédération de chasse dont il dépend.

### Organisation du dispositif national

Le réseau de surveillance est constitué des laboratoires vétérinaires départementaux (LVD) agréés et accrédités, du laboratoire national de référence pour les parasites transmis par les aliments (Anses, Maisons-Alfort) et des services concernés de la DGAL. Lorsqu'un LVD met en évidence une larve de nématode en analyse de première intention, celle-ci est adressée au LNR afin d'être identifiée et de confirmer la présence de *Trichinella* spp. Un typage moléculaire d'espèce est également réalisé afin de caractériser l'isolat et d'identifier l'espèce de *Trichinella*. En cas de confirmation, les carcasses incriminées sont retirées de la chaîne alimentaire conformément à la réglementation.

Le LNR assure l'animation du réseau des LVD agréés par l'organisation de:

- stages de formation théorique et pratique des techniciens des LVD, depuis 1999,
- essais inter-laboratoires d'aptitude, depuis 2004 (semestriels jusqu'en 2011, puis annuels),
- apport d'aide scientifique et technique.

La méthode d'analyse a été standardisée au plan international et national puis le réseau des LVD a été harmonisé sur cette méthode. Il s'agit de la méthode réglementaire de digestion artificielle d'échantillons collectifs utilisant un agitateur magnétique décrite dans l'Annexe I du règlement EU 2015/1375. C'est une méthode de détection directe des larves de *Trichinella* à partir d'échantillons musculaires prélevés à l'abattoir ou en atelier de traitement, selon des masses et des sites électifs décrits dans la réglementation européenne, renforcée par des notes de services de la DGAL.

## Références bibliographiques

- Anses, 2011. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments: « *Trichinella*spp. » - janvier 2011: ([www.anses.fr/fr/system/files/MIC2010sa0231Fi.pdf](http://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2010sa0231Fi.pdf)).
- Boireau, P., Vallée, I., Roman, T., Perret, C., Liu Mingyuan, Gamble, H.R., Gajadhar, A., 2000. *Trichinella* in horses: a low frequency with a high human risk. *Vet Parasitol.* 93, 309-320.
- DGAL/SDSPA/2015-69. Instruction technique du 23 janvier 2015. Visite sanitaire porcine: campagne 2015.
- DGAL/SDSSA/N2008-8250. Note de service du 24 septembre 2008. Recherche des larves de trichine sur les viandes de sangliers sauvages commercialisés en circuit court (remise directe aux commerces de détail et restaurant, repas de chasse, repas associatifs).
- Dupouy-Camet, J., Yera, H., Dahane, N., Bouthry, E., Kapel, C.M. 2016. A cluster of three cases of trichinellosis linked to bear meat consumption in the artic. *J. Travel. Med.* 23 (5).
- Dupouy-Camet, J., Lacour, S., Vallée, I., Yera, H., Boireau, P., 2015. Trichinelloses. *EMC Maladies infectieuses* 12 (2), 1-10.
- EU 2015/1375, Règlement d'exécution de la commission du 10 Août 2015 fixant les règles spécifiques applicables aux contrôles officiels concernant la présence de *Trichinella* dans les viandes. *JO L212*, 7-34.
- ICT guidelines. International Commission on Trichinellosis. 2012. Recommendations on Methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. *ICT Standards*. [http://www.trichinellosis.org/uploads/Part\\_2\\_\\_final\\_-\\_Digestion\\_assay\\_\\_final\\_\\_7Feb2012.pdf](http://www.trichinellosis.org/uploads/Part_2__final_-_Digestion_assay__final__7Feb2012.pdf).
- ISO 18743/2015. Norme internationale, Microbiologie de la chaîne alimentaire – Recherche des larves de *Trichinella* dans la viande par une méthode de digestion artificielle. Première édition, 15 Septembre 2015.

JO 2008. Arrêté du 19 décembre 2007 fixant les conditions générales d'agrément des laboratoires d'analyses dans le domaine de la santé publique vétérinaire et de la protection des végétaux. 19 janvier 2008.

Portier, J., Jouet, D., Ferté, H., Gibout, O., Heckmann, A., Boireau, P., Vallée, I., 2011. New data in France on the trematoda, *Alaria alata* (Goeze, 1792) obtained during *Trichinella* inspections. Parasite 18(3), 271-275.

Richomme, C., Lacour, S.A., Ducrot, C., Gilot, E., Casabianca, F., Maestrini, O., Vallée, I., Grasset, A., van der Giessen, J., Boireau, P. 2010. Epidemiological survey of trichinellosis in wild boar (*Sus scrofa*) and fox (*Vulpes vulpes*) in a French insular region, Corsica. Vet Parasitol. 172 (1-2): 150-154.

Ruestsch C, Delaunay P, Armengaud A, Peloux-Petiot F, Dupouy-Camet J, Vallée I, Polack B, Boireau P, Marty P. Inadequate labeling of pork sausages prepared in Corsica causing a trichinellosis outbreak in France. Parasite. 2016; 23-27.

Vallée, I., Macé, P., Forbes, L., Scandrett, B., Durand, B., Gajadhar, A., Boireau, P., 2007. The use of proficiency samples to assess diagnostic laboratories in France performing a *Trichinella* digestion assay. J. Food Protect.70 (7): 1685-1690.

# Epidémiosurveillance de la **cysticercose bovine** en France : situation en 2015

Céline Dupuy (celine.dupuy@agriculture.gouv.fr) (1), Monique Fresnel (1), Pierre Guillet (2), Mylène Auge (3), Luc Serra (3), Claire Morlot (1), Emilie Gay (4)

(1) Ministère de l'Agriculture, de l'Agro-alimentaire et de la Forêt, Direction générale de l'Alimentation, Bureau des établissements d'abattage et de découpe, Paris, France

(2) Ministère de l'Agriculture, de l'Agro-alimentaire et de la Forêt, Bureau de la maîtrise d'ouvrage des systèmes d'information de l'Alimentation, Paris, France

(3) Ministère de l'Agriculture, de l'Agro-alimentaire et de la Forêt, Bureau de la maîtrise d'ouvrage des systèmes d'information de l'Alimentation, Toulouse, France

(4) Unité Épidémiologie, Anses, Laboratoire de Lyon, France

## Résumé

Le déploiement, depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2015, du Système d'information sur l'inspection en abattoir (SIZA) dans tous les abattoirs bovins français a permis la mise en place d'une surveillance annuelle de la prévalence et de l'incidence de la cysticercose bovine. En 2015, la prévalence apparente de la cysticercose bovine (tous types de cysticerques confondus, vivants et calcifiés) était de 0,123 % [0,122-0,123] (IC95) et de 0,0096 % [0,0095-0,0098] pour les cysticerques vivants. La prévalence réelle, prenant en compte la sensibilité estimée de la détection a été estimée à 1,07 % [0,72-1,67] pour les cysticerques quel que soit leur stade de développement et à 0,08 % [0,06-0,13] pour les cysticerques vivants. La comparaison de la prévalence apparente en 2010 et de la prévalence apparente ajustée sur l'âge et le sexe en 2015 a montré une diminution faible mais statistiquement significative sur cette période. Cette diminution pourrait être attribuée soit à une amélioration de la situation vis-à-vis de la cysticercose bovine, soit à une baisse de la sensibilité de détection liée à des modalités de collecte de données différentes. La mise en place, en complément de la surveillance actuelle, d'un dispositif d'identification des élevages dans les zones les plus à risque en France permettrait d'envisager des méthodes de prévention, de lutte et de détection plus adaptées.

## Mots-clés

Cysticercose bovine, Surveillance, France

## Abstract

### **Epidemiological monitoring of bovine cysticercosis in France: situation in 2015**

The French national meat inspection database (SIZA) was launched in all French cattle slaughterhouses on 1st January 2015. It has enabled the surveillance of annual bovine cysticercosis prevalence and incidence rates. In 2015, raw apparent prevalence was 0.123% [0.122-0.123] (95 CI) for both viable and degenerated cysts and 0.0096% [0.0095-0.0098] for viable cysts. True prevalence was estimated at 1.07% [0.72-1.67] and 0.08% [0.06-0.13] for both viable and degenerated cysts and for viable cysts respectively. The comparison of raw apparent prevalence in 2010 and adjusted prevalence for age-sex in 2015 showed a slight but statistically significant decrease during this period. This decrease could be attributed either to an improvement in the bovine cysticercosis situation or to lower meat inspection detection sensitivity in 2015 due to a difference in data collection methodologies. The implementation, in addition to the current surveillance system, of a method for identifying farms/areas at higher risk for infestation in France could enable the development of more appropriate prevention and control measures.

## Keywords

Bovine cysticercosis, Surveillance, France

La cysticercose (Encadré 1) a un impact économique important pour la filière bovine à cause des saisies et dépréciations des carcasses consécutives à l'assainissement par le froid. Ces enjeux économiques et le caractère zoonotique de cette infestation justifient la mise en place de dispositif de surveillance épidémiologique contribuant à mieux gérer le risque (Encadré 2). Pour cela il est nécessaire d'utiliser des informations collectées à l'abattoir qui étaient jusqu'à récemment très difficiles à recueillir. En 2010, une enquête ponctuelle avait été menée pour collecter l'ensemble des informations relatives à la cysticercose bovine dans les abattoirs français via un questionnaire, mais cette démarche est fastidieuse et n'est pas comparable un système de surveillance pérenne.

Le 1<sup>er</sup> janvier 2015, le ministère en charge de l'Agriculture a déployé le Système d'information sur l'inspection en abattoir (SIZA) dans tous les abattoirs de France métropolitaine et d'Outre-mer. Cette application permet l'enregistrement et la centralisation les résultats des inspections ante et *post-mortem* pour les animaux ayant présenté une anomalie (signes cliniques en ante-mortem/lésion en *post-mortem*). Il doit être utilisé dans tous les abattoirs bovins. SIZA a été conçu pour faciliter le travail des agents des services d'inspection en abattoir en leur permettant l'édition immédiate de registres, de notifications (par ex. certificats de saisie) et de courriers. Une application nommée Dedal (Décisionnel de l'alimentation) a également été conçue pour leur permettre d'accéder aux résultats de requêtes préétablies. L'utilisation directe des données enregistrées pour l'édition de documents officiels

## Encadré 1. La cysticercose bovine

La cysticercose à *Cysticercus bovis* (*C. bovis*) est une zoonose parasitaire impliquant le bovin comme hôte intermédiaire et l'Homme comme hôte définitif (Figure 1). Les bovins s'infestent principalement en s'alimentant sur des pâtures infestées par des œufs de *C. bovis* issus de l'excrétion du parasite par l'Homme, notamment à la suite de l'épandage de boues de station d'épuration mal traitées (Cabaret *et al.*, 2002). Les larves de *C. bovis* migrent ensuite du tube digestif vers les muscles où elles s'enkystent en cysticerques. Les cysticerques restent vivants pendant quelques mois puis dégénèrent et se calcifient au plus tard neuf mois après ingestion. L'Homme s'infeste par ingestion de cysticerques vivants lors de la consommation de viande parasitée, crue ou mal cuite. Un ténia adulte se développe alors en deux ou trois mois (ver solitaire) entraînant la libération de proglottis dans les fèces, ce qui est source d'inconfort (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 2000).

Chez l'animal, l'infestation étant asymptomatique, sa détection n'est possible qu'à l'abattoir lors de l'inspection *post-mortem*. Tout bovin abattu fait l'objet d'une inspection visuelle du cœur, de la langue, des masséters, de l'œsophage et du diaphragme ainsi que d'incisions musculaires obligatoires (Parlement européen, 2004). Les carcasses infestées font l'objet d'une saisie totale en cas d'infestation massive. Lors d'infestation localisée, une saisie partielle ou un assainissement par le froid sont effectués. La mise sur le marché de carcasses infestées s'explique par la faible sensibilité de l'inspection en abattoir entraînant la mise sur le marché de carcasses infestées. L'homme se contamine ensuite par la consommation de viande bovine peu cuite.

d'une part et la possibilité d'accéder à des rapports de données agrégées d'autre part, sont des atouts pour garantir à la fois la pérennité de l'enregistrement des informations et leur qualité.

Cet article présente la situation épidémiologique de la cysticerose bovine en 2015 à partir des données de SI2A en comparaison avec les données issues de l'étude conduite en 2010, en utilisant des indicateurs épidémiologiques ajustés sur l'âge et le sexe, deux facteurs importants à prendre en compte dans le calcul de la prévalence de cette affection pour limiter les biais d'interprétation (Dupuy *et al.*, 2014b).

## Matériel

Les données de prévalence et la distribution de la population bovine vis-à-vis de l'âge et du sexe en 2010 sont issues de l'article de Dupuy *et al.* (2014a). Pour l'année 2015, les données relatives aux bovins ayant fait l'objet d'une décision d'inspection *post-mortem* pour l'un des motifs suivants : cysticerose musculaire localisée forme vivante ; cysticerose musculaire localisée forme dégénérée ; cysticerose musculaire généralisée, ont été extraites de SI2A. Les données de la Base nationale d'identification des bovins (BDNI) ont été utilisées pour obtenir les informations relatives à la date de naissance, la date d'abattage et le sexe de tous les bovins abattus sur cette période.

## Méthode

La prévalence apparente, la prévalence réelle et la prévalence apparente ajustée sur l'âge et le sexe ont été calculées pour l'année 2015. La prévalence apparente est définie comme le nombre de bovins détectés avec au moins une lésion de cysticerose à l'abattoir divisé par le nombre total de bovins abattus. La prévalence réelle a été calculée en divisant la prévalence apparente par la probabilité de détection de la cysticerose, estimée par l'Efsa à 11,5 % [7,4-17,1]) (Dupuy *et al.*, 2012).

L'âge et le sexe ont été identifiés comme les principaux facteurs individuels associés à une variabilité quant à la présence de lésions de cysticerose à l'abattoir. D'importantes fluctuations dans le temps des proportions de bovins abattus vis-à-vis de l'âge et du sexe pouvant être observées, un ajustement des données de prévalence sur ces variables est nécessaire pour permettre une comparaison des prévalences d'une année sur l'autre, sans biais lié à une fluctuation de la typologie de la population abattue.

La prévalence ajustée sur une variable combinée Âge-Sexe a donc été calculée par standardisation directe. La population de bovins abattus lors de l'année 2010 a été définie comme la population de référence, et les données de population de bovins abattus en 2015 ont été ajustées par pondération sur la distribution des bovins abattus en 2010 vis-à-vis de la variable Âge-Sexe.

Pour cette standardisation, les classes d'Âge-Sexe suivantes ont été utilisées : 0-8 mois-Femelle ; 0-8 mois Mâle ; 8-24 mois Femelle ; 8-24 mois Mâle ; 2-3,5 ans-Femelle ; 2-3,5 ans-Mâle ; 3,5-5 ans-Femelle ; 3,5-5ans-Mâle ; 5-10 ans- Femelle ; 5-10 ans-Mâle ; >10 ans-Femelle ; >10ans-Mâle.

Le taux standardisé de cysticerose (TSC) permet de quantifier la différence observée entre deux prévalences ajustées. Il est construit par standardisation indirecte (Bouyer *et al.*, 2009 ; Breslow and Day, 1987). La population de bovins abattus en 2010 a été définie comme la population de référence et la distribution de la population vis-à-vis de l'Âge-Sexe en 2015 a été utilisée pour estimer le nombre attendu de bovins présentant des lésions de cysticerose en 2015 si la prévalence ajustée sur l'Âge-Sexe était similaire à celle de 2010. Ce dernier a donc été obtenu en multipliant pour chaque modalité de la variable Âge-Sexe, le nombre de bovins observé présentant des lésions de cysticerose en 2010 par le rapport entre le nombre de bovins abattus en 2015 et 2010. Le TSC a ensuite été défini comme le rapport entre le nombre observé de bovins avec une lésion de cysticerose en 2015 divisé par le nombre attendu de bovins présentant des lésions de cysticerose en 2015.

## Encadré 2.

### Objectifs

Les objectifs du dispositif d'épidémiologie de la cysticerose est d'assurer dans un premier temps un suivi de l'incidence et de la prévalence annuelle de cette affection en France. Par la suite il visera à identifier les élevages/zones les plus à risque en France.

### Cadre de la programmation

Le règlement 854/2004 prévoit une inspection systématique de toutes les carcasses de bovins visant à détecter la cysticerose bovine par des incisions et des palpations.

### Protocole

La présence de lésions à cysticerques vivants ou dégénérés/calciifiés est recherchée par les agents des services d'inspection vétérinaires en abattoir sur tous les bovins abattus en France. Les carcasses concernées font l'objet d'une décision (saisie partielle, totale, traitement par le froid) enregistrée dans la base de données nationale SI2A d'utilisation obligatoire dans tous les abattoirs bovins de France.

Un cas de cysticerose à cysticerque vivant est défini comme tout animal enregistré dans SI2A avec une inspection *post-mortem* incluant le motif « cysticerose musculaire localisée forme vivante ».

Un cas de cysticerose tous types de cysticerques confondus est défini comme tout animal enregistré dans SI2A avec une inspection *post-mortem* de second niveau incluant un des motifs suivants : « cysticerose musculaire localisée forme vivante » ; « cysticerose musculaire localisée forme dégénérée » ; « cysticerose musculaire généralisée ».

**Tableau 1.** Prévalence apparente et ajustée sur une variable combinée Âge-Sexe et taux de cysticerose standardisé pour tout type de cysticerques et pour les cysticerques vivants avec intervalle de confiance à 95 % pour les bovins abattus en France en 2010 et 2015 (référence= bovins abattus en 2010)

	2010	2015
<b>Tout type de cysticerose</b>		
Prévalence apparente (%)	0,142 [0,142-0,143]	0,123 [0,122-0,123]
Prévalence ajustée (%)		0,121 [0,121-0,121]
Taux de cysticerose standardisé	1	0,84 [0,84-0,84]
<b>Uniquement cysticerques vivants</b>		
Prévalence apparente (%) = incidence	0,013 [0,013-0,014]	0,0096 [0,0095-0,0098]
Prévalence ajustée (%) = incidence ajustée		0,0095 [0,0095-0,0095]
Taux de cysticerose standardisé	1	0,71 [0,71-0,71]

## Résultats

L'enquête menée en 2010 a permis d'inclure 4 564 065 bovins (91,3 % des bovins abattus en 2010) dans l'étude de la prévalence, après exclusion des bovins à données manquantes vis-à-vis de l'âge et du sexe. Les prévalences apparentes estimées sont rappelées dans le **Tableau 1** (Dupuy *et al.*, 2014a, Dupuy *et al.*, 2014b).

En 2015, 4 692 454 bovins ont été abattus dans l'un des 209 abattoirs bovins français. Parmi ces 209 abattoirs, 202 ont utilisé SI2A pour enregistrer les saisies en abattoir. Les données disponibles pour l'étude de la prévalence en 2015 concernaient 4 689 095 bovins abattus dans ces 202 abattoirs (99,9 % des bovins abattus en France sur la période) dont 5 736 ont fait l'objet d'une saisie totale ou partielle pour des lésions de cysticerose. Après exclusion des bovins avec des données manquantes vis-à-vis du sexe ou de l'âge (n=28 214, 0,6%), la population d'étude incluait 4 660 881 bovins. Dans cette population d'étude, l'inspection *post-mortem* a permis la détection d'au moins une lésion de cysticerose (quel que soit le stade de développement) pour 5 729 bovins soit une prévalence apparente de 0,123 % [0,122-

0,123]. Parmi ces animaux infestés, 450 (7,9 %) ont présenté des lésions avec cysticerques vivants, soit une prévalence apparente de 0,0096 % [0,0095-0,0098]. Toujours parmi les animaux infestés, 148 bovins ont présenté une forme généralisée (2,6 %).

La prévalence réelle, quel que soit le stade de développement des cysticerques, a été estimée à 1,07 % [0,72-1,67]. La prévalence réelle de la cysticerose bovine à cysticerque vivant a été estimée à 0,08 % [0,06-0,13].

Les prévalences ajustées et les TSC sont présentés dans le [Tableau 1](#). La différence entre deux prévalences a été considérée comme statistiquement significative lorsque leurs intervalles de confiance étaient non chevauchants.

## Discussion

La prévalence de la cysticerose bovine à cysticerques vivants peut être assimilée à une incidence d'un point de vue épidémiologique, puisque la présence de ce type de lésion est le signe d'une infestation récente (au maximum quelques mois avant l'abattage). Le suivi simultané de la prévalence de la cysticerose bovine à cysticerque vivants et de la prévalence de la cysticerose bovine tout type de cysticerques confondus sont donc complémentaires.

Les différences entre les prévalences apparentes et les prévalences apparentes ajustées en 2015 étaient faibles, même si statistiquement significatives. Cela est lié à de faibles différences dans la distribution de la population bovine abattue en matière d'âge et de sexe entre 2010 et 2015 (variation allant de 0,1 à 1,8 % selon les catégories d'Âge-Sexe). Cela n'enlève toutefois pas l'intérêt de comparer des prévalences ajustées plutôt que des prévalences apparentes car des différences importantes pourraient être observées à l'avenir. La décision d'abattre un animal est en effet un processus multifactoriel complexe (Dupuy, 2014c).

La comparaison de la prévalence apparente en 2010 et de la prévalence apparente ajustée en 2015 montre une diminution statistiquement significative mais faible entre 2010 et 2015. En effet, il y a 1,2 (1/0,84)

et 1,4 (1/0,71) fois moins de cas observés en 2015 par rapport à ce qui aurait dû être observé si la prévalence avait été identique à 2010 respectivement pour les toutes les formes de cysticerose et pour les cas à cysticerque vivant uniquement ([Tableau 1](#)). La baisse est statistiquement plus importante pour l'incidence que pour la prévalence.

Ceci pourrait permettre de conclure à une amélioration de la situation de la cysticerose bovine en France avec une baisse de la prévalence, mais surtout de l'incidence. Toutefois, il convient d'être prudent sur la comparaison faite entre ces résultats. Les données de 2010 sont issues d'une enquête demandant spécifiquement aux abattoirs par note de service de remonter *via* des questionnaires les informations relatives aux lésions de cysticerose détectées en abattoir. On peut supposer que cela a pu avoir un impact sur la sensibilité de détection des lésions de cysticerose par une sensibilisation particulière des services d'inspection vis-à-vis de cette affection. Hadorn et Stärk *et al.* (2008) ont montré l'impact important que pouvait avoir la sensibilisation des agents d'inspection sur la sensibilité de détection. Pour la tuberculose, la sensibilité pouvait ainsi passer de 50,6 % à 80,4 %. La présente étude fait l'hypothèse d'une sensibilité identique entre 2010 et 2015 alors que le contexte de collecte de données était différent. D'autre part, l'enquête de 2010 se basait sur un double enregistrement de l'information: utilisation de l'outil local par les agents pour éditer le certificat de saisie et renseignement en parallèle du questionnaire de l'enquête. On peut craindre que cette double saisie n'ait pas été systématique, entraînant un biais de sous-déclaration.

Les informations disponibles *via* SIZA sont moins précises que lors de l'enquête de 2010. Pour les lésions généralisées, le stade de développement des cysticerques n'est pas précisé systématiquement car la distinction entre lésions généralisées avec présence de cysticerques vivants ou sans cysticerque vivant n'est pas prévue. Dans certains cas, les agents ont renseigné à la fois une cysticerose généralisée et une cysticerose localisée à cysticerques vivants permettant de déduire la présence de cysticerques vivants, de même avec une cysticerose localisée à cysticerques dégénérés. Les 143 bovins ayant présenté des lésions généralisées sans autre

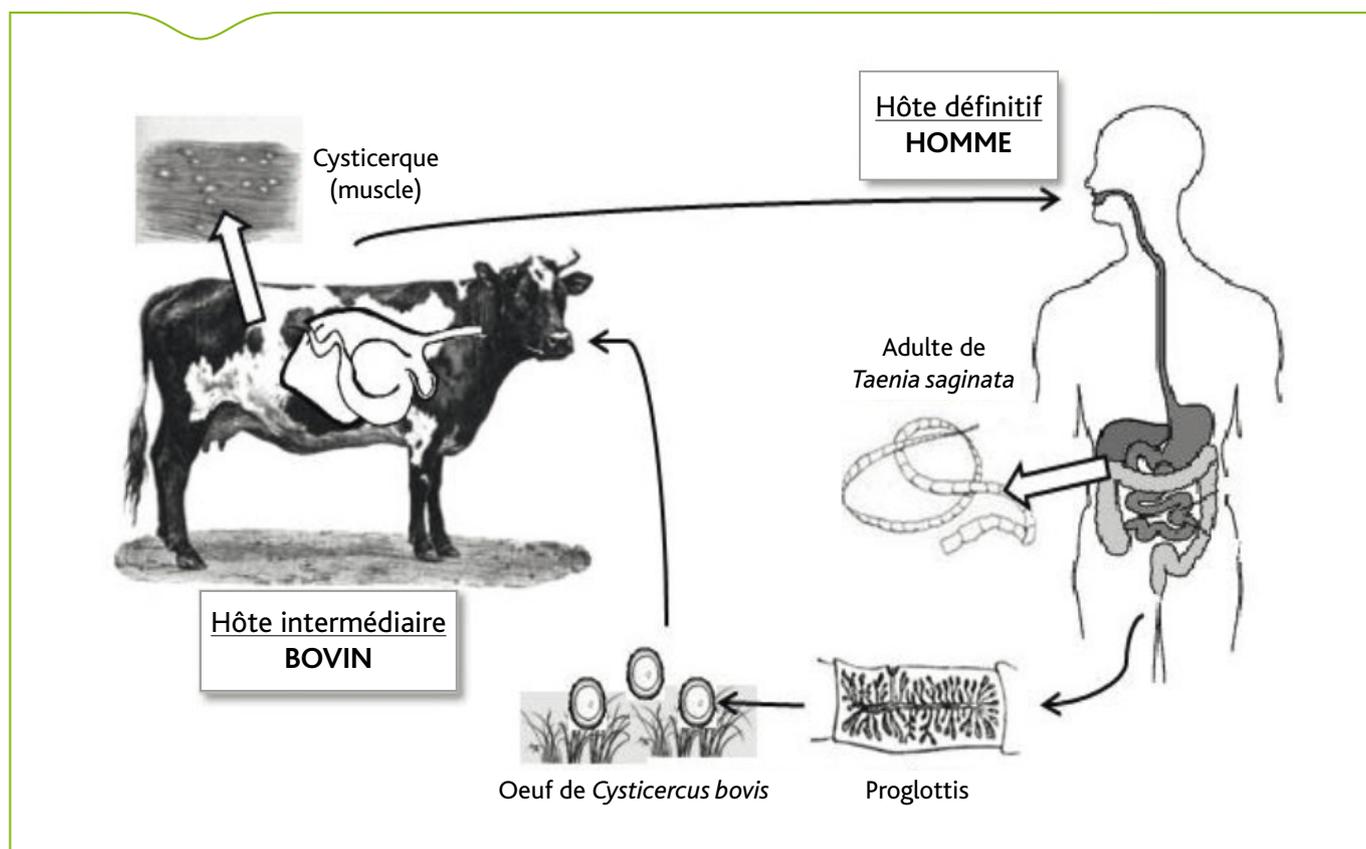


Figure 1. Cycle de *Taenia saginata* (Morlot, 2011)

précision ont été considérés comme ayant des lésions à cysticerques dégénérés ce qui peut avoir un impact sur les résultats d'incidence si une partie de ces animaux avait des lésions à cysticerques vivants. Il serait nécessaire d'envisager une évolution du référentiel lésionnel de SIZA pour inclure cette distinction pour les lésions généralisées, afin de fiabiliser le suivi de la prévalence et de l'incidence de la cysticerose bovine.

L'année 2015 était la première année d'exploitation de SIZA. L'étude des données annuelles de la cysticerose bovine à partir de ce système permettra d'évaluer l'évolution de l'incidence et de la prévalence de cette affection à l'aide de données collectées de manière similaire d'une année sur l'autre, limitant ainsi les biais de mesure.

## Conclusion

SIZA permet la mise en place d'un dispositif d'épidémiosurveillance de la cysticerose bovine en France par la collecte en continu d'informations relatives à la cysticerose bovine. Un suivi annuel de la prévalence et de l'incidence de cette affection est donc possible avec des données quasi-exhaustives sur le territoire national. Cela facilite également le retour d'informations à l'éleveur par la transmission de certificats de saisie standardisés et une évolution possible vers la dématérialisation de ces informations.

Une inspection basée sur le risque est déjà mise en œuvre à partir de l'information sur la chaîne alimentaire (ICA) transmise par l'éleveur. Les ICA sont toutes les informations pertinentes que l'éleveur transmet à l'abatteur concernant les animaux destinés à l'abattage. Une liste de ces informations est définie par arrêté ministériel incluant les informations relatives à la cysticerose bovine. Toutefois l'ICA relatif à la cysticerose bovine est basée uniquement sur les cas recensés dans la dernière exploitation de provenance de l'animal, ce qui constitue un biais important notamment pour les lésions à cysticerques calcifiés (délai long pouvant exister entre infestation et détection de la lésion en abattoir). Elle pourrait être améliorée par la mise en place d'un dispositif de surveillance permettant d'identifier les élevages ou les zones les plus à risque (prévalence élevée de cysticerques) tenant compte de l'incertitude du lieu d'infestation de l'animal (Dupuy *et al.*, 2015). Des mesures de prévention et de lutte adaptées pourraient également plus facilement être mises en œuvre. Cela nécessite toutefois l'utilisation des données de mouvements des bovins de leur naissance à leur abattage dont l'accès et l'analyse en continue sont plus complexes.

## Remerciements

Les auteurs remercient tous les agents des services d'inspection en abattoir pour leur travail d'inspection et l'enregistrement des données d'inspection dans SIZA.

## Références bibliographiques

- Bouyer, J., Hémon, D., Cordier, S., Derriennic, F., Stücker, I., Stengel, B., Clavel, J., 2009, *Épidémiologie, Principes et méthodes quantitatives*. Tec et Doc, Paris, 498 pp.
- Breslow, N., Day, N., 1987, Rates and rate standardization, In: *Statistical methods in cancer research* (Ed.) IARC scientific publications N°82. International Agency for Research on Cancer, Lyon, 48-79.
- Cabaret, J., Geerts, S., Madeline, M., Ballandonne, C., Barbier, D., 2002, The use of urban sewage sludge on pastures: the cysticercosis threat. *Vet. Res.* 33, 575-597.
- Dupuy, C., Hendrikx, P., Hardstaff, J., Lindberg, A. 2012. Contribution of meat inspection to animal health surveillance in Bovine animals, EFSA, ed. (European Food Safety Authority), 53pp.
- Dupuy, C., Morlot, C., Gilot-Fromont, E., Mas, M., Grandmontagne, C., Gilli-Dunoyer, P., Gay, E., Callait-Cardinal, M.-P., 2014a, Prevalence of *Taenia saginata* cysticercosis in French cattle in 2010. *Vet. Parasitol.* 203, 65-72
- Dupuy, C., Morlot, C., Demont, P., Ducrot, C., Calavas, D., Callait-Cardinal, M.-P., Gay, E., 2014b, Construction of standardized surveillance indicators for bovine cysticercosis. *Prev. Vet. Med.* 115, 288-292.
- Dupuy, C., 2014c. Analyse et modélisation des données d'inspection en abattoir dans l'objectif de contribuer à la surveillance épidémiologique de la population bovine. Thèse d'université. Université Claude Bernard, Lyon, 250 pp.
- Dupuy, C., Morlot, C., Demont, P., Callait-Cardinal, M.-P., Ducrot, C., Calavas, D., Gay, E., 2015, Spatial analysis of bovine cycticercosis in France in 2010. *Food Control* 47, 348-352.
- Hadorn, D.C., Stärk, K.D., 2008, Evaluation and optimization of surveillance systems for rare and emerging infectious diseases. *Vet. Res.* 39, 57.
- Morlot, C., 2011. Étude épidémiologique et statistique de la cysticerose musculaire bovine en France en 2010. Propositions de mesures de contrôle. Thèse vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 139 pp.
- Parlement européen, 2004, Règlement (CE) N° 854/2004 du Parlement européen et du Conseil fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine, In: *Journal officiel* de l'Union Européenne, 83-127.
- Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 2000. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary relating to Measures to Public Health on the Control of taeniosis/cysticercosis in man and animals (Bruxelles, European Commission), 31 pp.

# Le dispositif de surveillance des **résidus de médicaments vétérinaires** dans les volailles et les œufs

Brigitte Roudaut (brigitte.roudaut@anses.fr) (1), Isabelle Fournet (isabelle.fournet@agriculture.gouv.fr) (2)

(1) Anses, Laboratoire de Fougères, Laboratoire de référence résidus de médicaments vétérinaires, Fougères, France

(2) Direction générale de l'Alimentation, Bureau des intrants et de la santé publique en élevage, Paris, France

## Résumé

Certaines substances chimiques introduites de manière volontaire (médicaments vétérinaires, additifs) ou frauduleuse (substances interdites) dans l'alimentation (eau de boisson, aliment) des volailles sont susceptibles d'être transférées vers les muscles chez les volailles et aussi vers l'œuf chez les femelles pondeuses (poule, caille...). Dans l'Union européenne, alors que certains antibiotiques sont enregistrés en tant que médicaments vétérinaires (règlements 470/2009/CE et 37/2010/UE), la plupart des anticoccidiens sont enregistrés comme additifs selon le règlement 1831/2003/CE, relatif aux additifs destinés à l'alimentation des animaux. Le présent article a pour objectif de présenter un bilan des résultats des plans de contrôle français pour les antibiotiques, anthelminthiques, anticoccidiens et anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) dans les muscles de volailles (poulet de chair, dinde, autres volailles) et dans les œufs (poule, caille) pour l'année 2015. Les résultats montrent que les volailles et les œufs commercialisés sont en grande majorité exempts de résidus de médicaments vétérinaires. La mise en place du Paquet hygiène devrait permettre de diminuer encore le taux de non-conformité pour certaines de ces substances et de garantir les produits vis-à-vis de ces risques.

## Mots-clés

Plan de contrôle, plan de surveillance, volailles, viande, œufs, antibiotiques

## Abstract

### **Surveillance of veterinary drug residues in poultry meat and eggs**

*Some chemicals introduced intentionally (veterinary drugs, additives) or illegally (banned substances) in the diet (drinking water, feed) of poultry are likely to be transferred to the muscles and also to the egg in laying females (hens, quails, etc.). In the EU, while some antibiotics are registered as veterinary drugs (Regulations (EC) No 470/2009 and (EC) No 37/2010), most coccidiostats are registered as additives in accordance with Regulation (EC) No 1831/2003 on additives for animal feed. This paper aims to present the results of French control plans for antibiotics, anthelmintics, coccidiostats and non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in poultry meat (broilers, turkeys, other poultry) and eggs (hens, quails) for 2015. The results show that most poultry and eggs are marketed free of veterinary drug residues. The implementation of the Hygiene Package should further reduce the non-compliance rate for some of these substances and guarantee products against these risks.*

## Keywords

Control programme, Monitoring programme, Poultry, Meat, Eggs, Antibiotics

Les médicaments vétérinaires et les additifs utilisés en alimentation animale sont prescrits et utilisés intentionnellement, selon des itinéraires strictement encadrés (posologie, temps d'administration et de retrait avant l'abattage) pour garantir leur sécurité et leur efficacité. Toutes ces substances sont évaluées en termes de risque avant d'être autorisées et mises à disposition sur le marché. En particulier, l'usage des médicaments vétérinaires ne doit pas conduire à des concentrations de résidus excédant la limite maximale de résidus (LMR) dans les denrées alimentaires issues d'animaux exposés à ces substances. Par ailleurs, certaines substances sont interdites en production animale.

L'évaluation des médicaments vétérinaires est conduite par l'Agence européenne du médicament (EMA). Elle permet la fixation des LMR dans les denrées alimentaires d'origine animale (DAOA), fondée sur la notion de temps d'attente, et à l'établissement de la liste des principes actifs autorisés (directive 2001/82/CE, règlement 2009/470/CE). Plusieurs familles de médicaments vétérinaires sont autorisées chez les volailles : antibiotiques, antiparasitaires, anthelminthiques, anticoccidiens. En France, les anticoccidiens représentent chez la volaille la classe de principes actifs la plus utilisée, après les antibiotiques. Cependant, le nombre de molécules disponibles est restreint chez les poules pondeuses en raison de la production d'œufs en continu et du risque de transfert des résidus dans l'œuf. Les traitements s'effectuent essentiellement par la voie orale : eau de boisson ou aliment pendant cinq jours en moyenne. La voie parentérale représente moins de 1 % des lots. Le respect des temps d'attente est particulièrement délicat chez les poules pondeuses dans la mesure où le producteur doit retirer du marché sa production d'œufs pendant le traitement et, dans certains cas, plusieurs jours après le traitement. Les molécules, qui ont obtenu une LMR pour les œufs, ne dépassent pas le plus souvent cette LMR pendant les traitements préconisés par le vétérinaire.

L'évaluation des additifs alimentaires est conduite selon le règlement 2003/1831/CE par l'Autorité européenne de sécurité sanitaire des aliments (EFSA). Certains des additifs coccidiostatiques, autorisés chez les poulets de chair, les dindes ne sont autorisés chez les poulettes destinées à la ponte que jusqu'à l'âge de 12 à 16 semaines. Tous les additifs antibiotiques sont interdits dans l'Union européenne depuis le 01/01/2006.

## Objectifs du dispositif de surveillance - Références réglementaires

Les plans de contrôle officiels visent à relever les traces éventuelles de résidus de médicaments, dans la viande (muscle) et les œufs, dont le risque en termes de santé publique a été préalablement évalué et a conduit à la définition des LMR dans ces denrées pour les substances autorisées (règlement (UE) N° 37/2010). Les médicaments contenant les substances autorisées sont soumis à une évaluation en vue de la délivrance d'une AMM conduisant à la détermination des temps d'attente à respecter entre la dernière administration du médicament et la commercialisation des produits issus de l'animal (viande, œufs, abats). Le respect des modalités d'utilisation (voie d'administration, posologie) et du temps d'attente permet de garantir avec une très forte probabilité des niveaux de résidus inférieurs aux LMR et une absence de risque toxicologique pour le consommateur. À côté de ces plans visant les substances autorisées ou non dans la filière volailles, d'autres plans de contrôle officiels ciblent les substances actuellement interdites en production animale, telles que le chloramphénicol, les nitrofuranes et les nitroimidazoles. Les prélèvements sont inopinés et ciblés. Ils sont réalisés selon les modalités fixées par la décision 98/179/CE.

Une non-conformité est déclarée soit par la simple présence de résidus, lorsque la substance dont ils sont issus est interdite d'emploi, soit par la présence de résidus à des concentrations supérieures à celles autorisées (LMR) en tenant compte de l'incertitude de mesure (limite de décision).

Les seuils de non-conformité sont fixés :

- pour les médicaments vétérinaires, conformément au règlement (CE) N° 470/2009 et au règlement (UE) N° 37/2010 de la Commission du 22 décembre 2009 (relatif aux substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale),
- pour les coccidiostatiques, conformément aux différents règlements (CE) concernant l'autorisation de coccidiostatiques en tant qu'additif à l'alimentation des animaux et le règlement (CE) N° 124/2009 de la Commission du 10 février 2009 (établissant des valeurs maximales pour la présence dans les denrées alimentaires de coccidiostatiques ou d'histomonostatiques résultant du transfert inévitable de ces substances vers des aliments pour animaux non cibles). Certains anticoccidiens sont également utilisés comme médicaments vétérinaires et bénéficient à ce titre d'une LMR (règlement (UE) N° 37/2010).

## Plans de surveillance et de contrôle

### Différents plans de contrôle

Depuis 1989, des plans de contrôle pour la recherche de résidus d'antibiotiques ont été mis en place en production primaire de la filière volailles afin de répondre aux exigences européennes et en particulier de la directive 96/23/CE du Conseil du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits, complétée de la décision 97/747/CE fixant les niveaux et fréquences de prélèvement d'échantillons prévus par la directive 96/23/CE. Depuis 1996, les recherches ont été étendues à d'autres classes de médicaments vétérinaires.

Ces plans doivent être ciblés, et ainsi en 2015, près de 2 459 prélèvements de viande ont été effectués en abattoir en utilisant des critères de ciblage allant de simples signes sur la carcasse jusqu'à des éléments

d'information apportés pas l'ICA (document d'information sur la chaîne alimentaire) et 2 984 prélèvements en élevage ou à l'abattoir pour la recherche de substances interdites ; 557 prélèvements d'œufs ont été effectués dans les élevages ou au niveau des centres de conditionnement pour la recherche de substances autorisées et 69 prélèvements pour la recherche de substances interdites.

D'autres contrôles sur les résidus d'antibiotiques (autocontrôle) sont également effectués par les professionnels industriels via des laboratoires internes ou laboratoires agréés. Dans ce cas, des kits de dépistage commerciaux (basés sur des méthodes biologiques, ELISA ou immuno-chromatographiques) peuvent être utilisés pour cette recherche.

### Plan d'échantillonnage

Le nombre de prélèvements à réaliser par lieu de prélèvement (élevage ou abattoir) a été calculé pour répondre à *minima* aux dispositions de la directive 96/23/CE, au prorata :

- des tonnages abattus pour les volailles (1 668 447 t en 2014). Le nombre minimum d'échantillons à prélever pour chaque catégorie de volaille doit être d'un échantillon pour 200 t de production annuelle, avec un minimum de 100 échantillons pour chaque groupe de substances (pour une production annuelle supérieure à 5 000 t. Ainsi, en 2015, la répartition des prélèvements en fonction des espèces s'établit pour les antibiotiques de la façon suivante : 59,5 % pour les poulets, 25 % pour les dindes, 12,5 % pour les autres volailles et 3 % pour les poules de réforme,
- des volumes de production pour les œufs (772 213 t en 2014). Le nombre minimum d'échantillons à prélever doit être d'un échantillon pour 1 000 t de production annuelle, avec un minimum de 200 échantillons. La répartition des prélèvements en fonction des espèces a été effectuée comme suit : 95 % pour les œufs de poule et 5 % pour les œufs de caille.

La répartition de ces prélèvements par groupe et famille de contaminants est ensuite fixée en fonction des minima imposés par la réglementation et d'une évaluation du risque liée, notamment, au nombre de non conformités relevées les années précédentes.

### Encadré.

#### Objectif

Ces plans de contrôle sont destinés à évaluer le respect des modalités d'utilisation des médicaments vétérinaires ou additifs anticoccidiens (voie d'administration, posologie) et du temps d'attente entre l'administration du médicament (ou de l'additif) et la consommation des denrées alimentaires issues des animaux traités. Ils visent aussi à détecter l'utilisation de substances interdites qui pourraient présenter un risque toxicologique pour le consommateur, à examiner et à mettre en évidence les raisons de la présence de résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale.

#### Cadre de la programmation

Directive 96/23/CE du Conseil, décision 97/747/CE.

Règlement (CE) n° 470/2009, règlement (UE) N° 37/2010 et règlement (CE) N° 124/2009.

#### Protocole

- **Contaminants recherchés : résidus de médicaments vétérinaires**
  - > Substances interdites.
  - > Substances autorisées : antibiotiques, anthelminthiques, anticoccidiens et anti-inflammatoires non stéroïdiens.
- **Productions concernées : viandes de volailles (poulet, dinde, autres volailles), œufs (poule, caille).**
- **Stade de la chaîne alimentaire : élevage, abattoir, centre de conditionnement (œufs).**
- **Définition du « cas »**  
Non-conformité en cas de concentration supérieure à la limite de décision et déclenchant une mesure de gestion (investigations sur l'origine de la contamination).

#### • Nombre d'échantillons et modalités d'échantillonnage

Viande : 2 459 prélèvements ont été effectués en abattoir pour la recherche de substances autorisées, et 2 984 prélèvements en élevage ou à l'abattoir pour la recherche de substances interdites, entre janvier et décembre 2015.

Œufs : 557 prélèvements ont été effectués dans les élevages ou dans des centres de conditionnement pour la recherche de substances autorisées et 69 prélèvements pour la recherche de substances interdites, entre janvier et décembre 2015.

• **Stratégie d'échantillonnage :** contrôle ciblé, réalisé selon les modalités fixées par la décision 98/179 en utilisant des critères de ciblage. Une répartition des prélèvements est réalisée par région au prorata de la production de l'année précédente.

#### • Méthodes analytiques, nature du prélèvement

Pour la recherche de substances interdites, seules les méthodes basées sur la spectrométrie de masse en tandem sont utilisées en dépistage et en confirmation.

Pour la recherche de substances autorisées, des méthodes à large spectre de type microbiologique ou immunologique (biopuces) sont utilisées pour le dépistage des antibiotiques. Des méthodes chimiques multi-résidus à très large spectre, mais plus coûteuses, basées sur la spectrométrie de masse en tandem sont utilisées aussi depuis quelques années pour le dépistage des antibiotiques et d'autres familles de médicaments vétérinaires : anthelminthiques, anticoccidiens et anti-inflammatoires non stéroïdiens. Des méthodes plus classiques (chromatographie liquide ou planaire) sont aussi mises en œuvre pour certaines familles d'antibiotiques.

**Tableau 1. Taux de non-conformité dans les viandes et les œufs par familles de médicaments vétérinaires en 2015**

	Viande (prélèvement en abattoir)			Œufs (prélèvement en élevage ou centre d'emballage)		
	Nb de résultats recensés	Nb de résultats non-conformes	Proportion de non-conformes (%)	Nb de résultats recensés	Nb de résultats non-conformes	Proportion de non-conformes (%)
Substances interdites	2 984	0	0	69	0	0
Chloramphénicol CL-SM/SM	1 387	0	0	29	0	0
Nitrofuranes CL-SM/SM	271	0	0	20	0	0
Nitroimidazoles CL-SM/SM	1 326	0	0	20	0	0

Aucune non-conformité n'a été détectée en 2015 pour ces substances interdites aussi bien pour les viandes que pour les œufs.

**Tableau 2. Taux de non-conformité pour les autres substances dans les viandes et les œufs par familles de médicaments vétérinaires en 2015**

	Viande (prélèvement en abattoir)			Œufs (prélèvement en élevage ou centre d'emballage)			
	Nb de résultats recensés	Nb de résultats non-conformes	Proportion de non-conformes (%)	Nb de résultats recensés	Nb de résultats non-conformes	Proportion de non-conformes (%)	
<b>Substances autorisées</b>	<b>2 459</b>			<b>557</b>			
Antibiotiques	1 236	3	0,24	235	1	0,43	
Recherche multi-résidus	4 boîtes (muscle) ou biopuces Évidence (œufs) + CL-SM/SM	315	1	0,32	62	0	0
	CL-SM/SM + CL-SM/SM	340	1	0,29	/		
Recherche par famille	Sulfamides: HPTLC + CLHP-UV	331	1	0,30	173	1	0,57
	Tétracyclines: CLHP-UV	230	0	0	/		
	Quinolones: CLHP-fluorimétrie	20	0	0	/		
Anthelminthiques HPTLC + CL-SM/SM	708	0	0	/			
Anticoccidiens CL-SM/SM	510	0	0	322	1	0,31	
AINS CL-SM/SM	5	0	0	/			

4 boîtes: méthode microbiologique de dépistage des inhibiteurs bactériens – CL-SM/SM: chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem – HPTLC: chromatographie planaire à haute performance – CLHP: chromatographie liquide couplée à la détection UV ou fluorimétrique.

## Familles de médicaments vétérinaires recherchées dans le muscle et les œufs

Le choix des substances recherchées par famille de contaminants est établi conjointement avec les laboratoires nationaux de référence en fonction de leur utilisation connue, des méthodes d'analyse utilisées et de leur performance. Les classes de médicaments recherchées sont listées dans les **Tableaux 1 et 2**. Elles découlent des exigences réglementaires de la décision 96/23/CE.

## Méthodes de dépistage et de dosage

En filière volaille, des méthodes dites conventionnelles à large spectre de type microbiologique ou immunologique plus innovantes (biopuces Évidence) sont utilisées pour le dépistage des antibiotiques. Des méthodes chimiques multi-résidus à très large spectre, mais plus coûteuses, basées sur la spectrométrie de masse en tandem sont utilisées aussi depuis quelques années pour le dépistage des antibiotiques et d'autres familles de médicaments vétérinaires: anthelminthiques, anticoccidiens et anti-inflammatoires non stéroïdiens. Des méthodes plus classiques (chromatographie liquide ou planaire) sont aussi mises en œuvre pour certaines familles d'antibiotiques.

Les méthodes d'analyse utilisées lors de ces contrôles officiels sont listées dans les **Tableaux 1 et 2** en fonction des classes de médicaments ciblées. Elles sont régulièrement révisées et validées par le laboratoire de référence résidus de médicaments vétérinaires (LNR) pour intégrer les nouvelles molécules mises sur le marché et ainsi suivre l'évolution des pratiques. Pour la recherche de substances interdites, seules les méthodes basées sur la spectrométrie de masse en tandem sont utilisées en dépistage et en confirmation.

## Résultats

Les niveaux de contamination issus des PSPC pour les substances interdites dans les muscles et les œufs et pour les substances autorisées dans les muscles et les œufs sont présentés respectivement dans les **Tableaux 1 et 2**.

Pour les antibiotiques, les prélèvements de muscle ont été répartis et analysés selon deux stratégies analytiques combinant différentes méthodes d'analyse, deux en multi-résidus (recherche des résidus de plusieurs familles d'antibiotiques et trois dites en recherche ciblée sur une famille d'antibiotiques (sulfamides, tétracyclines et quinolones mal détectées par les méthodes microbiologiques). En 2015, les non-conformités détectées dans le muscle de volaille concernaient l'oxytétracycline (canard, poule de réforme) et la sulfadiméthoxine. La présence de doxycycline a aussi été mise en évidence dans du muscle de dinde avec une concentration inférieure à la LMR. Pour les autres classes de médicaments vétérinaires, aucune non-conformité n'a été détectée dans le muscle de volailles.

Dans les œufs, aucune non-conformité n'a été relevée pour les antibiotiques par le dépistage par biopuces, cependant des résidus d'oxytétracycline ont été détectés (63 et 100 µg/kg) mais à des niveaux de concentrations inférieurs à la LMR dans les œufs (200 µg/kg), ce qui démontre une bonne observance des posologies chez la volaille. Une non-conformité a été mise en évidence pour les sulfamides avec la présence de 5,8 µg/kg dans un œuf de caille. Les sulfamides ne sont pas autorisés chez les espèces pondeuses. Une non-conformité a également été détectée pour la présence de monensin (anticoccidien) à 2,3 µg/kg dans un œuf de poule alors que la teneur maximale autorisée en résidus est de 2 µg/kg.

## Interprétation

En 2015, les non-conformités détectées pour les antibiotiques dans le muscle de volaille concernaient l'oxytétracycline et la sulfadiméthoxine chez des volailles autres que le poulet de chair (canard, poule de réforme). Des inspections en élevage ont été menées et ont montré que ces non-conformités faisaient suite à des traitements par des aliments médicamenteux. Par ailleurs, les résultats (Tableau 2) montrent une plus grande capacité de détection des non-conformités à l'aide des stratégies multi-résidus, et notamment avec le dépistage par la méthode CL-SM/SM, par comparaison avec les approches basées sur des méthodes ciblant une seule famille d'antibiotiques.

Les critères de ciblage à l'abattoir étaient basés sur l'état des volailles ou des éléments d'information apportés par l'ICA (traitement médicamenteux avant l'abattage). Le taux global de 0,12 % de non-conformité sur la viande de volaille peut être considéré comme faible au regard des critères de ciblage utilisés (*Bilan des plans de contrôle et de surveillance mis en œuvre par la DGAL en 2014*). Cependant, le taux de non-conformité pour les antibiotiques 0,24 % est à surveiller en particulier pour les espèces mineures (canard, caille..).

Pour les œufs, les non-conformités concernent essentiellement les sulfamides et les anticoccidiens, médicaments ou additifs qui ne sont pas autorisés chez les poules pondeuses. Les concentrations trouvées sont très faibles (< 6 µg/kg). L'hypothèse retenue par la DGAL pour les non-conformités est un apport *via* une alimentation non censée en contenir (contamination croisée d'aliments non supplémentés par des aliments médicamenteux au niveau de la fabrication de l'aliment, du transport ou de l'élevage). Un plan exploratoire sur la présence d'antibiotiques et d'anticoccidiens dans les aliments pour animaux au stade de l'élevage devrait être mis en place en 2017 pour documenter cette hypothèse.

## Discussion

Si les ventes d'antibiotiques pour les volailles ont diminué de 30,3 % sur les sept dernières années, (Chevance et Moulin, 2015), et si l'exposition des volailles en termes d'indicateur Alea (Animal Level of Exposure to Antimicrobials) a diminué de 12,3 % entre 2009 et 2013, cette dernière reste cependant plus élevée par rapport à d'autres filières animales : ovins-caprins, bovins, poissons. S'il s'avère que les volailles font partie du top trois des espèces les plus exposées aux antibiotiques (avec les lapins et les porcs) le taux de non-conformités en résidus d'antibiotiques est en revanche plus faible chez les volailles par rapport, notamment, aux ruminants.

Les non-conformités révélées lors des plans de contrôle et de surveillance sont rares. Globalement, les familles d'antibiotiques les plus fréquemment à l'origine des non-conformités sont les tétracyclines et les sulfamides (Roudaut *et al.* 2013). Ces familles font partie des antibiotiques les plus utilisés chez les volailles, après les polypeptides qui sont très peu absorbés au niveau de la barrière intestinale et n'engendrent pas de non-conformités. Les inspections en élevage ont cependant permis de mettre en évidence d'autres non-conformités liées à des mauvaises pratiques d'élevage (absence de registre d'élevage; présence d'un registre d'élevage incomplet; mauvaise tenue de la pharmacie de l'élevage). Des avertissements et/ou rappels à la réglementation ont été effectués auprès des éleveurs concernés.

Pour les médicaments vétérinaires, les principales causes de non-conformités dans les autres pays européens sont l'utilisation intentionnelle ou non d'un médicament non autorisé chez les poules pondeuses, le non-respect de l'âge maximal d'administration, le non-respect du temps d'attente ou de la posologie et la contamination croisée par des aliments supplémentés lors de la préparation de ces aliments à l'usine ou chez l'éleveur (Cannavan *et al.* 2000). Une autre source de contamination, plus rare, est le recyclage des médicaments par ingestion de litière par les poules (Kan 2005).

Pour les additifs anticoccidiens, les non-conformités résultent

principalement de contaminations croisées, à différents stades de la filière, entre aliments blancs *et* aliments contenant des additifs (Cannavan *et al.* 2000, Mortier *et al.* 2005). La certification des filières de production associée à la gestion des informations disponibles sur l'usage des médicaments (registre d'élevage) permet d'assurer la traçabilité des produits et des animaux traités, de réduire les risques de présence de résidus et de garantir les produits vis-à-vis de ce risque.

## Conclusion et perspectives

Les résultats des plans de contrôle (EFSA report, 2014) et d'enquêtes montrent que les muscles et les œufs commercialisés en Europe sont en grande majorité exempts de contaminants chimiques réglementés. Cette bonne qualité sanitaire est le résultat d'une réglementation stricte sur les aliments des animaux et sur l'usage des médicaments vétérinaires et additifs, et de son application par les acteurs de la filière. La démarche mise en place des guides de bonnes pratiques en réponse au Paquet hygiène devrait permettre de diminuer encore le taux de non-conformités et de garantir les produits vis-à-vis de ces risques. En France, dans le contexte actuel de promotion d'un usage prudent des antibiotiques pour réduire les risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire (plan Ecoantibio 2017), l'accent est mis en élevage sur le bon usage de ces médicaments au niveau des différentes filières animales. Il est aussi de la responsabilité de l'éleveur d'assurer que les produits qu'il commercialise respectent les concentrations de résidus fixés par la réglementation. Cependant, l'information des éleveurs et un contrôle qualité adéquat des aliments transférés à la ferme par autocontrôle et par les autorités réglementaires restent encore indispensables. Un changement des pratiques d'utilisation de médicaments antibiotiques a déjà été effectué dans la filière volailles avec une réduction des usages de la forme « prémélange médicamenteux » qui représente actuellement seulement 4 % du poids vif traité.

Par ailleurs, la capacité de surveillance d'une gamme plus importante des résidus provenant de l'usage des différentes familles d'antibiotiques est fondamentale pour détecter des nouvelles pratiques. C'est ainsi que pour 2015 puis pour 2016, il a été décidé d'accroître le nombre de prélèvements à analyser directement avec la méthode CL/SM-SM (chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem) en recherche multi-résidus. Pour 2016, la programmation des prélèvements pour la recherche de résidus d'antibiotiques dans la filière volailles prévoit plus de 1 300 prélèvements de viande et 235 prélèvements d'œufs. En parallèle, le LNR a développé et validé, en incluant de nouvelles molécules, une nouvelle méthode multi-résidus permettant de dépister plus de 80 antibiotiques, et une autre méthode ciblant différentes familles d'antiparasitaires par méthode CL/SM-SM. Ces méthodes seront opérationnelles en 2017 au niveau des laboratoires agréés. Un plan exploratoire est aussi prévu en 2017 pour mesurer l'exposition des volailles aux antibiotiques dans l'aliment, par le biais des contaminations croisées. Le laboratoire de Fougères poursuit, également, dans le cadre de ses activités de recherche le développement de nouvelles méthodologies analytiques basées sur l'analyse non ciblée dans les muscles, les abats et les fientes par méthode CL/SM-SM pour contrôler l'utilisation de certains antibiotiques (céphalosporines) chez les volailles.

## Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble des équipes des laboratoires agréés et du LNR pour leur implication dans l'obtention des données de ces plans de contrôle ainsi que les DDecPP.

## Références bibliographiques

- Bilan 2015 de la surveillance sanitaire des denrées animales et végétales (plans de surveillance et de contrôle) - DGAL.
- Cannavan A., Ball G., Kennedy G., 2000. Nicarbazine contamination in feeds as a cause of residues in eggs. *Food Add. Contam.*, 17, 829-836.
- Chevance A. et Moulin G., 2014. Anses – ANMV Anses - Agence nationale du médicament vétérinaire

Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2014.

<https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/ANMV-Ra-Antibiotiques2014.pdf>

Décision 97/747/CE de la Commission du 27 octobre 1997 fixant les niveaux et fréquences de prélèvement d'échantillons prévus par la directive 96/23/CE du Conseil en vue de la recherche de certaines substances et de leurs résidus dans certains produits animaux. J. Off. Commun. Eur., L. 303, 12-15.

Décision 98/179/CE du 23 février 1998 fixant les modalités de prise d'échantillons officiels pour la recherche de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits. J. Off. Commun. Eur., L. 65, 31-34.

Directive 96/23/CE du Conseil du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits et abrogeant les directives 85/538/CEE et 86/469/CEE et les décisions 89/187/CEE et 91/664/CEE. J. Off. Commun. Eur., L. 125, 10-32.

Directive 2001/82/CE du Parlement européen et du Conseil, du 6 novembre 2001, instituant un code communautaire relatif aux médicaments vétérinaires. J. Off. Commun. Eur., L. 311, 1-66.

European Food Safety Authority (EFSA), Report for 2014 on the results from the monitoring of veterinary medicinal product residues and other substances in live animals and animals products.

Kan K., 2005. Chemical residues in poultry and eggs produced in free-range or organic systems. Proceedings of the XIth European Symposium

on the quality of egg and egg products. Doorwerth, 23-26 May 2005, The Netherlands, n° 210, 8 pp.

Mortier L., Huet A-C., Daeseleire E., Huyghebaert G., Fodey T., Elliott C., Delahaut P., Van Peteghem C., 2005. Deposition and depletion of five anticoccidials in eggs. J. Agric. Food Chem., 53, 7142-7149.

Règlement (CE) N° 1831/2003 de la Commission du 22 septembre 2003, relatif aux additifs destinés à l'alimentation des animaux. J. Off. Commun. Eur., L. 268, 29-43.

Règlement (CE) N° 124/2009 de la Commission du 10 février 2009 établissant des valeurs maximales pour la présence dans les denrées alimentaires de coccidiostatiques ou d'histomonostatiques résultant du transfert inévitable de ces substances vers des aliments pour animaux non-cibles. J. Off. Commun. Eur., L. 40, 7-11.

Règlement (CE) N° 470/2009 du Parlement européen et du Conseil du 6 mai 2009 établissant des procédures communautaires pour la fixation des limites de résidus des substances pharmacologiquement actives dans les aliments d'origine animale. J. Off. Commun. Eur., L. 152, 11-22.

Règlement (UE) N° 37/2010 de la Commission du 22 décembre 2009 relatif aux substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale. J. Off. Commun. Eur., L. 15, 1-72.

Roudaut B., Dubreil-Cheneau E., Blanc-Gonnet A., 2013. Les résidus d'antibiotiques et d'anticoccidiens dans les muscles chez la volaille et dans les œufs - Évolution en France des résultats des plans de contrôle 2006-2011. Proceedings des 10<sup>es</sup> Journées de la recherche avicole et du foie gras, La Rochelle, 30/03/13. 5 pp.

# Le dispositif français de surveillance des produits phytosanitaires dans les denrées alimentaires d'origine animale

Chanthadary Inthavong (1) (chanthadary.inthavong@anses.fr), Anne-Claire Martel (2), Isabelle Fournet (3)

(1) Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, Unité pesticides et biotoxines marines, Maisons-Alfort, France

(2) Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis, Unité de pathologie de l'abeille, Sophia Antipolis, France

(3) Direction générale de l'Alimentation, Service des actions sanitaires en production primaire, Sous-direction de la santé et de la protection animales, Bureau des intrants et de la santé publique en élevage, Paris, France

## Résumé

Les plans de surveillance et de contrôle de la contamination des denrées alimentaires d'origine animale sont mis en place chaque année par la direction générale de l'Alimentation en application de la réglementation européenne. En production animale, onze plans de surveillance sont mis en œuvre pour la recherche des résidus de pesticides. Les prélèvements sont réalisés au stade de la production primaire chez les éleveurs français. Les résidus de pesticides sont recherchés dans ces denrées alimentaires par méthodes multi-résidus. Les plans de 2014 et 2015 ont engendrés plus de 161 000 résultats d'analyses. Le taux de contamination détecté est très faible (deux prélèvements non conformes en 2015 et aucun en 2014), ce qui est cohérent avec ce qui est observé dans les autres États membres. Les deux seules non-conformités détectées concernaient le lindane. Cette contamination est probablement d'origine environnementale, due à la rémanence de cette substance.

## Mots-clés

Pesticides, résidus, denrées alimentaires d'origine animale, plans de surveillance, plans de contrôle

## Abstract

**The French system for surveillance of contamination by plant protection products in foodstuffs of animal origin**  
Every year, programmes for the surveillance and control of contamination in foodstuffs of animal origin are organised by the Directorate General for Food (DGAL). These programmes constitute an important tool in the food safety system. In animal production, eleven surveillance programmes are carried out for the detection of pesticide residues. Samples are collected in the preliminary stage in farms. Multi-residue methods are used to test for pesticide residues in foodstuffs. Programmes organised in 2014 and 2015 generated nearly 161,000 analysis results. Detected contamination levels were very low (no non-compliant samples in 2014, two in 2015) in accordance with the results obtained by other Member States. The only two non-compliant samples detected concerned lindane. This contamination was probably due to the persistence of this substance in the environment.

## Keywords

Pesticides, Residues, Foodstuffs of animal origin, Surveillance programmes, Control programmes

L'utilisation des pesticides (ou produits phytosanitaires ou produits phytopharmaceutiques) s'est développée à la fin de la seconde guerre mondiale. Les « pesticides » sont classés en quatre catégories, sur la base de leur destination, les fongicides, les herbicides, les insecticides et une quatrième catégorie pour tous les autres. En termes de production, leur distribution en tonnage en 2014 était respectivement de 45, 40, 2 et 13 % (UIPP, 2014). Les premiers pesticides utilisés étaient des produits de synthèse appartenant à la famille des composés organochlorés qui, du fait de leur rémanence, se retrouvent encore dans l'environnement plusieurs décennies après l'arrêt de leur utilisation. Ces produits chimiques s'accumulent ainsi tout au long de la chaîne alimentaire et du fait de leur forte affinité lipophile, sont susceptibles de contaminer certaines denrées alimentaires d'origine animale à forte teneur en matière grasse. Malgré l'interdiction progressive des pesticides associés à des risques sanitaires avérés (les plus problématiques) depuis les années 1980, le recours aux traitements phytosanitaires reste une pratique agricole courante dans l'agriculture conventionnelle. Les firmes productrices les ont peu à peu remplacés par les composés organophosphorés, les pyréthrinoides de synthèse, les carbamates, les triazoles et les néonicotinoïdes (Tableau 1).

Si les denrées alimentaires d'origine végétale représentent les principaux aliments susceptibles de contenir des résidus de pesticides, les denrées alimentaires d'origine animale (DAOA) peuvent également être un vecteur de l'exposition du consommateur à ces contaminants. En effet, dès lors qu'une substance est appliquée sur une culture, des résidus de cette substance (composé parent et/ou ses produits de dégradation) peuvent être présents dans les denrées végétales consommées par les animaux, et les résidus de pesticides s'accumuler dans les tissus animaux.

## Objectifs du dispositif de surveillance et références réglementaires

Le dispositif européen de surveillance des produits phytosanitaires dans les DAOA répond à l'une des missions de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (Efsa) établie par le règlement (CE) N° 178/2002, à savoir la collecte de données en vue de mesurer l'exposition du consommateur à ces résidus et d'identifier les risques émergents.

Ce dispositif est cadré par les réglementations suivantes :

- la directive 96/23/CE qui impose aux États membres de l'Union européenne de réaliser des plans de contrôle et de surveillance des résidus chimiques (plus particulièrement des produits phytosanitaires) dans les denrées alimentaires d'origine animale. Depuis 1997, la France organise des plans de contrôle selon cette exigence réglementaire et transmet annuellement les résultats à la Commission. De même, la Commission transmet une compilation des résultats des différents États membres à l'Efsa mandatée pour cela dans le cadre de l'article 31 du règlement (CE) N° 178/2002,
- les différents règlements d'exécution (CE) (N° 788/2012 - N° 400/2014 - N° 2015/595) qui concernent le programme de contrôle, pluriannuel et coordonné pour les années 2013 à 2018. Ces règlements listent les couples substances actives/denrées alimentaires à rechercher durant cette période. Ces dispositions sont destinées à vérifier le respect des teneurs maximales en résidus de pesticides dans ou sur les denrées alimentaires d'origine végétale et animale, et à évaluer l'exposition du consommateur à ces résidus. Ces limites maximales applicables aux résidus (LMR) de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les

aliments pour animaux d'origine végétale et animale, sont fixées par le règlement (CE) N° 396/2005. Ces LMR établies pour chaque substance dans les denrées alimentaires, garantissent que, lors de l'usage d'une substance active phytosanitaire conformément aux bonnes pratiques agricoles pour le traitement d'une culture, le niveau de résidu contenu dans la denrée ne présentera pas de risque pour le consommateur.

## Plans de surveillance et de contrôle

Pour répondre à ces différents règlements, la direction générale de l'Alimentation (DGAL) pilote la mise en œuvre de plans de

surveillance et de contrôle (PS, PC). Elle assure la programmation nationale puis régionale des prélèvements conformément aux plans d'échantillonnage choisis par la DGAL ou imposés par la réglementation européenne. L'échelon régional (DRAAF/Sral) assure la programmation départementale en lien étroit avec les DDecPP en charge de la réalisation des prélèvements.

La différence entre les PS et les PC réside dans l'objectif poursuivi, d'où découle une stratégie d'échantillonnage différente. Dans le cas des PS, l'objectif est l'évaluation d'un niveau de contamination représentatif d'une catégorie d'aliment (*in fine* ces données contribuent à évaluer l'exposition du consommateur), par échantillonnage aléatoire au sein

Tableau 1. Groupes de pesticides utilisés

Évolution des produits			
	Herbicides	Fongicides	Insecticides
Avant 1900	Sulfate de cuivre Sulfate de fer	Soufre Sels de cuivre	Nicotine
1900-1920	Acide sulfurique		Sels d'arsenic
1920-1940	Colorants nitrés		
1940-1950	Phytohormones...		Organo-chlorés Organo-phosphorés
1950-1960	Triazines, Urées substituées, Carbamates	Dithiocarbamates Phtalimides	Carbamates
1960-1970	Dipyridiles, Toluidines...	Benzimidazoles	
1970-1980	Amino-phosponates, Propionates...	Triazoles, Dicarboximides, Amides, Phosphites, Morholines	Pyréthriinoïdes, Benzoyl-urées (régulateurs de croissance)
1980-1990	Sulfonyl urées		
1990-2000		Phénylpyrroles, Strobilurines	

Source : Union des industries de la protection des plantes (UIPP) - Brochure sur la recherche dans les produits phytosanitaires

### Encadré.

#### Objectifs

Depuis 1998, des plans de contrôle pour la recherche de résidus de pesticides à usage agricole sont mis en place en production primaire afin de répondre aux exigences de la directive 96/23/CE du Conseil du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits.

L'objectif de ces plans de contrôle est de détecter tous traitements illégaux et/ou mauvaises pratiques en production primaire pouvant nuire à la qualité sanitaire des denrées. Ils participent à la maîtrise du risque de contamination des denrées par des substances chimiques dont la toxicité chronique a été jugée probable ou avérée. Ils fournissent des données de surveillance de cette contamination afin d'abonder les évaluations du risque nationales et européennes. La mise en place de la directive 96/23/CE a pour objectif de garantir une harmonisation des contrôles nationaux de chaque État membre afin de maintenir le même niveau de sécurité.

#### Cadre de la programmation

Règlement (CE) N° 78/2002 à savoir la collecte de données au vu de la mesure de l'exposition du consommateur à ces résidus et au vu de l'identification de risques émergents.

Directive 96/23/CE du Conseil du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits.

Règlement (CE) N° 396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil.

Règlements d'exécution (CE) (N° 88/2012 - N° 400/2014 - N° 2015/595)

concernant le programme de contrôle, pluriannuel et coordonné pour les années 2013 à 2018.

#### Protocole

- Nature des contaminants recherchés : Pesticides à usage agricole et médicaments vétérinaires (acaricides).
- Productions concernées (« populations ») : denrées alimentaires d'origine animale (DAOA).
- Stade de la chaîne alimentaire : abattoir, apiculteur pour le miel.
- Définition du « cas » : une non-conformité se traduit soit par la simple présence de résidus de pesticides lorsque la substance dont ils sont issus est interdite d'emploi, soit par la présence de résidus à des teneurs supérieures à celles autorisées (> aux LMR).
- Nombre d'échantillons et modalité d'échantillonnage : le nombre de prélèvements à réaliser par filière et par lieu de prélèvement (élevage ou abattoir) a été calculé pour répondre *a minima* aux dispositions de la directive 96/23/CE, au prorata des nombres d'animaux abattus (animaux de boucherie et le gros gibier), des tonnages abattus (volailles, petits gibier et lapins), des volumes de production (poissons d'élevage, lait, œufs et miel).
- Stratégie d'échantillonnage : exhaustif.
- Méthode analytique, nature du prélèvement : la direction générale de l'Alimentation (DGAL) pilote la mise en œuvre de plans de surveillance et de contrôle (PSPC). Elle assure la programmation nationale puis régionale des prélèvements conformément aux plans d'échantillonnage choisis ou imposés par la réglementation. L'échelon régional (DRAAF/Sral) assure la programmation départementale en lien étroit avec les DDecPP en charge de la réalisation des prélèvements.

La quasi-totalité des analyses est réalisée par des laboratoires accrédités selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 et agréés par le ministère de l'Agriculture et de l'Agroalimentaire et de la Forêt et par des laboratoires nationaux de référence (LNR).

d'une population ou sous-population, et donc sans tenir compte du niveau de risque de contamination. Dans le cas du PC, l'objectif est de caractériser des situations présentant des anomalies et détecter des non-conformités suspectées, voire des fraudes. L'échantillonnage est alors ciblé sur une partie de la production présentant un risque de contamination que l'on suppose plus élevé (prélèvements faits sur la base de critères de ciblage prédéterminés).

La programmation régionale puis départementale, la qualité de réalisation des prélèvements ainsi que la précision des données collectées par rapport à l'attendu, sont des facteurs déterminants de la crédibilité qui peut être accordée aux informations sanitaires produites. De cette robustesse dépend une gestion des risques adéquate, et une évaluation des risques non biaisée.

Les analyses officielles effectuées sur ces prélèvements, sont réalisées par les laboratoires agréés par le ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt (MAAF), sur la base d'un cahier des charges précis, incluant l'accréditation par le Comité français

d'accréditation (Cofrac) selon la norme NF EN ISO/CEI 17025. Ces laboratoires sont les seuls autorisés à procéder aux analyses d'échantillons prélevés dans le cadre de contrôles officiels. Les réseaux de laboratoires sont animés par les laboratoires nationaux de référence (LNR) qui développent et valident les méthodes officielles, fournissent un appui technique aux laboratoires et s'assurent de leurs capacités techniques à réaliser les analyses. Certains de ces LNR réalisent également eux-mêmes les analyses officielles dans le cadre des PSPC: cas de mise au point de nouvelle méthode ou de réalisation des analyses sur une nouvelle matrice (par ex. recherche des pesticides dans le beurre ou encore des analyses de pesticides dans le miel).

## Les plans de surveillance et de contrôle mis en œuvre en 2014 et 2015

La directive 96/23/CE, complétée de la décision N° 97/747, cadre la stratégie, le niveau et la fréquence d'échantillonnage pour les onze

**Tableau 2. Les PSPC des produits phytosanitaires dans les DAOA pour 2014 et 2015 en France**

	Animaux de boucherie (bovins, porcins, ovins caprins, équins)			Volailles			Poissons d'élevage	Lapins	Gibier	Produits laitiers			Miel
	Muscle	Graisse	Foie	Muscle	Muscle et graisse	Foie	Chair	Muscle	Muscle	Lait	Beurre	Oeufs	
Carbamates	A			A									
Pyréthroïdes		A	T	A	T	T	A	A	A	A	T	A	A
Organochlorés		A	T	A	T	T	A	A	A	A	T	A	A
Organophosphorés		A	T	A	T	T				A	T	A	A
Autres pesticides			T		T	T	A				T	T	A
Néonicotinoïdes													A

A: annuel, T: triennal

**Tableau 3. Taille des échantillons et nombre d'analyses réalisées pour les plans de surveillance des produits phytosanitaires dans les DAOA pour 2014 et 2015 en France**

	Population cible moyenne annuelle	Taille de l'échantillon national minimal annuel imposé par la réglementation pour la recherche des produits phytosanitaires		Taille de l'échantillon national annuel réalisé		Nombre de résultats de taux de concentration de résidus de pesticides obtenus 2014+2015
		N	Proportion (en %)	2014	2015	
Bovins	4 775 000 (nombre total de bovins abattus sur 12 mois)	430	0,009	450	450	47 200
Porcins	23 933 000 (nombre total de porcins abattus sur 12 mois)	430	0,002	500	450	40 000
Petits ruminants	4 472 000 (nombre total d'ovins-caprins abattus sur 12 mois)	90	0,002	100	60	10 000
Équins	19 000 (nombre total d'équins abattus sur 12 mois)	Absence	Absence	10	5	1 000
Volailles	1 703 000 tonnes abattues sur 12 mois	255 (lots)	0,01	505	445	42 000
Lapins	46 000 tonnes abattues sur 12 mois	10 (lots)	0,02	5	5	300
Poissons d'élevage	50 000 tonnes abattues sur 12 mois	Absence	Absence	30	90	3 000
Gibier d'élevage	3 000 gros gibiers (cerfs chevreuils, daims) 9 000 tonnes petits gibiers (pigeons, caille, perdrix, faisans) abattus sur 12 mois	Absence	Absence	5	5	1 800
Lait	24 703 000 tonnes de lait collecté sur 12 mois	Absence	Absence	70	40	8 000
Beurre		66: tous les 3 ans			66	
Œufs	772 000 tonnes produites sur 12 mois	Absence	Absence	70	90	8 000
Miel	11 800 tonnes produites sur 12 mois	0,3 %	35	50	50	
<b>TOTAL</b>				<b>1 795</b>	<b>1 756</b>	<b>161 300</b>

plans de surveillance à mettre en œuvre en production primaire chaque année, dans les matrices suivantes :

- bovine, porcine, volaille au niveau des élevages et abattoirs,
- filières ovine/caprine, équine, lapin, gibier d'élevage au niveau des abattoirs,
- filière poissons d'élevage, lait au niveau des élevages ou à la première transformation,
- œufs au niveau des centres de collecte,
- miel au niveau des apiculteurs (ou autre si la traçabilité vers l'apiculteur est garantie).

Les prélèvements sont inopinés pour les PC et de préférence ciblés sur les critères de risque. Cependant pour les pesticides, compte tenu de la difficulté de ce ciblage, le caractère aléatoire des prélèvements a été retenu. Ils sont réalisés selon les modalités fixées par la décision N° 98/179.

La plupart des pesticides recherchés annuellement dans le cadre de ces PSPC font partie de la famille des pesticides organochlorés, organophosphorés, pyréthrinoides de synthèse et carbamates conformément aux obligations de la directive 96/23. Cependant, d'autres familles telles que les néonicotinoïdes ou les benzoyles urées, peuvent être également recherchées en fonction de la matrice animale connue pour contenir ce type de pesticide, ou à la demande des règlements d'exécution relatifs au programme pluriannuel de contrôle des pesticides (Tableau 2).

## Plan d'échantillonnage pour les PSPC de 2014 et de 2015

Le nombre de prélèvements à réaliser par filière et par lieu de prélèvement (élevage ou abattoir) a été calculé (Tableau 3) :

- pour répondre *a minima* aux dispositions de la directive 96/23/CE, soit au prorata :
  - du nombre d'animaux abattus pour les animaux de boucherie et le gros gibier,
  - des tonnages d'animaux abattus pour les volailles, petits gibiers et lapins,
  - du volume de production pour les poissons d'élevage, lait, œufs et miel;
- pour répondre à une priorisation, fonction du nombre de non-conformités relevées les années précédentes.

Le choix des substances recherchées par famille de contaminants a été établi conjointement avec les LNR en fonction des risques de l'utilisation prévisible, des obligations réglementaires, des méthodes d'analyse utilisées et des performances analytiques.

La stratégie d'échantillonnage mise en œuvre conjointement par la DGAL et le LNR pesticides en accord avec les obligations réglementaires, vise à définir un niveau de contamination représentatif en résidus de pesticides d'une famille de denrée. Même si le dimensionnement de l'échantillonnage semble petit face aux populations cibles, la puissance des méthodes mises en œuvre permet d'obtenir un nombre de mesures de concentration d'un panel important de substance phytopharmaceutiques. Les intervalles de confiance sur les résultats obtenus sont de 1 à plus de 3 % selon les filières, ce qui reste peu précis et difficilement exploitable en l'état. Cependant la répétitivité de ce plan peut nous permettre d'identifier d'éventuelles émergences

## Méthodes de dosage

Les méthodes officielles permettent de couvrir environ 70 pesticides appartenant aux différentes familles.

### Méthodes officielles

Actuellement, il existe plusieurs méthodes multi-résidus permettant de déterminer les teneurs en pesticides dans les DAOA. Elles sont en général fondées sur un protocole d'extraction des résidus de pesticides

et de la matière grasse, et sont donc principalement dédiées aux pesticides liposolubles (Ledoux *et al* 2011). Le dosage des pesticides s'effectue soit par chromatographie en phase gazeuse (CG) couplée à des détecteurs types capture d'électrons (DCE) et thermo-ionique (NPD). Même si ces détecteurs sont toujours utilisés pour le dosage de certains pesticides, la spectrométrie de masse (SM) est désormais utilisée comme détecteur couplé à la chromatographie gazeuse (CG-SM). Les laboratoires s'orientent même de plus en plus vers la chromatographie gazeuse et liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CG-SM/SM et CL-SM/SM). De récents développements dans les analyseurs de masse et le traitement de données permettent également de réaliser des dosages plus précis et spécifiques des pesticides par des techniques de type chromatographie liquide couplée à de la spectrométrie de masse haute résolution.

Suite à la généralisation de l'utilisation de la spectrométrie de masse dans les laboratoires, des méthodes multi-résidus à large spectre peuvent être développées.

### Méthodes multi-résidus à large spectre

La première méthode de type Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) a été développée en 2003 (Anastassiades *et al*. 2003a, 2003b). Elle comporte essentiellement trois étapes, une étape d'extraction, une étape de purification et enfin la détection. En dix ans, les méthodes QuEChERS ont évolué pour répondre aux problématiques spécifiques des DAOA. Le laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE) pour les pesticides à forte teneur en matière grasse dans les DAOA, ainsi que les LNR travaillent sur ce type de méthodes dites à large spectre, car elles présentent non seulement l'avantage de cribler un grand nombre de pesticides de faible à forte polarité, mais également celui d'être rapide et efficace. Ces méthodes développées puis validées selon le guide SANCO 12571/2013 par les LNR peuvent être appliquées aux échantillons dans le cadre des PSPC.

## Résultats

Un résultat d'analyse non-conforme signifie soit la simple présence de résidus de pesticides, lorsque la substance concernée est interdite d'emploi, soit la présence du résidu à une teneur supérieur à la LMR pour les produits autorisés.

Pour l'année 2014, les résultats des plans de surveillance et de contrôle, tous plans confondus, réalisés en France n'ont révélé aucune non-conformité. En 2015, sur 1622 échantillons (3034 analyses effectuées), deux cas de non-conformités ont été mis en évidence, une dans un prélèvement de muscle (0,031 mg/kg) de bovin et l'autre dans un prélèvement d'œuf (0,03 mg/kg). Il s'agit d'une contamination par le hexachlorocyclohexane (nom chimique du lindane) pour lequel les LMR sont de 0,02 mg/kg de muscle et 0,01 mg/kg d'œuf. Le lindane est un insecticide organochloré dont la commercialisation a débuté en 1938. Doté d'un très large spectre d'activité insecticide vis-à-vis des insectes phytophages, des insectes vivant dans le sol et des parasites des animaux et de l'Homme, le lindane a été largement utilisé en agriculture et dans les produits pharmaceutiques, pour le traitement de la gale et l'élimination des poux.

En France, le lindane n'est plus utilisé en agriculture depuis le 1<sup>er</sup> juillet 1998, et depuis 2009 dans le reste du monde. Aucune préparation phytopharmaceutique contenant du lindane n'est plus autorisée à la vente. Cependant pour les utilisations de pesticides non autorisées au niveau communautaire, la réglementation 396/2005 fixe les LMR à un niveau suffisamment bas afin de protéger le consommateur contre l'ingestion de ces résidus de pesticides compte tenu de la rémanence de certains d'entre eux dans le sol.

Les enquêtes réalisées en élevage n'ont pas permis d'identifier la source de contamination.

Pour le muscle de bovin non conforme l'enquête menée dans l'élevage (traditionnel d'une vingtaine d'animaux) n'a pas mis en évidence de sources de contamination par :

- pollution environnementale (l'exploitation est en montagne sans environnement industriel ou artisanal à proximité),
- l'alimentation: uniquement à base de foin produit sur l'exploitation et de complément minéral sous forme de pierre à lécher,
- médicaments vétérinaires (seul traitement Closamectin Pour-On). L'hypothèse d'un traitement des arbres avoisinants a été envisagée mais non confirmée.

Pour l'œuf de poule non-conforme l'enquête menée dans l'élevage plein air n'a également pas mis en évidence de source de contamination par l'alimentation ou l'eau d'abreuvement. L'hypothèse d'une pollution des sols est envisagée. L'éleveur a depuis arrêté son activité œufs plein-air.

## Comparaison avec les données des plans des autres pays européens

Selon le rapport annuel de 2015 de l'Efsa regroupant entre autres les résultats des analyses de pesticides réglementés dans les DAOA obtenus pour 2013 pour l'ensemble des pays européens, sur 8 257 échantillons analysés, 25 d'entre eux (0,3 %) présentaient un dépassement de LMR (Tableau 4). Les pesticides les plus fréquemment retrouvés ou détectés étaient l'hexachlorobenzène, le DDT, le thiaclopride, le lindane, l'endosulfan, l'amitraz et le pirimiphos méthyl. Pour la plupart, ces produits comme les organochlorés ne sont plus utilisés en Europe mais sont fréquemment retrouvés compte tenu de leur rémanence dans l'environnement.

Pour l'année 2013, il n'y a eu aucun dépassement de LMR sur 1 021 échantillons de lait de vache analysés. En revanche, quelques pesticides ont été retrouvés à l'état de traces. Il s'agit de l'hexachlorobenzène et du DDT, tous deux interdits depuis 1979. Le constat est similaire sur 753 échantillons de muscle de porc analysés.

## Discussion - Perspectives

L'ensemble des résultats de l'année 2014 pour la France ne présente aucune non-conformité sur l'ensemble des plans conduits. Les résultats de l'année 2015 ont également été satisfaisants avec un taux de non-conformité compris entre 0,3 % (plan bovin) et 1,2 % (plan œuf). Dans ces deux cas, le résidu de pesticide retrouvé est le lindane. Suites aux enquêtes menées en élevage, il apparaît que la présence dans les échantillons de cette substance ne serait pas due à son utilisation, mais plutôt liée à sa rémanence dans l'environnement dans le cas des œufs.

Afin d'aller plus loin dans les prochaines enquêtes d'investigation et confirmer ou non les hypothèses de contamination des sols, il est envisagé de mettre en œuvre une procédure de prélèvements et d'analyse des sols pour ce type de polluant persistant.

Les résultats obtenus pour les différents plans nationaux de surveillance et de contrôle en France sont comparables avec ceux des autres États membres, à savoir un niveau de contamination faible des pesticides recherchés dans les DAOA. Cependant, quelques non-conformités ont été notifiées, qui sont probablement plus liées à la contamination de l'environnement qu'à l'utilisation des pesticides eux-mêmes. Actuellement, les méthodes officielles permettent de couvrir environ 70 pesticides appartenant aux différentes familles. Ces dernières années, de nouveaux pesticides sont produits par les firmes et utilisés par les agriculteurs. La liste des pesticides à rechercher au niveau de l'Europe a donc évolué. Les laboratoires nationaux de référence ont pour objectif de mettre en place des méthodes plus rapides et à large spectre, méthodes qui permettront d'extraire un plus grand nombre de pesticides pour mieux appréhender la contamination des denrées d'origine animale.

## Références bibliographiques

Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stainbahr, D., Schenck, F., 2003a. Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe (QuEChERS) approach for the determination of pesticide residues. 18th Annual Waste Testing and Quality Assurance Symposium, WTQA 2002 – Proceedings. 231-241 Conference Paper.

Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stainbahr, D., Schenck, F., 2003b. "Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce". J. AOAC Internat., 86, 412-431.

Bilan 2014 de la surveillance sanitaire des denrées animales et végétales (plans de surveillance et de contrôle) - DGAL.

Directive européenne N° 96-23 du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits et abrogeant les directives 85/358/CEE et 84/469/CEE et les décisions 89/187/CEE et 91/664/CEE Consultable sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000697255>.

Efsa. Annual Report on Pesticide Residues according to Article 32 of Regulation (EC) No 396/2005. 2010.

European Commission. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed, Document SANCO/12571/2013 (19/11/2013). [http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance\\_Sanco\\_2013\\_12571.pdf](http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2013_12571.pdf).

European Food Safety Authority, 2015. The 2013 European Union report on pesticide residues in food. Efsa Journal 2015;13(3):4038, 169 pp.. Efsa.2015.4038.

Ledoux, M. 2011. "Analytical methods applied to the determination of pesticide residues in foods of animal origin. A review of the past two decades." J Chromatogr 1218(8): 1021 - 1036.

Règlement (CE) N° 178/2002 du Parlement européen et du Conseil du 28 janvier 2002 établissant les principes généraux et les prescriptions

**Tableau 4. Résultats de la recherche de pesticides dans les DAOA en Europe en 2013 avec dépassement de LMR**

Aliment/pesticide	Origine des aliments	Nombre de non-conformités (/résultats supérieurs aux LMR)	Teneurs en résidus (mg/kg) Min-Max	LMR (mg/kg)
<b>Miel</b>		<b>6/2</b>		
Azoxystrobine	Danemark	5/2	0,011 - 0,086	0,01*
Thiaclopride	Autriche	1/0	0,233	0,2
<b>Gibier</b>		<b>4/0</b>		
DDT	Danemark	4/0	0,057 - 0,095	0,05*
<b>Œufs de poule</b>		<b>3/3</b>		
Lindane	Autriche	2/2	0,254 - 0,295	0,01*
DDT	Danemark	1/1	0,209	0,05
<b>Graisse de porc, muscle de bovin, muscle de volaille</b>		<b>5/4</b>		
Permethrine	Estonie	3/3	0,077 - 0,183	0,05*
Methoxychlore	Estonie, Belgique	2/1	0,018 - 0,021	0,01*

(\*) Valeur correspondant au seuil de quantification (LQ) de la méthode d'analyse

générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires. Consultable sur: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:031:0001:0024:fr:PDF>

Règlement (CE) N° 396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil. Consultable sur: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R0396&from=FR>

Règlement d'exécution (UE) N° 2015/595 de la Commission du 15 avril 2015 concernant un programme de contrôle, pluriannuel et coordonné, de l'Union pour 2016, 2017 et 2018, destiné à garantir le respect des teneurs maximales en résidus de pesticides dans et sur les denrées alimentaires d'origine végétale et animale et à évaluer l'exposition du consommateur à ces résidus. Consultable sur: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R0595&from=EN>

Règlement d'exécution (UE) N° 400/2014 de la Commission du 22 avril 2014 concernant un programme de contrôle, pluriannuel et coordonné, de l'Union pour 2015, 2016 et 2017, destiné à garantir le respect des teneurs maximales en résidus de pesticides dans et sur les denrées alimentaires d'origine végétale et animale et à évaluer l'exposition du consommateur à ces résidus. Consultable sur: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R0400&from=EN>.

Règlement d'exécution (UE) N° 788/2012 de la Commission du 31 août 2012 concernant un programme de contrôle, pluriannuel et coordonné, de l'Union pour 2013, 2014 et 2015, destiné à garantir le respect des teneurs maximales en résidus de pesticides dans et sur les denrées alimentaires d'origine végétale et animale et à évaluer l'exposition du consommateur à ces résidus. Consultable sur: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32012R0788&from=EN>.

# Résultats des plans de surveillance et de contrôle des **résidus de pesticides dans le miel** en 2014 et 2015

Anne-Claire Martel (1) (anne-claire.martel@anses.fr), Adrien Bégau (1), Patrick Mangoni (1), Isabelle Fournet (2)

(1) Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis, Unité de pathologie de l'abeille, Sophia Antipolis, France

(2) Direction générale de l'Alimentation, Service des actions sanitaires en production primaire, Sous-direction de la santé et de la protection animales, Bureau des intrants et de la santé publique en élevage, Paris, France

## Résumé

Les plans de surveillance et de contrôle de la contamination des denrées alimentaires d'origine animale sont mis en place chaque année par la Direction générale de l'Alimentation (DGAL) en application de la réglementation européenne. Pour la filière apicole, les prélèvements sont réalisés au stade de la production primaire chez les apiculteurs français. Les résidus de pesticides (médicaments vétérinaires et phytosanitaires) sont recherchés dans les miels par chromatographie en phase gazeuse (GC) et par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Les résultats des plans de 2014 et 2015 ont montré des taux de contamination très faibles inférieurs aux limites maximales en résidus (LMR).

## Mots-clés

Miel, pesticides, résidus, plan de surveillance, plan de contrôle

## Abstract

### Results of the surveillance and control programmes on pesticide residues in honey for 2014 and 2015

Programs for the surveillance and control of the contamination of foodstuffs of animal origin are organized each year by the Directorate General for Food (DGAL) in accordance with European regulations. For the beekeeping sector, samples are collected at the preliminary stage from French beekeepers. Pesticide residues (veterinary medicinal products and plant protection products) are analyzed in honey using gas chromatography (GC) and liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The results of the 2014 and 2015 plans show low levels of contamination below the maximal residue limits (MRL).

## Keywords

Honey, Pesticides, Residues, Surveillance and control programs

Depuis plusieurs années, la France met en œuvre des plans de surveillance et de contrôle (PSPC) des résidus chimiques dans les denrées alimentaires d'origine animale. Depuis 1997, ces plans sont réalisés conformément aux exigences de la directive 96/23/CE, qui impose aux États membres de l'Union européenne (UE) d'effectuer la recherche des résidus chimiques (plus particulièrement des pesticides) dans ses productions d'origine animale. L'objectif principal de ces plans est d'évaluer le niveau de contamination des denrées alimentaires mises sur le marché national en vue de préserver la santé publique, d'identifier et de supprimer les sources éventuelles de pollution. Dans le cadre de la filière apicole, un échantillonnage de miels est réalisé chaque année par les DDecPP chez les apiculteurs français, et les analyses des résidus de pesticides sont faites à l'Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis.

En France, la filière apicole est représentée par des apiculteurs professionnels qui assurent 63 % de la production de miel et par des apiculteurs pluriactifs ou de loisir. Concernant l'apiculture biologique, l'estimation de la production de miel certifié oscillait en 2014, entre 1 200 et 1 500 tonnes, et représentait environ 10 % de la production nationale de miel [1]. Trois régions rassemblaient plus de 40 % de la production : Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA), Midi-Pyrénées et Rhône-Alpes (Figure 1). En 2014, 13 200 tonnes de miel ont été produites, dont près de 10 000 par les apiculteurs détenant plus de 50 ruches (Tableau 1). Les apiculteurs effectuent les récoltes du miel dans les hausses de la fin du printemps à la fin de l'été selon les régions et les parcours de transhumance. La production est composée de miels poly-floraux ou toutes fleurs et de miels mono-floraux lorsqu'un type de fleur entre majoritairement dans la composition du miel. La répartition des miels prélevés en fonction de leur origine florale est présentée dans la Figure 2 pour 2014 et 2015.

## Échantillonnage

Conformément aux instructions des notes de service DGAL/SDSPA/SDPA/N2013-8214 [2] et DGAL/SDSPA/2014-999 [3], les prélèvements de miel sont réalisés de manière ciblée chez les apiculteurs français. En 2014 et 2015, le nombre de miels prélevés a été établi par type de produit selon l'importance de la production, en fonction d'une clef de répartition fixée au niveau communautaire (directive 96/23/CE) et des

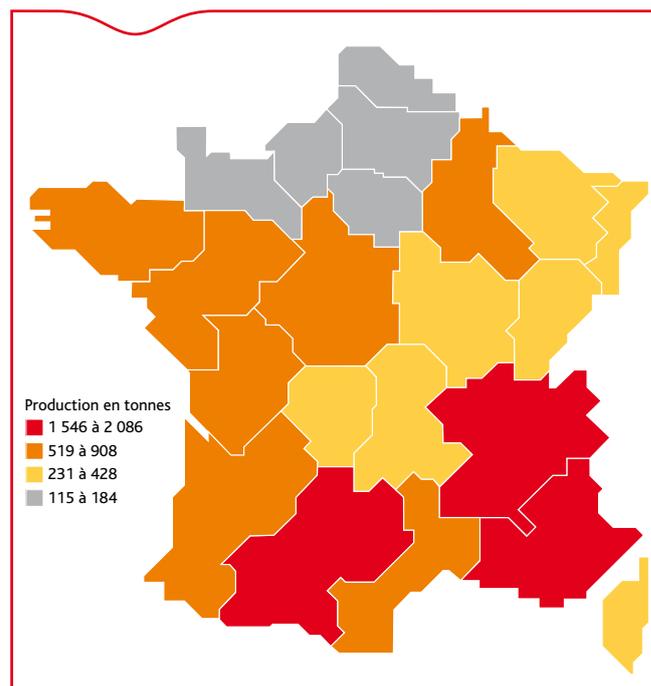


Figure 1. Répartition régionale de la production de miel estimée en 2014 [1]

Tableau 1. Production de miel en 2014 par classes de ruches [1]

Nombre de ruches détenues	Nombre d'apiculteurs	Production de miel (en tonnes)
0-10	25 304	1 277
10-50	8 721	1 956
50-150	1 451	1 550
150-450	1 362	4 962
>450	355	3 461
<b>Total</b>	<b>37 193</b>	<b>13 206</b>
> 50	3 168	9 973

Source : enquête AND International 2014/2015

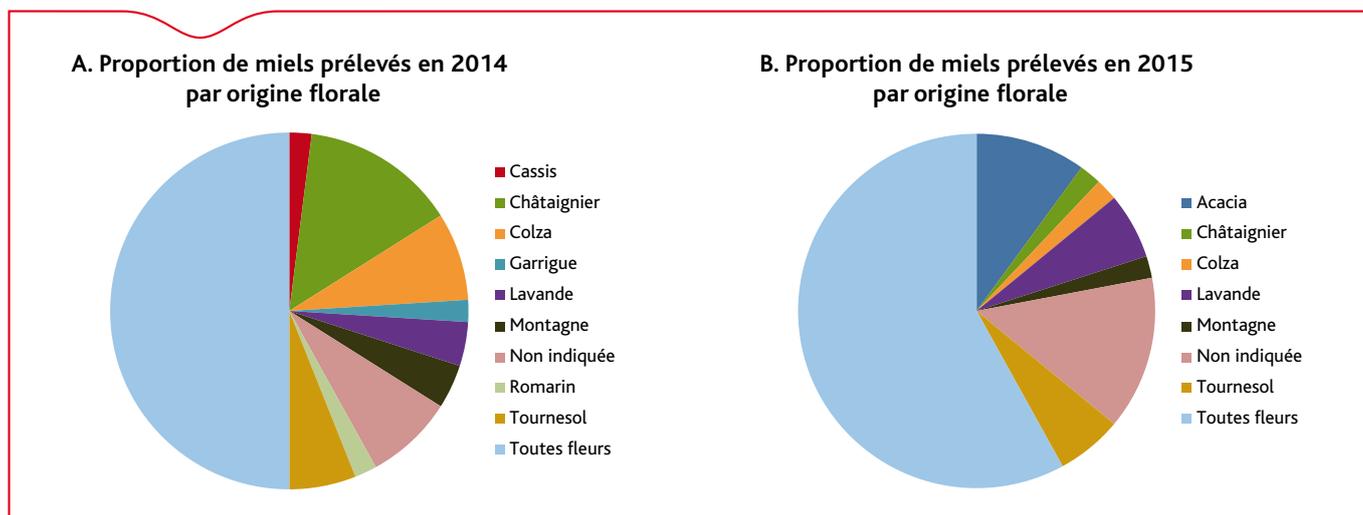


Figure 2. Proportion des miels prélevés par origine florale dans le cadre du plan de contrôle 2014 (A) et dans le cadre du plan de contrôle 2015 (B)

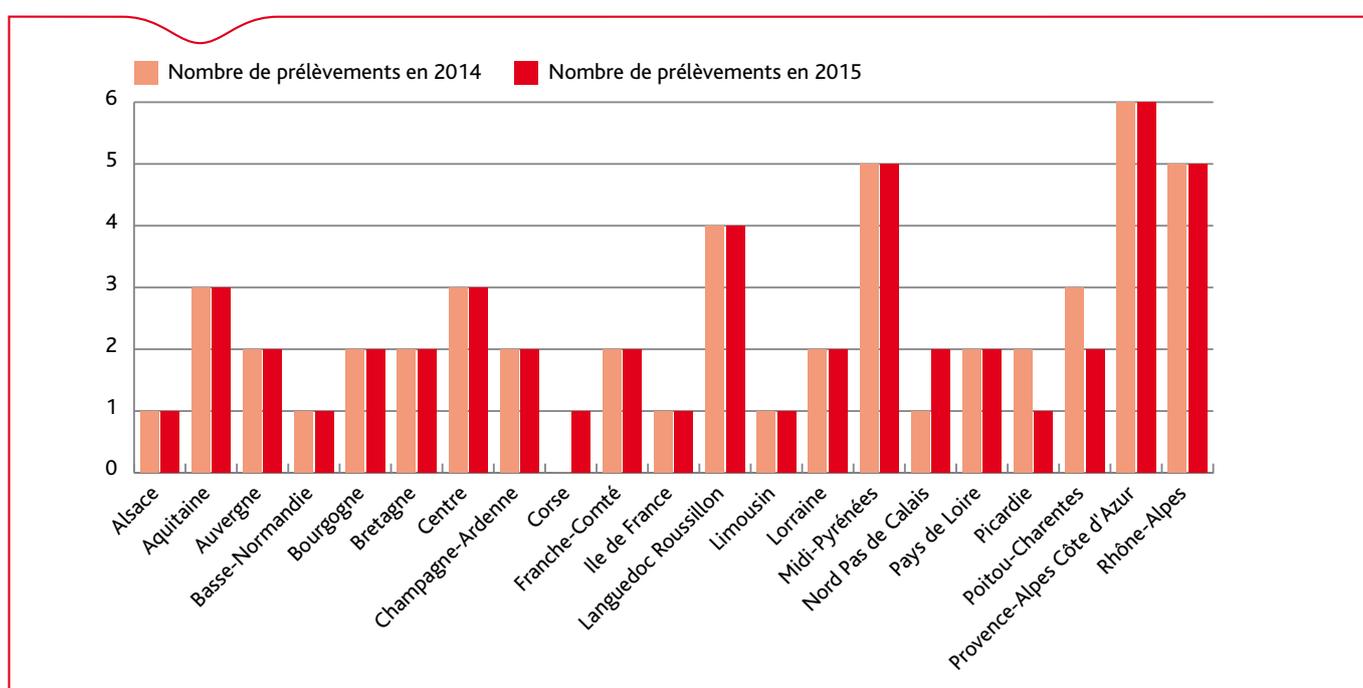


Figure 3. Répartition des prélèvements par région dans le cadre des PSPC 2014 et 2015

résultats des plans des années antérieures. L'échantillonnage a été fait de façon aléatoire (plan de surveillance) pour 54 % des miels en 2014 et 56 % des miels en 2015. Pour les autres miels, l'échantillonnage a été ciblé (plan de contrôle). Vingt régions ont été concernées par ces plans (Figure 3). Pour 2014 et 2015, le plan de contrôle a conduit à réaliser 50 prélèvements sur des miels mono-floraux ou poly-floraux, en excluant des miels de mélange. Différentes variétés florales sont représentées dans les 50 miels échantillonnés respectivement en 2014 et 2015 (Figure 2). Les miels toutes fleurs représentent la variété la plus fréquemment échantillonnée (au moins la moitié des échantillons au cours des deux années).

## Recherche de résidus de pesticides

Les principales molécules recherchées sont les acaricides utilisés pour lutter contre *Varroa destructor*, acarien parasite de l'abeille, dont des résidus peuvent se retrouver dans le miel. L'Apivar® (à base d'amitraz) et l'Apistan® (à base de tau-fluvalinate) sont les principaux médicaments vétérinaires utilisés, possédant une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour le traitement des colonies d'abeilles. D'autres produits sont également autorisés comme le Thymovar®, l'Apilife Var®

ou l'Apiguard® (à base de thymol), ou, plus récemment, le MAQs (à base d'acide formique) ou l'Api-Bioxal® (à base d'acide oxalique) et l'Apitraz® (à base d'amitraz). Les DDecPP indiquent sur les fiches de prélèvement l'utilisation par les apiculteurs de ces différents produits qui doivent être mentionnés dans les registres d'élevage tenus par les apiculteurs. Certains apiculteurs utilisent aussi des produits vétérinaires possédant une AMM pour d'autres espèces comme le Taktic® pour les ruminants (à base d'amitraz). Il y a encore quelques années en arrière, l'Asuntol® (à base de coumaphos) possédant une AMM pour d'autres espèces que les abeilles était utilisé par certains apiculteurs. Des résidus de coumaphos se sont accumulés dans la cire pouvant entraîner une contamination du miel. Ce produit n'est plus autorisé.

Les insecticides de la famille des néonicotinoïdes (imidaclopride, clothianidine, acétamipride, thiaclopride et thiaméthoxam) sont également recherchés dans le miel, molécules solubles dans l'eau et susceptibles de se retrouver dans le miel. Ce sont des insecticides utilisés en agriculture soit pour l'enrobage des semences, soit par pulvérisation foliaire sur les cultures. Il est à noter que l'UE a suspendu l'utilisation de l'imidaclopride, de la clothianidine et du thiaméthoxam sur quatre grandes cultures (maïs, colza, tournesol et coton) depuis fin 2013.

La totalité des analyses de ces résidus de pesticides est réalisée par l'Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis qui est accrédité selon la norme NF EN ISO/CEI 17025. Les méthodes utilisées sont validées selon le document SANCO/12571/2013 [4] et accréditées par le Cofrac. Les analyses quantitatives sont réalisées en chromatographie en phase gazeuse couplée à des détecteurs types capture d'électrons (ECD) et thermo-ionique (NPD) pour la recherche des acaricides et en chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) pour la recherche des néonicotinoïdes dans le miel.

## Résultats

Le laboratoire ayant reçu la totalité des prélèvements prévus, le taux de réalisation des prélèvements est de 100 % pour 2014 et 2015. Des limites maximales de résidus (LMR) sont définies sur le miel pour certaines molécules [5, 6 et 7]: l'acétylcholine (200 µg/kg), le coumaphos (100 µg/kg), l'acétamipride (50 µg/kg) et le thiaclopride (200 µg/kg). Les méthodes d'analyse utilisées permettent de détecter la présence de résidus en dessous de ces valeurs. Les limites de quantification (LQ) sont de 1 µg/kg pour l'imidaclopride, l'acétamipride et le thiaclopride, de 4 µg/kg pour le bromopropylate, le chlorfenvinphos, le thiaméthoxam et la clothianidine, de 5 µg/kg pour le tau-fluvalinate,

de 6 µg/kg pour l'acétylcholine et de 8 µg/kg pour le coumaphos. Les résultats des plans de 2014 et 2015 sont présentés dans les Figures 4 et 5. Les résultats obtenus en 2014 ont montré la présence de traces de résidus d'acétamipride, de thiaclopride, de coumaphos, de tau-fluvalinate et de chlorfenvinphos. Certains miels (8 %) contiennent deux résidus de pesticides. Le chlorfenvinphos, produit phytosanitaire, est recherché dans le miel car il peut être détourné de son emploi et utilisé comme traitement dans les ruches contre le varroa. Des traces de chlorfenvinphos (<LQ) ont été retrouvées en 2014 dans un miel toutes fleurs issu du département de l'Aveyron. Rappelons que son usage est interdit en France et dans la Communauté européenne depuis le 31 décembre 2007. Les résidus d'acétamipride et de thiaclopride sont principalement détectés dans des miels de printemps (colza), toutes fleurs, tournesol, cassis et lavande. Les miels contenant des résidus de coumaphos et de tau-fluvalinate provenaient de colonies dont les traitements n'étaient pas indiqués dans les fiches de prélèvements. Cependant, l'origine de ces résidus de pesticides est soit l'application par l'apiculteur des médicaments vétérinaires correspondants soit le contact du miel avec de la cire contaminée. En effet, certains pesticides liposolubles (acétylcholine, tau-fluvalinate, coumaphos par exemple) ont tendance à s'accumuler dans la cire, et certains sont stables et persistent dans la cire.

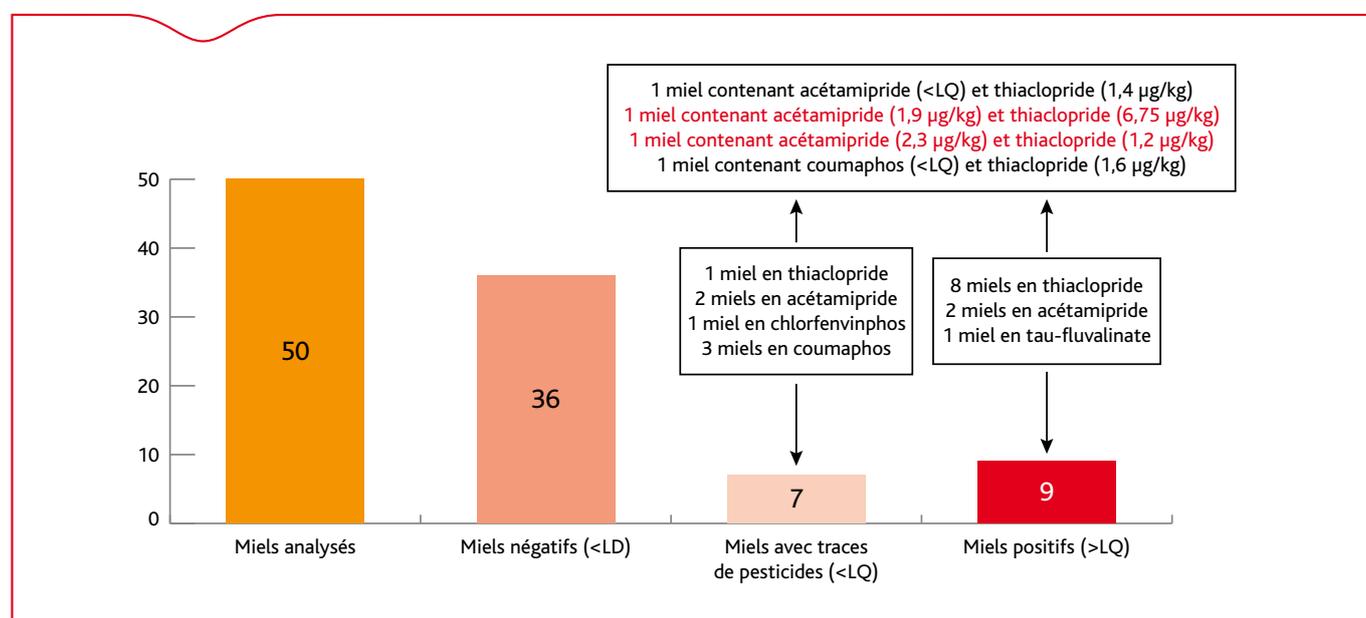


Figure 4. Résultats des analyses de résidus de pesticides dans les miels du plan 2014

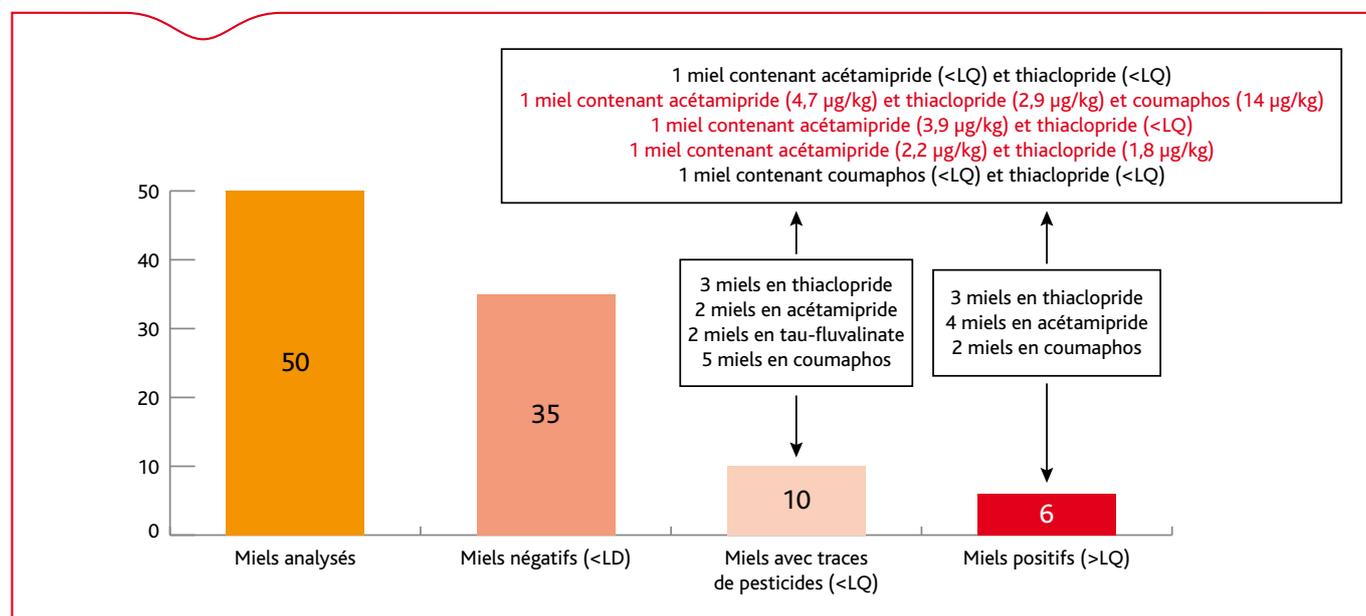


Figure 5. Résultats des analyses de résidus de pesticides dans les miels du plan 2015

## Conclusion/Perspectives

Tous les résidus de pesticides décelés dans le miel dans le cadre des plans de contrôle de 2014 et 2015 présentaient des taux très faibles, inférieurs à la LMR pour le coumaphos, l'acétamipride et le thiaclopride. Cependant, un produit phytosanitaire interdit, le chlorfenvinphos, a été retrouvé dans un prélèvement de miel issu du plan de contrôle de 2014. Il est important de suivre ce pesticide dans les prochains plans de contrôle des miels français. Des investigations par les services vétérinaires sont faites dans ce cas pour déterminer la source de contamination du miel. Il est important également de rappeler qu'il faut préciser sur les fiches de prélèvements les calendriers de traitements indiqués dans les registres d'élevage tenus par les apiculteurs.

Il serait également intéressant d'avoir la date de récolte concernant le miel échantillonné afin de mieux déterminer la source éventuelle de contamination de celui-ci. En fonction de l'environnement du rucher, des produits phytosanitaires appliqués sur les cultures peuvent se retrouver dans le nectar et le pollen récoltés par les abeilles et ainsi, contaminer le miel.

## Références bibliographiques

[1] FranceAgriMer - Synthèses. Filière apiculture, La production française de miel et de gelée royale en France en 2014, Octobre 2015, 5 pages. [http://www.franceagrimer.fr/content/download/41196/384441/file/SYN\\_AUT\\_2015\\_Observatoire\\_production\\_Miel\\_GR\\_A14.pdf](http://www.franceagrimer.fr/content/download/41196/384441/file/SYN_AUT_2015_Observatoire_production_Miel_GR_A14.pdf)

[2] Note de service DGAL/SDSPA/SDPA/N2013-8214 du 17 décembre 2013, Plans de contrôle des résidus chimiques dans les poissons d'élevage, le lait, les œufs et le miel - 2014.

[3] Note de service DGAL/SDSPA/2014-999 du 11/12/2014, Plans de contrôle des résidus chimiques dans les poissons d'élevage, le lait, les œufs et le miel - 2015.

[4] European Commission. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed, Document SANCO/12571/2013 (19/11/2013). [http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance\\_Sanco\\_2013\\_12571.pdf](http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2013_12571.pdf)

[5] Règlement (UE) n°37/2010 de la Commission du 22 décembre 2009 relatif aux substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale. JO, 2010, 1-72.

[6] Règlement européen n°87/2014 du 31 janvier 2014 modifiant les annexes II, III et V du règlement (CE) n° 396/2005 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne les limites maximales applicables aux résidus d'acétamipride, de butraline, de chlorotoluron, de daminozide, d'isoproturon, de picoxystrobine, de pyriméthanol et de trinexapac présents dans ou sur certains produits. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R0087&from=FR>.

[7] Règlement européen n° 364/2014 du 4 avril 2014 modifiant les annexes II et III du règlement (CE) n° 396/2005 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne les limites maximales applicables aux résidus de fenpyroximate, de flubendiamide, d'isopyrazam, de krésoxim-méthyl, de spirotramat et de thiaclopride présents dans ou sur certains produits. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R0364&from=FR>.

# Le dispositif de contrôle des promoteurs de croissance

Stéphanie Prévost (1) (laberca@oniris-nantes.fr), Ludivine Sérée (1), Parina Sittisack (1), Gaud Dervilly-Pinel (1), Bruno Le Bizec (1), Isabelle Fournet (2)  
(1) Oniris, Laboratoire d'étude des résidus et contaminants dans les aliments (Laberca), Laboratoire national de référence pour les promoteurs de croissance et contaminants environnementaux organiques, Lunam Université, Nantes, France  
(2) Direction générale de l'Alimentation, Service des actions sanitaires en production primaire, Sous-direction de la santé et de la protection animales, Bureau des intrants et de la santé publique en élevage, Paris, France

## Résumé

L'utilisation des promoteurs de croissance est interdite en élevage au sein de l'Union européenne depuis 1988. Afin de garantir au consommateur des denrées exemptes de résidus de ce type de substances, un dispositif européen de surveillance et de contrôle accompagne cette mesure, qui en France est organisé depuis 1988 dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle mis en place par la direction générale de l'Alimentation. Le présent article décrit le cadre réglementaire, les modalités de mise en œuvre en termes de composés d'intérêt, d'espèces animales concernées, de matrices biologiques pertinentes et de stratégies analytiques adaptées. Les données issues des plans 2014 illustrent l'ensemble du dispositif.

## Mots-clés

Promoteurs de croissances, plan de surveillance, spectrométrie de masse

## Abstract

### *Surveillance of growth promoters*

*The use of growth promoters in farm animals has been banned within the European Union since 1988. In order to guarantee to consumers that foodstuffs are free from residues of this type of substance, a European surveillance and control system supports this measure, which has been organised in France since 1988 within the framework of the surveillance and control programmes implemented by the Directorate General for Food. This paper aims to describe the regulatory framework and the terms of implementation regarding biological compounds of interest, animal species concerned, relevant biological matrices and appropriate analytical strategies. Data obtained from the 2014 plans illustrate the entire system.*

## Keywords

*Growth promoters, Surveillance programme, Mass spectrometry*

Les promoteurs ou facteurs de croissance se définissent comme des substances anabolisantes permettant d'accroître la masse musculaire, à des fins d'amélioration de performance physique et/ou économique. De tout temps, l'Homme a cherché à améliorer ses performances par des moyens artificiels. Et les premières notions de dopage datent de l'Antiquité (L'Iliade et l'Odyssée). Dès le VI<sup>e</sup> siècle avant J.-C., les athlètes grecs ingéraient déjà des viandes variées selon la discipline sportive qu'ils exerçaient : les sauteurs mangeaient de la viande de chèvre, les boxeurs et les lanceurs, de la viande de taureau, les lutteurs quant à eux préféraient de la viande grasse de porc.

La notion de dopage en élevage est bien plus récente et les premiers scandales sur son utilisation apparaissent au XX<sup>e</sup> siècle. Les stimulants de croissance ou leurs dérivés synthétiques sont alors utilisés pour améliorer la conversion alimentaire des animaux et ainsi leur croissance. Par ce traitement, les animaux se développent plus vite, avec la même quantité d'aliment.

Dans un premier temps, des hormones synthétiques bon marché, tel le diéthylstilbestrol (DES) alors utilisé en médecine humaine ont été administrées aux animaux. Après les différents scandales et les réactions très vives des consommateurs en raison des risques sanitaires associés, ce sont des hormones naturelles qui ont été utilisées :

- des hormones sexuelles (testostérone, oestradiol, progestérone),
- des hormones stéroïdiennes de synthèse (acétate de trenbolone),
- des antithyroïdiens de synthèse (thiouracile),
- des  $\beta$ -agonistes analogues de l'adrénaline (agonistes  $\beta$ 2-adrénérgiques) (clenbutérol),
- l'hormone de croissance hypophysaire (somatotropine).

Les concentrations utilisées étant très faibles et ne conduisant pas à des résidus en quantité supérieure à celles d'animaux non traités dans le cas des hormones naturelles, le débat s'est alors focalisé sur les questions éthiques. Cependant, les résidus font toujours l'objet de rapports très controversés, les partisans prouvant l'innocuité des traitements et les adversaires arguant que les données sont insuffisantes.

Les producteurs aux États-Unis, au Canada et dans d'autres pays utilisent ces stimulants pour trois raisons principales : améliorer la qualité de la viande (en effet, les animaux produisent plus de viande

maigre au détriment du gras), améliorer le taux de conversion (on obtient ainsi un poids supérieur avec moins d'aliments), réduire les coûts de production (le prix de la viande est réduit car une quantité supérieure de viande est produite avec des coûts de production inférieurs).

Au sein de l'Union européenne, l'utilisation des promoteurs de croissance en élevage est régie par un cadre réglementaire, dont l'application est surveillée grâce à un dispositif de contrôle harmonisé au niveau européen. Celui-ci consiste en une détection et identification d'éventuels résidus de ces substances ou de leurs marqueurs dans des matrices animales ou des denrées d'origine animale.

## Références réglementaires

L'utilisation de stéroïdes et thyrostatiques, est prohibée en élevage depuis 1988 (directive 88/146/CEE). Cette législation a évolué au fil des années et s'est traduite en 1996 par un dispositif réglementaire qui encadre l'utilisation en élevage des substances à effet hormonal (œstrogènes, androgènes, progestagènes), ou thyrostatique, ainsi que les substances  $\beta$ -agonistes (directive 96/22/EC, modifiée par les directives 2003/74/EC et 2008/97/EC). Les substances interdites y sont listées en Annexe II. Il est toutefois prévu que certains États membres puissent déroger à l'interdiction de ces substances pour quelques indications thérapeutiques ou zootechniques, sous réserve que ces substances entrent dans la composition de médicaments vétérinaires ayant reçu une autorisation de mise sur le marché (AMM) et que les contrôles analytiques de recherche de résidus correspondants soient disponibles.

L'utilisation de l'hormone de croissance est, quant à elle, interdite en Europe depuis 1990 (décision 1990/218/CEE) suivie d'un moratoire (décision 1994/936/CE) prolongé depuis 1999 par la décision 1999/879/EC.

Les premiers contrôles de l'utilisation frauduleuse de ces substances sont cadrés par la directive 85/358/CEE. Cette législation évolue en parallèle de la législation sur l'utilisation des promoteurs de croissance et se traduit en 1996 par la directive 96/23/EC qui, outre le contrôle de l'utilisation frauduleuse de promoteurs de croissance, englobe et harmonise la surveillance et le contrôle de tous les types de résidus

chimiques dans les denrées alimentaires d'origine animale dont le danger pour la santé humaine est avéré ou potentiel (résidus de médicaments vétérinaires et contaminants environnementaux). Elle met en avant l'obligation de désignation des laboratoires nationaux de référence et leur rôle fondamental dans l'animation des réseaux de laboratoire pour la réalisation des analyses officielles. Elle est complétée par :

- la décision 97/747/CE qui fixe le niveau et la fréquence d'échantillonnage pour certaines filières,
- la décision 98/179/CE qui fixe les modalités d'échantillonnage officiel,
- la décision 2002/657/CE qui porte modalité d'application de la directive 96/23 en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats.

Les directives européennes sont transposées en droit national pour devenir effectives dans chaque État membre. En France, les articles R. 234-1 à R. 234-14 du Code rural et de la pêche maritime (CRPM) reprennent pour partie ces directives relatives aux promoteurs de croissance

## Les plans de contrôle mis en œuvre en 2014 (Tableau 1)

La directive 96/23/CE, complétée de la décision 97/747/CE, cadre la stratégie, le niveau et la fréquence d'échantillonnage pour les huit plans de contrôle à mettre en œuvre chaque année en production primaire pour la recherche des promoteurs de croissance dans les filières suivantes :

- bovine, porcine, volaille au niveau des élevages et abattoirs;
- ovine/caprine, équine, lapin, gibier d'élevage au niveau des abattoirs;
- poissons d'élevage, au niveau des élevages ou à la première transformation.

Les prélèvements sont ciblés et inopinés. Les critères de ciblage peuvent être liés au type de production ou toute autre information dont disposent les DDecPP. Les groupes de promoteurs de croissance recherchés annuellement dans le cadre de ces plans de contrôle sont conformément à la directive 96/23 : les stilbènes et dérivés de stilbènes (groupe A1), les antithyroïdiens de synthèse (groupe A2),

### Encadré.

#### Objectifs

Vérifier le respect de l'interdiction réglementaire relative à l'utilisation des promoteurs de croissance.

Vérifier l'absence de résidus de promoteurs de croissance dans les matrices d'animaux destinés à la consommation humaine.

Mise en évidence de pratiques frauduleuses.

#### Cadre de la programmation

Directive 88/146/CEE du 7 mars 1988 interdisant l'utilisation de certaines substances à effet hormonale dans les spéculations animales.

Directive 96/22 EC modifiée par les directives 2003/74/EC et 2008/97/EC concernant l'interdiction d'utilisation de certaines substances à effet hormonal ou thyrostatique et des substances  $\beta$ -agonistes dans les spéculations animales.

Directive 96/23/EC du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits,

Décision 2002/657/EC du 12 août 2002 portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats.

Code de la Santé Publique et Code Rural et des Pêches Maritimes.

#### Protocole

- **Nature des composés recherchés :** substances à effet hormonal (œstrogènes, androgènes, progestagènes), stilbènes, lactones d'acides résorcylique, antithyroïdiens de synthèse ainsi que les substances  $\beta$ -agonistes et les corticostéroïdes.

les stéroïdes (groupe A3), les lactones de l'acide résorcylique (groupe A4) et les  $\beta$ -agonistes (groupe A5). Soulignons que la recherche des corticostéroïdes (Groupe B2f) est traditionnellement associée à celle des promoteurs de croissance, car historiquement, en Europe, ils ont été retrouvés dans le cadre d'investigations liées à des mésusages de  $\beta$ -agonistes et/ou aux stéroïdes.

Hors obligations réglementaires, la France a choisi de contrôler également la présence d'hormones de croissance (somatotropines) chez les bovins et les poissons.

Le choix des matrices prélevées a été défini selon leur pertinence en termes, soit de moyen d'administration possible (alimentation), soit de matrice concentrant le mieux les résidus trace d'administration.

## Échantillonnage et répartition des prélèvements en 2014

Le nombre de prélèvements à réaliser par filière et par lieu de prélèvement (élevage ou abattoir) pour les plans de contrôle des promoteurs de croissance a été calculé (Tableau 2) :

1. Pour répondre aux dispositions de la directive 96/23/CE, soit au prorata :

- du nombre d'animaux abattus pour les animaux de boucherie et le gros gibier;
- du tonnage abattu pour la volaille, le petit gibier et le lagomorphe;
- du tonnage de production pour les poissons d'élevage.

2. Pour répondre à une priorisation fonction du nombre de non conformités relevées les années précédentes

La répartition régionale de ces prélèvements a été faite au prorata des volumes d'élevage pour les prélèvements en élevage et au prorata des volumes d'abattage pour les prélèvements en abattoirs tel qu'illustré en Figure 1.

## Promoteurs de croissance recherchés et méthodes d'analyse

La directive 96/23/EC impose aux États membres le développement de méthodes analytiques fiables pour le contrôle de l'utilisation

- **Productions concernées :** productions nationales bovine, porcine, ovine, caprine, équine, volaille, aquaculture, lagomorphe, gibier.

- **Stade de la chaîne alimentaire :** élevage, abattoir.

- **Définition « non-conforme » :** un échantillon est déclaré non-conforme, si la concentration mesurée de l'analyte d'intérêt dépasse la limite de décision de la méthode de confirmation (art 6, décembre 2002/657/EC).

- **Nombre d'échantillons et modalités d'échantillonnage :**

Le nombre de prélèvements à conduire par filière et par lieu de prélèvement (élevage ou abattoir) a été calculé pour répondre aux dispositions de la directive 96/23/EC. Le nombre de prélèvements à réaliser est fonction :

- du nombre d'animaux abattus pour les animaux de boucherie et le gros gibier,
- du tonnage abattu pour la volaille, le petit gibier et les lagomorphes,
- du volume de production pour les poissons d'élevage.

- **Stratégie d'échantillonnage :** ciblée (conformation des animaux par exemple).

- **Méthodes analytiques :** spectrométrie de masse de type multi-dimensionnelle (MS/MS) pour les analyses de dépistage et de confirmation. Techniques spécifiques telles que haute résolution (HRMS), et de rapport isotopique (IRMS) également mises en œuvre dans le cadre d'analyses de confirmation.

- **Nature des prélèvements :** matrices biologiques telles que les urines, les phanères, les tissus, les rétines, les fèces et le sang.

Tableau 1. Les plans de contrôles des promoteurs de croissance dans les matrices animales pour 2014

Filière	Groupe de promoteurs	Alimentation animale	Sang	Urine	Poil	Poumon	Œil	Thyroïde	Muscle ou foie
Bovins	Stilbènes	X		X	X				X
	Anti-thyroïdiens	X		X				X	
	Stéroïdes	X		X	X				X
	Esters de stéroïdes				X				
	Acide résorcylique	X		X	X				X
	β-agonistes	X		X	X	X	X		
	Glucocorticoïdes					X			X
	Somatotropine bovine recombinée		X						
Porcins	Stilbènes	X		X					X
	Anti-thyroïdiens	X		X					
	Stéroïdes	X		X					X
	Esters de stéroïdes				X				
	Acide résorcylique	X		X					X
	β-agonistes	X				X	X		
	Glucocorticoïdes				X				X
Ovins, caprins, équins	Stilbènes			X					
	Antithyroïdiens			X					
	Stéroïdes			X					
	Acide résorcylique			X					
	β-agonistes					X			
	Glucocorticoïdes				X				X
Volaille	Stilbènes	X							X
	Stéroïdes	X							X
	Acide résorcylique	X							X
	β-agonistes	X				X			
Lapin, Gibier	Stilbènes								X
	Stéroïdes								X
	Acide résorcylique								X
	β-agonistes					X			
Poisson	Stilbènes								X
	Stéroïdes								X
	Acide résorcylique								X
	somatotropine		X						

frauduleuse de facteurs de croissance en élevage, sous la coordination des laboratoires de référence de l'Union européenne (EU-RL) désignés par la Commission européenne. Le RIKILT (Wageningen, Pays-Bas) est l'EU-RL pour les promoteurs de croissance présentant une activité hormonale et le BVL (Berlin, Allemagne) est l'EU-RL pour les substances de type β-agonistes. Les missions de ces laboratoires sont de contribuer à l'évolution des méthodes analytiques, leur validation et l'harmonisation des performances sur le territoire européen.

Outre les familles listées dans l'annexe I de la directive 96/23/EC, d'autres substances non réglementées peuvent faire l'objet de surveillance sur la base d'informations issues de la Brigade nationale d'enquêtes vétérinaires et phytosanitaires ou du laboratoire national de référence. C'est le cas des SARMS (Selective Androgen Receptor Modulators). Ces substances sont aujourd'hui recherchées dans le cadre d'un plan exploratoire.

Les méthodes officielles permettent aujourd'hui la détection et l'identification d'environ 70 promoteurs de croissance. L'analyse de première intention réalisée sur un échantillon, dite de dépistage, doit être rapide, facile à mettre en œuvre, peu onéreuse, sensible et robuste. Ces méthodes présentent une grande capacité de traitement et sont appliquées par les onze laboratoires du réseau « Promoteurs de Croissance » répartis sur le territoire, pour passer au crible de nombreux échantillons en vue de distinguer rapidement les échantillons « conformes » des « suspects ». Un échantillon est déclaré suspect lorsqu'à l'issue du dépistage, l'identité du composé est affirmée et, le cas échéant, lorsque la molécule est soumise à une limite maximale résiduelle, sa concentration excède ce seuil.

Cette première étape doit permettre la sélection d'échantillons suspects qui devront ensuite être diagnostiqués conformes ou non par une méthode de confirmation. L'échantillon est alors ré-extrait pour vérifier qu'il ne s'agit pas d'un faux diagnostic (contamination, inversion d'échantillon...). La non-conformité est prononcée lorsque la concentration du composé identifié est supérieure au seuil de décision ou CCa. Les performances des méthodes ainsi développées doivent satisfaire, pour l'étape de dépistage une proportion de résultats faux-conformes (faux négatifs) inférieure à 5 % et pour l'étape de confirmation une proportion de résultats faux non-conformes (faux positifs) inférieure à 1 %. Les exigences relatives aux performances des méthodes ainsi qu'à l'interprétation des résultats sont décrites dans la décision 2002/657/EC.

Si les méthodes de dépistage peuvent reposer sur différentes techniques analytiques (immuno-essais, spectrométrie de masse...), les méthodes de confirmation impliquent quant à elles, l'analyse ciblée du composé administré et/ou de ses métabolites directs par chromatographie couplée à une détection par spectrométrie de masse pour une identification non ambiguë de l'analyte d'intérêt et sa quantification.

#### Méthodes de dépistage

Les analyses officielles de dépistage sont conduites par le réseau des laboratoires de première intention agréés par la direction générale de l'Alimentation. Ces structures disposent de méthodes multi-résidus officielles, développées et validées par le LNR, selon la décision 2002/657/CE. Ces méthodes permettent la recherche de promoteurs

**Tableau 2. Nombre de prélèvements à réaliser par filière et lieu de prélèvement**

	Population cible 2014	Taille de l'échantillon national minimal annuel imposé par la réglementation pour la recherche des promoteurs de croissance et autres substances interdites (groupe A)		Taille minimale de l'échantillon national par sous-groupe			Solde à répartir en fonction de la priorisation de l'État membre (année de référence 2014)	Programmation DGAL 2014			
								Élevage	Abattoir	Total	
Bovins	4 775 000 (nombre total de bovins abattus sur 12 mois)	0,25 % de la production dont la moitié en élevage	11 937 échantillons dont 6 000 en élevage	A1	Stilbènes	5 %	597	8 356	2 100	2 100	4 200
				A3	Stéroïdes (+esters)	5 %	597				
				A4	Acides résorcyliques	5 %	597				
				A2	Anti-thyroïdiens	5 %	597		400	300	700
				A5	β-agonistes	5 %	597		1 800	1 900	3 700
				A6	Substances incluses dans 37/2010 - Tableau 2	5 %	597		1 700	1 700	3 400
	Abs*	Abs*	B2f	Glucocorticoides	Abs	Abs			600	600	
								200		200	
<b>Total promoteurs bovins</b>										<b>9 400</b>	
Porcins	23 933 000 (nombre total de porcins abattus sur 12 mois)	0,02 % de la production avec un minimum de 0,001 % en élevage	4 787 échantillons (têtes différentes) dont 239 en élevage	A1	Stilbènes	5 %	239	3 351	130	190	320
				A3	Stéroïdes (+esters)	5 %	239				
				A4	Acides résorcyliques	5 %	239				
				A2	Anti-thyroïdiens	5 %	239		40	200	240
				A5	β-agonistes	5 %	239		40	200	240
				A6	Substances incluses dans 37/2010 - Tableau 2	5 %	239		90	3 910	4 000
	Abs*	Abs*	B2f	Glucocorticoides	Abs	Abs			200	200	
<b>Total promoteurs porcins</b>										<b>1 000</b>	
Petits ruminants	4 472 000 (nombre total d'ovins-caprins abattus sur 12 mois)	0,01 % de la production	447 échantillons	A1	Stilbènes	5 %	22	313		100	100
				A3	Stéroïdes	5 %	22				
				A4	Acides résorcyliques	5 %	22				
				A2	antithyroïdiens	5 %	22			30	30
				A5	β-agonistes	5 %	22			100	100
				A6	Substances incluses dans 37/2010 - Tableau 2	5 %	22			220	220
	Abs*	Abs*	B2f	Glucocorticoides	Abs	Abs			140	140	
<b>Total promoteurs petits ruminants</b>										<b>370</b>	
Équins	19 000 (nombre total d'équins abattus sur 12 mois)	Pas de minimum imposé mais obligation de chercher les substances du groupe A		A1	Stilbènes	Abs	Abs		4	4	4
				A3	Stéroïdes	Abs	Abs				
				A4	Acides résorcyliques	Abs	Abs				
				A2	Anti-thyroïdiens	Abs	Abs		4	4	4
				A5	β-agonistes	Abs	Abs		4	4	4
				A6	Substances incluses dans 37/2010 - Tableau 2	Abs	Abs		4	4	4
	B2f	Glucocorticoides	Abs	Abs	4	4	4				
<b>Total promoteurs équins</b>										<b>16</b>	
Volailles	1 703 000 tonnes abattues sur 12 mois	0,25 % du tonnage abattu avec un minimum de 0,05 % en élevage	4 269 échantillons (lots différents)	A1	Stilbènes	5 %	213	3 204	68	247	315
				A3	Stéroïdes	5 %	213				
				A4	Acides résorcyliques	5 %	213		187	695	882
				A5	β-agonistes	5 %	213				
				A6	Substances incluses dans 37/2010 - Tableau 2	5 %	213				
<b>Total promoteurs volailles</b>										<b>1 197</b>	
Lapins	46 000 tonnes abattues sur 12 mois	30 prélèvements + 0,1 % du « tonnage abattu -3 000 t »	73 échantillons (lots différents)	A1	Stilbènes	30 %	22			5	5
				A3	Stéroïdes						
				A4	Acides résorcyliques						
				A5	β-agonistes				10	10	
				A6	Substances incluses dans 37/2010 - Tableau 2	70 %	51			60	60
<b>Total promoteurs lapins</b>										<b>15</b>	

\* Abs : pas de minimum imposé spécifiquement imposé

**Tableau 2. Nombre de prélèvements à réaliser par filière et lieu de prélèvement (suite)**

	Population cible 2014	Taille de l'échantillon national minimal annuel imposé par la réglementation pour la recherche des promoteurs de croissance et autres substances interdites (groupe A)	Taille minimale de l'échantillon national par sous-groupe	Solde à répartir en fonction de la priorisation de l'État membre (année de référence 2014)	Programmation DGAL 2014				
					Élevage	Abattoir	Total		
Gibier d'élevage	3000 têtes gros gibier 9000 tonnes petits gibiers abattus sur 12 mois	20 prélèvements	20 échantillons (lots différents)	A1 Stilbènes	Abs	Abs			
				A3 Stéroïdes	Abs	Abs			
				A4 Acides résorcyliques	Abs	Abs			
				A5 β-agonistes	Abs	Abs			
				A6 Substances incluses dans 37/2010 - Tableau 2	Abs	Abs			
<b>Total promoteurs gibier</b>								<b>8</b>	
Poissons élevage	50000 tonnes abattues sur 12 mois	0,333 %	165 échantillons (lots différents)	A1 Stilbènes	Abs	Abs			
				A3 Stéroïdes	Abs	Abs			
				A4 Acides résorcyliques	Abs	Abs			
				A6 Substances incluses dans 37/2010 - Tableau 2	Abs	Abs			
				B2f Somatotropine	Abs	Abs			
<b>Total promoteurs poissons</b>								<b>100</b>	
<b>Total promoteurs toutes filières</b>								<b>12 106</b>	

\* Abs : pas de minimum imposé spécifiquement imposé

de croissances dans des matrices biologiques complexes comme les urines, les phanères (par ex. poil) ou d'autres matrices retenues en fonction de leur pertinence. La rétine est par exemple une matrice biologique intéressante, car elle fixe durablement les résidus d'agonistes β 2-adrénergiques et permet la démonstration de la fraude, longtemps après l'administration de la substance. Elle est privilégiée en abattoir. Le poil possède lui aussi cette propension à fixer les résidus de stéroïdes ou de β-agonistes allongeant ainsi la fenêtre de la détection. Cette matrice est retenue à la fois en élevage et en abattoir. Il existe ainsi plusieurs couples matrices/molécules qui augmentent l'efficacité du contrôle (par ex. β-agonistes/poumon ou rétine, stéroïdes/fèces, progestagènes/tissu adipeux, thyrostatiques/thyroïde...).

La nature des extraits biologiques, souvent complexe, nécessite généralement plusieurs étapes d'extraction et de purification avant caractérisation de leur contenu. Les méthodes de mesure doivent combiner sélectivité et sensibilité, car les résidus de ces substances sont présents le plus souvent à l'état d'ultra-traces (ng.kg<sup>-1</sup> au pg.kg<sup>-1</sup>). Parmi les méthodes les plus utilisées aujourd'hui, on retrouve la chromatographie couplée à la spectrométrie de masse. Il peut s'agir de chromatographie en phase gazeuse pour les petites molécules thermostables et volatiles (stéroïdes, stilbènes, lactones de l'acide résorcylique) ou de la chromatographie en phase liquide pour les autres (β-agonistes, thyrostatiques, somatotropine, corticostéroïdes). Pour une spécificité accrue de la détection, la spectrométrie de masse est systématiquement de type multidimensionnelle (MS/MS), elle peut être parfois de type haute résolution (HRMS).

### Méthodes de confirmation

Une analyse de confirmation peut être mise en œuvre lorsque, à l'issue de l'analyse de dépistage, le laboratoire du réseau a suspecté la présence d'un des composés recherchés. La stratégie de confirmation et la technique d'analyse mise en œuvre sont définies spécifiquement en fonction de la nature de l'analyte suspecté et de sa concentration. On distingue pour cela deux sous groupes de substances parmi les promoteurs de croissance: les substances dites xénobiotiques pour lesquelles la seule détection signe sans ambiguïté une utilisation frauduleuse chez l'animal de substances chimiques et les substances de nature endogène (par ex. estradiol, testostérone...) pour lesquelles la détection n'implique pas forcément la non-conformité de l'échantillon. En effet, les stéroïdes androgéniques (testostérone, nandrolone, boldénone) et estrogéniques (estradiol) peuvent être détectés à

des concentrations très variables en fonction de l'âge, du sexe et de l'état physiologique de l'animal. Dans le cas de la testostérone et de l'estradiol, la mesure de la composition isotopique en carbone <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C par spectrométrie de masse de rapport isotopique (GC-C-IRMS) permet de distinguer le caractère endogène ou exogène des résidus, notamment dans l'urine de l'animal. Le poil peut être aussi utilisé pour ce type de composés, car les résidus des formes esters de stéroïdes administrés peuvent s'y fixer, ce qui démontre sans contestation l'usage de la dite substance, l'organisme de l'animal ne produisant pas ce type de dérivé (par ex. boldénone undécylénate, nandrolone cypionate...). La présence de certaines substances peut également être attribuée à l'alimentation de l'animal. Il s'agit notamment du zéranol (groupe A4) ou encore du thiouracile (groupe A2) qui peuvent être respectivement la conséquence d'un aliment contaminé par une mycotoxine (la zéaralénone) ou encore une alimentation enrichie en brassicacées (Pinel *et al.*, 2006). Pour toutes ces situations délicates, le LNR se charge des confirmations et des interprétations.

## Résultats - Bilan 2014

À l'issue de l'étape de dépistage, réalisée sur l'ensemble des prélèvements, les analyses mises en œuvre dans le cadre de confirmations ont majoritairement concerné les composés considérés comme potentiellement endogènes tels la boldénone, la nandrolone, l'estradiol, la testostérone, le zéranol, le taléranol et qualifiés d'hormones naturelles, mais aussi des composés strictement xénobiotiques tels les β-agonistes, les esters de stéroïdes (A1 et A3). La ventilation des analyses de confirmation en fonction du groupe de substances d'intérêt pour l'année 2014, est représentée dans la Figure 2.

Les non-conformités observées concernent d'une part des dépassements de la LMR pour la dexaméthasone dans la matrice foie pour le groupe de substances B2f, d'autre part la présence de thiouracile identifiée dans des urines à des concentrations variables et supérieures à 10 µg.L<sup>-1</sup> pour deux prélèvements. Ces concentrations en thiouracile ne sont toutefois pas incompatibles avec une alimentation enrichie en brassicacées (Pinel *et al.* 2006).

Au niveau européen, il convient de souligner que la majorité des États membres réalise le nombre minimum de prélèvements imposés par la directive 96/23 EC et la décision 97/747 EC. Les matrices prélevées sont globalement similaires entre les États membres, ainsi les prélèvements

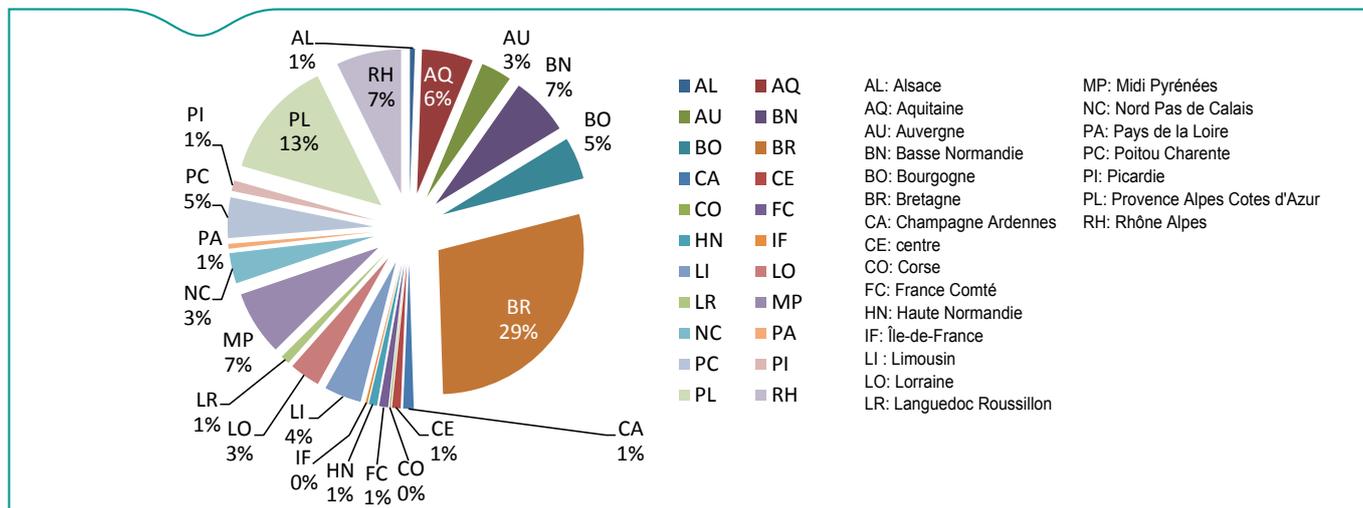


Figure 1. Répartition régionale des prélèvements réalisés pour le groupe de substances A1 à A5 et B2f (2014)

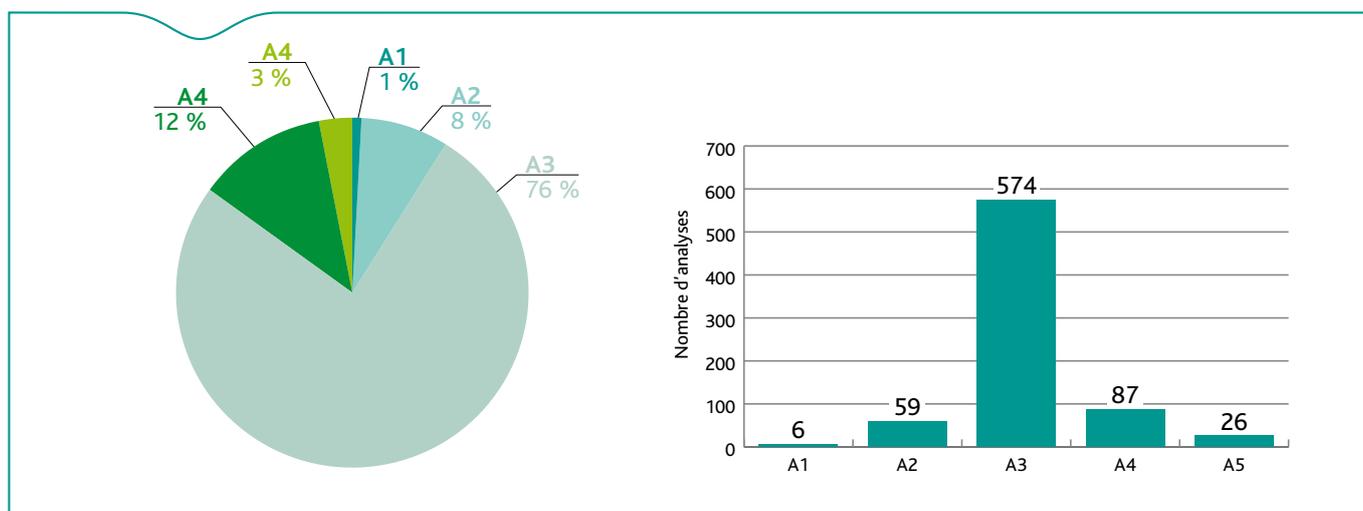


Figure 2. Répartition du nombre d'analyses de confirmation réalisées selon le groupe de substances (2014)

d'urine, de tissu, de phanère et d'aliments sont majoritairement représentés pour la recherche des promoteurs de croissance.

La tendance depuis 2013 semble être une augmentation des non-conformités déclarées par les États membres, le rapport de l'European Food Safety Authority (EFSA, 2016) indique cependant que les substances mises en évidence ne sont pas systématiquement attribuées à une utilisation illégale, mais plutôt le résultat de déclarations relatives aux hormones naturelles, notamment pour le groupe de substances A3 correspondant aux stéroïdes et pour lesquels les non-conformités représentent 0,08 % des mesures associées à ce groupe de composés. En effet certains des composés mis en évidence peuvent être rencontrés chez les espèces concernées de manière endogène sans qu'il y ait eu un traitement illégal. Il s'agit par exemple de la boldénone (forme  $\alpha$  et  $\beta$ ), la  $17\alpha$ -nandrolone et la  $17\alpha$ -testostérone. Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait que les États membres ne disposent toujours pas de méthodes et/ou techniques de confirmation spécifiques et adaptées dans le cas particulier des hormones naturelles. En ce qui concerne les agents thyroïdiens (groupe A2), 0,59 % des échantillons analysés ont été reportés non conformes et concernent exclusivement le thiouracile. Le groupe B2f est également représenté au niveau européen par 28 prélèvements non conformes reportés.

## Conclusion - Perspectives

Le contrôle de l'usage des promoteurs de croissance est aujourd'hui assuré par un maillage de compétences associant :

- les DDecPP qui assurent le ciblage des prélèvements ;
- le réseau des laboratoires officiels qui mettent en œuvre des

méthodes de dépistage permettant la recherche d'environ 70 composés différents, appartenant aux différents groupes connus de promoteurs de croissance ;

- le LNR qui développe et met en œuvre des méthodes de confirmation performantes et spécifiques.

Les principaux freins à un contrôle encore plus efficace de l'utilisation des promoteurs de croissance sont aujourd'hui de trois types :

- la difficulté de prélèvement de certaines matrices sur les animaux cibles ;
- la détection des substances naturelles douées de propriétés anabolisantes ;
- la mise en évidence de molécules inconnues.

Dans le premier cas, le frein est de taille car si cette difficulté de prélèvement n'est pas prise en considération, il reste très peu probable que le ciblage et ainsi la détection de pratiques frauduleuses puisse être identifiée quelle que soit la méthode utilisée et sa performance. Un plan expérimental de prélèvement de fèces a été mis en place afin d'évaluer l'intérêt scientifique de cette matrice pour la recherche des substances stéroïdiennes et envisager la collecte des fèces plutôt que des urines, difficiles à prélever chez les animaux cibles.

Dans le deuxième cas, et en accord avec une convention établie entre la DGAL et le Laberca, des méthodes analytiques spécifiques ont été développées récemment. Elles reposent sur l'utilisation de la spectrométrie de masse de rapport isotopique qui permet de mesurer avec une grande précision le rapport carbone  $^{12}$ /carbone  $^{13}$  dans une molécule, proportion qui diffère selon que la molécule soit endogène ou de synthèse (Buisson *et al.*, 2005 ; Janssens *et al.*, 2015). Cette

stratégie n'est cependant présente que dans un nombre restreint d'États membres (trois laboratoires). Des stratégies alternatives et plus abordables pour l'ensemble des États membres sont également investiguées et reposent notamment sur la combinaison de couples matrice/résidus pertinents, par exemple sang/esters de stéroïdes ou poils/esters de stéroïdes (Kaabia *et al.* 2013).

En ce qui concerne la détection de composés inconnus, ou plus largement de manipulations physiologiques frauduleuses, des approches d'exploration globale du fonctionnement de l'organisme, investiguées au cours de la dernière décennie, ont d'ores et déjà fait leurs preuves. Ces stratégies ne cherchent pas à identifier directement la présence de molécules suspectées ou de leurs métabolites directs, mais à révéler une signature métabolique ou physiologique spécifique pouvant être associée à une pratique anabolisante. Ces approches dites « indirectes » ou « non ciblées » (Nebbia *et al.*, 2011; Pinel *et al.*, 2010) reposent sur des méthodes telles la transcriptomique (Riedmaier, 2015; Riedmaier *et al.*, 2009a; Riedmaier *et al.*, 2012; Riedmaier and Pfaffl, 2013; Riedmaier *et al.*, 2009b, c), la protéomique (Cacciatore *et al.*, 2009; Cunningham *et al.*, 2009; Kinkead *et al.*, 2015) ou la métabolomique (Dervilly-Pinel *et al.*, 2015a; Dervilly-Pinel *et al.*, 2012; Gallart Ayala *et al.*, 2015; Jacob *et al.*, 2014; Kouassi Nzoughet *et al.*, 2015b), incluant ses déclinaisons que sont la lipidomique (Kouassi Nzoughet *et al.*, 2015a) et la stéroïdomique (Dervilly-Pinel *et al.*, 2011; Kaabia *et al.*, 2014). Ces nouvelles approches permettent ainsi de découvrir des marqueurs moléculaires d'effets, qui peuvent ensuite faire l'objet d'un suivi ciblé dans un contexte de dépistage de pratiques anabolisantes. Un tout premier exemple de suivi de biomarqueurs identifiés *via* une approche métabolomique (Dervilly-Pinel *et al.*, 2015a) et dédié au dépistage de l'utilisation de composés  $\beta$ -agonistes chez le veau est ainsi mis en œuvre depuis 2013 en France pour le contrôle officiel (Dervilly-Pinel *et al.*, 2015b). Il s'agit d'une première mondiale en la matière.

Ces évolutions récentes pourraient s'avérer efficaces pour augmenter la pression de contrôle et *in fine* permettre la détection d'un panel élargi et réaliste de pratiques anabolisantes.

De plus, et en ce qui concerne l'évolution du contexte réglementaire, il est attendu que la réglementation européenne en matière de contrôle de l'usage des facteurs de croissance intègre de nouveaux paramètres pouvant être utilisés pour organiser encore plus efficacement les plans de contrôle, en l'occurrence l'intégration des progrès techniques relatifs à la détection mais aussi les nouveaux usages ou substances à activité hormonale.

Dans ce contexte, une révision de la décision 2002/657 relative « aux performances des méthodes ainsi qu'à l'interprétation des résultats » est actuellement en discussion au niveau européen afin de prendre en compte les innovations et connaissances nouvelles générées depuis sa parution.

Il est également attendu que les évolutions tiennent compte des possibilités d'harmonisation des procédures mises en œuvre dans les différents États membres afin de garantir l'homogénéité des pratiques et décisions, pour une qualité accrue du contrôle. Ainsi, si la décision 2002/657/EC a défini le concept de LMPR (limite minimale de performance requise), qui correspond à une concentration fixée que tout laboratoire de contrôle doit être capable d'atteindre dans le cadre de dépistage et de confirmation, seules quelques valeurs ont à ce jour été publiées (par ex. LMPR pour l'acétate de médroxyprogestérone).

Le règlement 470/2009/EC indique la possibilité de fixer des RPA (Reference Point for Action) pour les substances non autorisées et pharmacologiquement actives, lorsque nécessaire pour assurer le contrôle des denrées d'origine animale importées ou mises sur le marché. Les RPA sont définies comme des limites d'action combinant dans leur construction, à la fois des possibilités analytiques raisonnables que les laboratoires officiels peuvent supporter, et compatibles avec des niveaux résiduels qui ne présentent pas de risque pour la santé du consommateur. Les denrées contenant des résidus de substances à une concentration supérieure ou égale à la RPA sont alors considérées comme impropres à la consommation. Si la concentration est inférieure

à cette limite, la non-conformité est à enregistrer mais ne nécessite pas de mesures de gestion sur la denrée. Les perspectives en la matière sont ainsi de considérer les aspects analytiques et toxicologiques pour la fixation de ces valeurs, sans pour autant que cela ne remplace un processus complet d'évaluation du risque associé (EFSA 2013).

## Références bibliographiques

- Bilan 2014 de la surveillance sanitaire des denrées animales et végétales (plans de surveillance et de contrôle) – DGAL.
- Buisson, C., Hebestreit, M., Weigert, A.P., Heinrich, K., Fry, H., Flenker, U., Banneke, S., Prevost, S., Andre, F., Schaenzer, W., Houghton, E., Le Bizec, B., 2005. Application of stable carbon isotope analysis to the detection of 17beta-estradiol administration to cattle. *J Chromato. A* 1093, 69-80.
- Cacciatore, G., Eisenberg, S.W., Situ, C., Mooney, M.H., Delahaut, P., Klarenbeek, S., Huet, A.C., Bergwerff, A.A., Elliott, C.T., 2009. Effect of growth-promoting 17beta-estradiol, 19-nortestosterone and dexamethasone on circulating levels of nine potential biomarker candidates in veal calves. *Anal Chim Acta* 637, 351-359.
- Council Decision 1999/879/EC, 1999. Council Decision 1999/879/EC of 17 December 1999 concerning the placing on the market and administration of bovine somatotrophin (BST) and repealing Decision 90/218/EEC. *Off J Eur Commun L* 331: 71-72.
- Council Decision 2002/657/EC, 2002. Council Decision 2002/657/EC implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Off J Eur Union*.
- Council Directive 96/23/EU, 1996. Council Directive 96/23/EU on measures to monitor certain substances and residues thereof in live animals and animal products *Off. J. Eur. Union L* 125., *Off J Eur Union* 96/23/EC.
- Council Directive 96/22/EC, 1996. Council Directive 96/22/EC of 29 April 1996 concerning the prohibition on the use in stockfarming of certain substances having a hormonal or thyrostatic action and of beta-agonists, and repealing Directives 81/602/EEC, 88/146/EEC and 88/299/EEC.
- Cunningham, R., Mooney, M., Xia, X., Crooks, S., Matthews, D., O'Keefe, M., Elliot, C., 2009. Feasibility of a clinical chemical analysis approach to predict misuse of growth promoting hormones in cattle. *Anal Chem* 81, 977.
- Dervilly-Pinel, G., Chereau, S., Cesbron, N., Monteau, F., Le Bizec, B., 2015a. LC-HRMS based metabolomics screening model to detect various  $\beta$ -agonists treatments in bovines. *Metabolomics* 11, 403-411.
- Dervilly-Pinel, G., Courant, F., Chereau, S., Royer, A., Boyard-Kieken, F., Antignac, J., Le Bizec, B., 2012. Metabolomics in food analysis: application to the control of forbidden substances. *Drug Test Anal* 4, 10.
- Dervilly-Pinel, G., Prevost, S., Séré, L., Le Bizec, B., 2015b. Vers des stratégies analytiques globales et non ciblées de recherche de résidus de substances interdites en élevage. *ANSES Bull Epid Santé Anim Alim* 68, 55-58.
- Dervilly-Pinel, G., Rambaud, L., Sitthisack, P., Monteau, F., Hewitt, S.A., Kennedy, D.G., Le Bizec, B., 2011. 5alpha-Estrane-3beta,17beta-diol and 5beta-estrane-3alpha,17beta-diol: definitive screening biomarkers to sign nandrolone abuse in cattle? *J Steroid Biochem Mol Biol* 126, 65-71.
- Directive 96/22/CE du Conseil concernant l'interdiction d'utilisation de certaines substances à effet hormonal ou thyrostatique et des substances  $\beta$ -agonistes dans les spéculations animales et abrogeant les directives 81/602/CEE, 88/146/CEE et 88/299/CEE.
- Directive européenne N° 96-23 du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits et abrogeant les directives 85/358/CEE et 84/469/CEE et les décisions 89/187/CEE et 91/664/CEE.
- Décision 2002/657 EC du 12 août 2002 portant sur les modalités d'application de la directive 96/23/CE du conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats.
- Décision 2003/181/CE du 13 mars 2003 modifiant la décision 2002/657/CE en ce qui concerne la fixation de limites de performances minimales requises (LPMR) pour certains résidus dans les aliments d'origine animale.
- EFSA, 2016, Report for 2014 on the results from the monitoring of veteran medicinal product residues and other substances in live animals and animals products.
- Gallart Ayala, H., Chereau, S., Dervilly-Pinel, G., Le Bizec, B., 2015. Potential of mass spectrometry metabolomics for chemical food safety. *Bioanal Rev* 7, 133-146.
- Jacob, C., Dervilly-Pinel, G., Biancotto, G., Monteau, F., Le Bizec, B., 2014. Global urine fingerprinting by LC-ESI(+)-HRMS for better characterization

of metabolic pathway disruption upon anabolic practices in bovine. *Metabolomics*.

Janssens, G., Mangelinckx, S., Courtheyn, D., De Kimpe, N., Matthijs, B., Le Bizec, B., 2015. Simultaneous Detection of Androgen and Estrogen Abuse in Breeding Animals by Gas Chromatography-Mass Spectrometry/Combustion/Isotope Ratio Mass Spectrometry (GC-MS/C/IRMS) Evaluated against Alternative Methods. *J Agri Food Chem* 63, 7574-7581.

Kaabia, Z., Dervilly-Pinel, G., Hanganu, F., Cesbron, N., Bichon, E., Popot, M.A., Bonnaire, Y., Le Bizec, B., 2013. Ultra high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry based identification of steroid esters in serum and plasma: an efficient strategy to detect natural steroids abuse in breeding and racing animals. *J Chromato. A* 1284, 126-140.

Kaabia, Z., Dervilly-Pinel, G., Popot, M.A., Bailly-Chouriberry, L., Plou, P., Bonnaire, Y., Le Bizec, B., 2014. Monitoring the endogenous steroid profile disruption in urine and blood upon nandrolone administration: An efficient and innovative strategy to screen for nandrolone abuse in horses. *Drug Test Anal.* 4:376-88

Kinthead, R.A., Elliott, C.T., Cannizzo, F.T., Biolatti, B., Mooney, M.H., 2015. Proteomic identification of plasma proteins as markers of growth promoter abuse in cattle. *Anal Bioanal Chem* 407, 4495-4507.

Kouassi Nzoughet, J., Gallart-Ayala, H., Dervilly-Pinel, G., Biancotto, G., Le Bizec, B., 2015a. Original combination of Hydrophilic Interaction (HILIC) and Reverse Phase (RPLC) High Resolution LC-MS for characterizing lipids profile disruption in serum of anabolic implanted bovines. *Metabolomics* 11, 1884-1895.

Kouassi Nzoughet, J.J., Dervilly-Pinel, G., Chéreau, S., Biancotto, G., Monteau, F., Elliott, C.T., Le Bizec, B., 2015b. First insights into serum metabolomics of trenbolone/estradiol implanted bovines; screening model to predict hormone-treated and control animals' status. *Metabolomics*. 11, 5, 1184-1196.

Nebbia, C., Urbani, A., Carletti, M., Gardini, G., Balbo, A., Bertarelli, D., Girolami, F., 2011. Novel strategies for tracing the exposure of meat cattle to illegal growth-promoters. *Vet J* 189, 34-42.

Pinel, G., Mathieu, S., Cesbron, N., Maume, D., Brabander, H.F.D., a, F.A., B, L.B., 2006. Evidence that urinary excretion of thiouracil in adult bovine submitted to a cruciferous diet can give erroneous indications of the possible illegal use of thyrostats in meat production. Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment 23, 974-980.

Pinel, G., Weigel, S., Antignac, J.P., Mooney, M.H., Elliott, C., Nielen, M.W.F., Le Bizec, B., 2010. Targeted and untargeted profiling of biological fluids to screen for anabolic practices in cattle. *Trends Anal Chem* 29, 1269-1280.

Riedmaier, I., 2015. Development of a Uniform Biomarker Signature in Calves Heart and Lung to Detect the Abuse of Different Anabolic Substances. *J Nutr Health Food Sci* 3, 01-08.

Riedmaier, I., Becker, C., Pfaffl, M.W., Meyer, H.H., 2009a. The use of omic technologies for biomarker development to trace functions of anabolic agents *J Chromato. A* 1216, 8192-8199.

Riedmaier, I., Benes, V., Blake, J., Bretschneider, N., Zinser, C., Becker, C., Meyer, H.H., Pfaffl, M.W., 2012. RNA-sequencing as useful screening tool in the combat against the misuse of anabolic agents. *Anal Chem* 84, 6863-6868.

Riedmaier, I., Pfaffl, M.W., 2013. Transcriptional biomarkers--high throughput screening, quantitative verification, and bioinformatical validation methods. *Methods* 59, 3-9.

Riedmaier, I., Tichopad, A., Reiter, M., Pfaffl, M.W., Meyer, H.H., 2009b. Identification of potential gene expression biomarkers for the surveillance of anabolic agents in bovine blood cells *Anal Chim Acta* 638, 106-113.

Riedmaier, I., Tichopad, A., Reiter, M., Pfaffl, M.W., Meyer, H.H., 2009c. Influence of testosterone and a novel SARM on gene expression in whole blood of *Macaca fascicularis*. *J Steroid Biochem Mol Biol* 114, 167-173.

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

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

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

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

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

## Résumé

Les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) sont des agents pathogènes majeurs, responsables d'affections parfois mortelles. Bien que plus de 200 sérotypes aient été rapportés, seuls sept sont responsables de la majorité des épidémies et affections sévères recensées. La viande hachée de bœuf contaminée par le contenu digestif des animaux porteurs et insuffisamment cuite reste une des principales sources de contamination de l'Homme. Bien qu'il n'existe aucun critère réglementaire, une viande contenant une de ces souches est considérée comme « dangereuse ». Aussi, le plan de surveillance 2015 visait à établir le taux de contamination des viandes hachées de bœuf réfrigérées mises sur le marché en France par les souches STEC identifiées comme les plus à risque et, par conséquent à apprécier l'exposition du consommateur à ce danger.

Les résultats obtenus confirment que le taux de contamination des viandes hachées de bœuf réfrigérées est faible (0,3 % ; IC95 [0,01-1,9]) et du même ordre de grandeur que ceux obtenus précédemment, ce qui suggère que le risque d'exposition de l'Homme via la consommation de viande hachée de bœuf en France reste limité. L'unique souche isolée est une souche STEC O103:H2 possédant des marqueurs génétiques de virulence accrue.

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

## Mots-clés

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

## Abstract

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

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

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

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

## Keywords

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

Les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) pathogènes sont considérés comme une préoccupation de santé publique majeure dans plusieurs régions du monde du fait de l'extrême gravité des symptômes qu'ils engendrent (Afssa, 2003). En effet, les STEC pathogènes sont responsables de cas sporadiques et d'épidémies de colite hémorragique et d'affections rares engageant le pronostic vital des patients, en particulier des enfants, telles que le syndrome hémolytique et urémique (SHU). Le SHU est la principale cause d'insuffisance rénale aiguë chez l'enfant de moins de trois ans. La létalité varie de 3 à 5 % et plus d'un tiers des malades conservent des séquelles rénales à long terme (Afssa, 2003).

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

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

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

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

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

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

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

## Matériels et méthodes

### Protocole d'échantillonnage

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

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

Chaque prélèvement devait correspondre à un échantillon de viande hachée de bœuf de 100 g au minimum, préemballé dans son conditionnement d'origine (sous film, sous-vide ou sous atmosphère protectrice) et étiqueté. L'échantillon prélevé devait avoir une date limite de consommation valide, et ce jusqu'à la mise en œuvre de l'analyse.

### Nature des contaminants recherchés

Les bactéries pathogènes recherchées étaient :

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

### Méthode analytique mise en œuvre

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

La recherche de l'ensemble des souches d'intérêt a été réalisée selon les méthodes officielles autorisées<sup>(2)</sup>, adaptées de la méthode ISO TS 13136<sup>(3)</sup>, recommandée par l'Efsa (EFSA, 2009) et de la méthode officielle américaine MLG5B<sup>(4)</sup> (Figure 2) :

- une première étape d'enrichissement de l'aliment investigué, afin de permettre aux souches pathogènes éventuellement présentes de se multiplier jusqu'à atteindre des niveaux détectables,

1. [http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/Guide\\_Gestion\\_Alerte\\_Revision\\_2\\_jlt\\_2009\\_COMPLETEE\\_VDef\\_cle09fc34.pdf](http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/Guide_Gestion_Alerte_Revision_2_jlt_2009_COMPLETEE_VDef_cle09fc34.pdf).  
 2. Les méthodes officielles autorisées sont listées dans la note de service DGAL/SDSSA/SDPRAT/N2013-8179 et disponibles en ligne à l'adresse suivante : <http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-methodes-officielles-alimentation-568>.  
 3. Spécification technique ISO TS 13136:2012 « Microbiologie des aliments et aliments pour animaux – Méthode basée sur la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) en temps réel pour la détection des microorganismes alimentaires pathogènes dans les aliments – Méthode horizontale pour la détection des *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) et la détermination des sérogroupes O157, O26, O103, O111 et O145 ».  
 4. Méthode officielle américaine MLG5B.05 « Detection and Isolation of non-O157 ShigaToxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges » disponible à l'adresse <http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/7ffc02b5-3d33-4a79-b50c-81f208893204/MLG-5B.pdf?MOD=AJPERES>.

## Encadré.

### Objectif

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

### Cadre de la programmation

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

### Protocole

#### • Bactéries recherchées

- Souches STEC hautement pathogènes pour l'Homme. Il s'agit des souches possédant les gènes de virulence *stx* et *eae* et appartenant à l'un des 5 sérotypes O157:H7, O26:H11, O145:H28, O103:H2 ou O111:H8.
- Souches STEC pathogènes *i.e.* possédant les gènes de virulence *stx* et *eae* et appartenant au sérotype O45 ou O121.

• **Productions concernées:** viandes de bœuf hachées réfrigérées (toutes origines).

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

• **Définition du « cas »:**

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

• **Nombre d'échantillons et modalités d'échantillonnage**

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

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

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

• **Méthode analytique, nature du prélèvement**

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

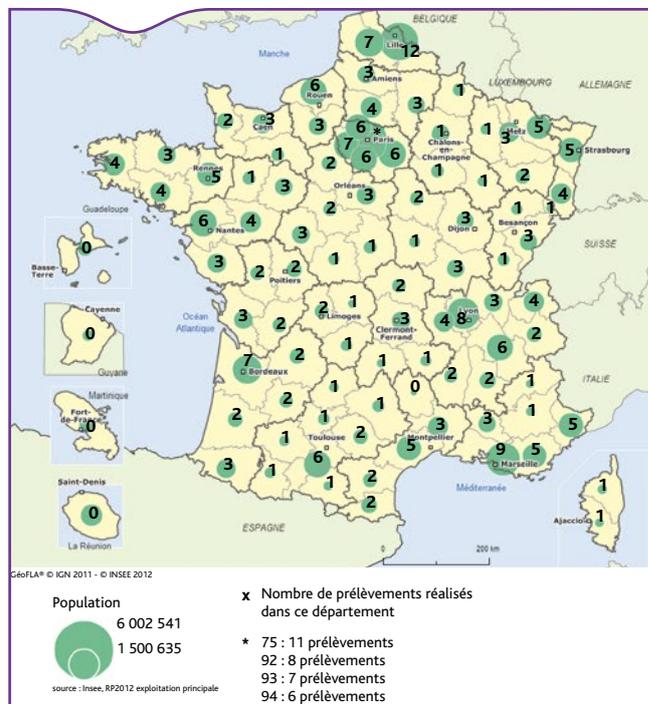


Figure 1. Répartition départementale du nombre de prélèvements prévus en fonction du nombre d'habitants (d'après <http://www.statistiques-locales.insee.fr> et données Insee de 2012)

- une deuxième étape de détection par technique de PCR en temps réel, à partir des acides nucléiques extraits de ce bouillon d'enrichissement polymicrobien, des principaux marqueurs des souches STEC cibles: gènes *stx* (Perelle *et al.* 2004), gènes *eae* (Nielsen *et al.* 2003), et gènes associés aux 7 sérogroupes d'intérêt (Perelle *et al.* 2004 et méthode MLG 5B),

• une troisième étape d'isolement des bactéries mise en œuvre uniquement si les résultats obtenus précédemment sont positifs, c'est-à-dire si les gènes *stx* ET *eae* ET de l'un des gènes spécifiques des sérogroupes ciblés sont détectés de façon concomitante dans le bouillon d'enrichissement. Cette étape d'isolement spécifique des bactéries appartenant au sérotype détecté à partir du bouillon

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

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

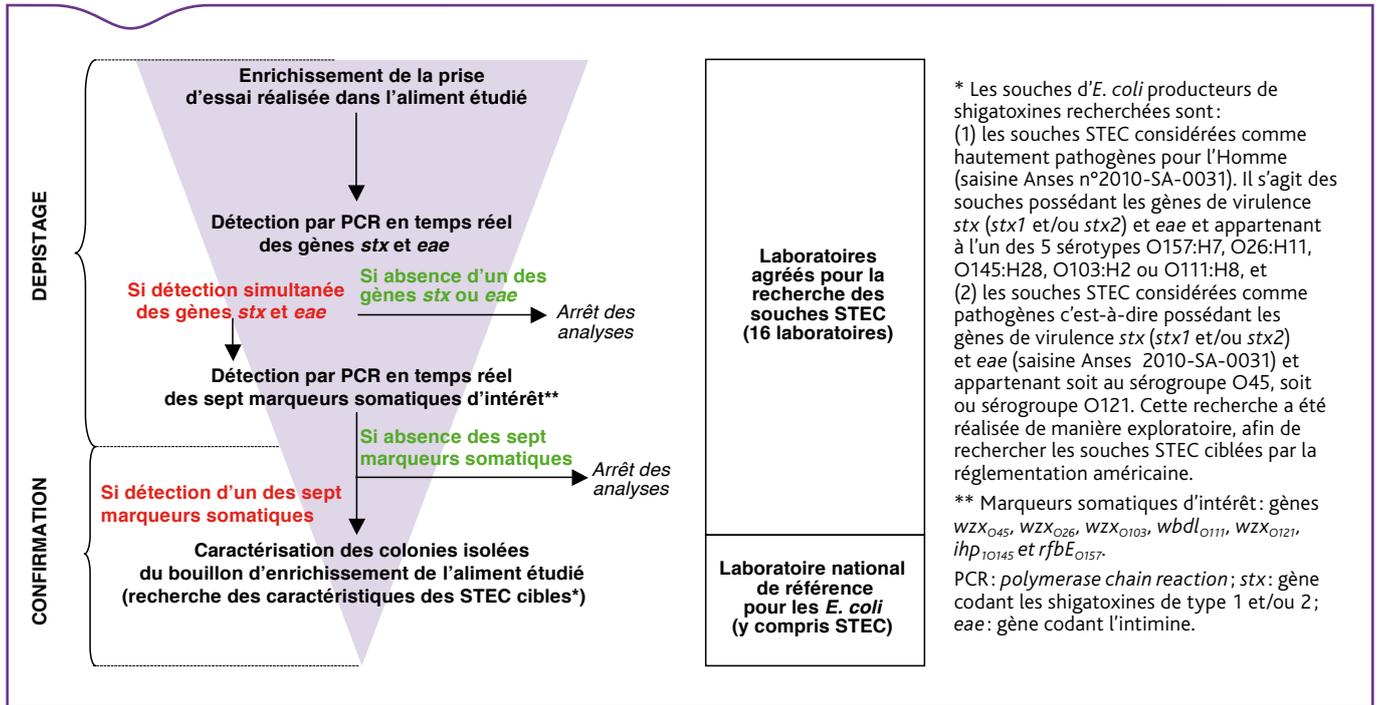


Figure 2. Schématisation des principales étapes de la méthode de recherche des souches STEC et acteurs responsables de sa mise en œuvre dans le cadre du plan de surveillance mis en place en 2015 (adapté de Loukiadis *et al.*, 2012)

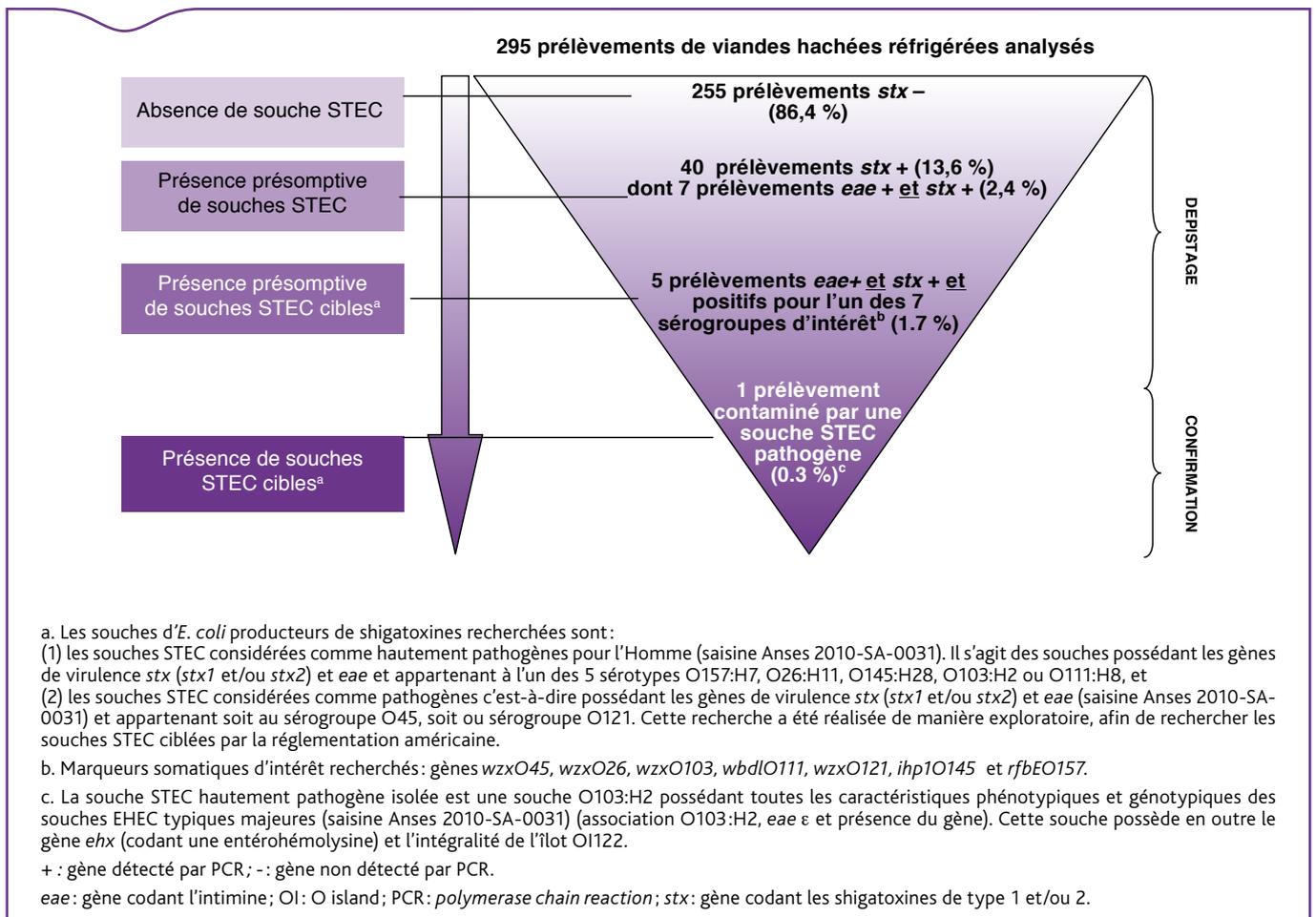


Figure 3. Synthèse des résultats obtenus au cours du plan de surveillance de la contamination par des souches STEC<sup>a</sup> des viandes hachées de bœuf réfrigérées mises sur le marché en France en 2015

ainsi isolées (Perelle *et al.* 2004, Auvray *et al.* 2008, Madic *et al.* 2010). Les facteurs de virulence *stx1*, *stx2* et *eae* dans les isolats prélevés ont été recherchés par PCR (Perelle *et al.* 2004, Nielsen *et al.* 2003). Des caractérisations génotypiques complémentaires par rapport celles proposées par la spécification technique ISO/WD TS 13136:2012 ont également été réalisées: recherche par PCR du gène *ehx* (Tzschoppe *et al.* 2012), des variants du gène *eae* (Nielsen *et al.* 2003), des variants du gène *stx* (Scheutz *et al.*, 2012) et de la présence de l'O122 (Karmali *et al.* 2003).

Le dépistage (recherche des gènes *stx*, *eae* et marqueurs associés à l'un des 7 sérogroupes recherchés) a été effectué par le réseau de laboratoires agréés pour la réalisation des analyses officielles de recherche de STEC, répartis sur le territoire national<sup>(5)</sup>; les analyses complémentaires et de confirmation ont été réalisées par le laboratoire national de référence (LNR) pour les *E. coli* y compris les STEC<sup>(6)</sup> (Figure 2).

### Analyses statistiques

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

## Résultats

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

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

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

5. Au total, seize laboratoires étaient agréés pour la recherche des STEC pour la réalisation du plan 2015 (liste disponible à l'adresse: [http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/e\\_coli\\_stec\\_dans\\_le\\_cadre\\_des\\_pspc\\_-\\_liste\\_des\\_laboratoires\\_agrees\\_v13.pdf](http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/e_coli_stec_dans_le_cadre_des_pspc_-_liste_des_laboratoires_agrees_v13.pdf)).

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

Seuls cinq échantillons (5/295, soit 1,7 % des échantillons analysés) ont donné un résultat positif en PCR à la fois pour les gènes *stx* et *eae*, et un signal positif pour au moins l'un des sept sérogroupes recherchés. Ils ont été considérés comme positifs présomptifs. Aucun des marqueurs associés aux sérogroupes O157, O111, O45 ou O121 n'a été détecté. Les marqueurs sérogroupaux détectés correspondaient aux sérogroupes O103 (*wzxO103*, 3 échantillons), O145 (*ihpO145*, 2 échantillons) et O26 (*wzxO26*, 2 échantillons), deux échantillons ayant donné un signal positif pour deux sérogroupes simultanément.

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

Les caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches isolées sont détaillées dans le Tableau 1. La souche STEC hautement pathogène isolée appartient au sérotype O103:H2 et possède toutes les caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches EHEC typiques majeures telles que définies dans l'avis Afssa de 2010 (saisine n°2010-SA-0031) (association sérotypes, variants du gène *eae* et présence des gènes codant l'un des types de shigatoxines). Cette souche possède en outre le gène *ehx* (codant une entérohémolysine) et l'intégralité de l'îlot O122, ce qui suggère que son pouvoir pathogène pourrait être accru (Afssa, 2008). En effet, l'O122 regroupe des gènes codant des effecteurs appelés Nle (*non-LEE encoded effector*, dont le rôle dans le pouvoir pathogène des souches n'a pas encore été élucidé bien qu'ils ne soient pas présents chez les souches non pathogènes). D'une manière générale, plus cet îlot est complet (par exemple présence de 1, 2, 3 ou 4 des gènes recherchés l'O122), plus la maladie associée à ces souches est grave (SHU) (Afssa, 2008).

## Discussion

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

La souche STEC hautement pathogène isolée en 2015 appartient au sérotype O103:H2. Elle est ainsi potentiellement capable de provoquer chez l'Homme des lésions caractéristiques de la muqueuse intestinale, dites lésions d'attachement et d'effacement, responsables des symptômes de diarrhée et de produire la shigatoxine de type 1, variant a, incriminée dans la destruction des cellules endothéliales capillaires coliques, rénales et cérébrales à l'origine de colites hémorragiques,

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

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

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

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

de SHU voire de comas (Afssa, 2003). Ce sérotype de souche STEC avait déjà été identifié dans les viandes hachées de bœuf au cours des plans de surveillance précédents même si, en termes d'importance, il n'est retrouvé généralement qu'après O26:H11 et O157:H7 (Loukiadis *et al.*, 2012). Les souches STEC O103:H2 ont été responsables de 2 % des 114 cas de SHU recensés chez les enfants de moins de quinze ans en France en 2014 et de 1,4 % des 698 cas recensés sur la période 2010-2014 (<http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Syndrome-hemolytique-et-uremique>) mais n'ont jamais été incriminées dans des épisodes de cas groupés alimentaires en France (Loukiadis *et al.*, 2012).

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

Dans tous les cas, lorsque des souches STEC sont détectées, les opérateurs doivent retirer les produits du marché, rechercher les sources de contamination potentielles et mettre en place des mesures de maîtrise adaptées pour réduire les risques de contamination. Ces mesures de gestion s'appliquent conformément aux instructions de la DGAL<sup>(7)</sup>.

L'ensemble des résultats obtenus permettent de rappeler l'importance de mesures de maîtrise de ce danger mises en place en amont par les professionnels. Les plans de maîtrise sanitaire permettent en effet de réduire le risque de mise sur le marché de produits contaminés, dès l'abattoir en prenant notamment en compte la propreté des animaux et la maîtrise de certaines étapes à risque (ligature de l'œsophage, ensachage du rectum, arrachage des cuirs et éviscération notamment (Anses, 2014)), puis à la transformation par le respect des bonnes pratiques d'hygiène, et la vérification de l'efficacité des mesures de maîtrise en réalisant des autocontrôles aux points critiques (y compris le contrôle des matières premières au stade de la production). Par ailleurs, la sensibilisation des consommateurs au respect des conditions de cuisson mentionnées sur l'étiquetage des produits, notamment des viandes hachées de bœuf (cf. « Recueil de recommandations de bonnes pratiques d'hygiène à destination des consommateurs »<sup>(8)</sup>) permet également, en aval, de réduire le risque de contamination de l'Homme.

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

En 2016, la DGAL a poursuivi la surveillance de la contamination par des souches STEC des viandes hachées de bœuf (réfrigérées et surgelées) par la mise en œuvre d'un plan de surveillance au stade de la distribution.

## Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble des équipes des laboratoires agréés et du LNR *E. coli* pour leur implication dans l'obtention des données des plans de surveillance ainsi que les services des DDecPP.

## Références bibliographiques

Afssa. 2003. Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC). 220 pp. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC-Ra-TEC.pdf>.

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

8. [http://alimentation.gouv.fr/IMG/pdf/GBPH-CONSO-27SEPT-BD2\\_cle42eed3.pdf](http://alimentation.gouv.fr/IMG/pdf/GBPH-CONSO-27SEPT-BD2_cle42eed3.pdf).

Afssa. 2008. Avis aux souches d'*Escherichia coli* productrices de shigatoxines considérées comme pathogènes pour l'homme, rendu le 15 juillet 2008 – Saisine 2008-SA-0122. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2008sa0122.pdf>.

Afssa. 2010. Avis relatif à la pertinence d'une révision de la définition des STEC pathogènes, précisée par l'avis Afssa du 15 juillet 2008, rendu le 27 mai 2010 – Saisine 2010-SA-0031. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2010sa0031.pdf>.

Anses. 2014. Avis relatif à « la définition d'un plan d'échantillonnage pour la détection d'*E. coli* O157:H7 dans le cadre des autocontrôles en filière viande hachée bovine », rendu le 6 mai 2014 – Saisine 2013-SA-0223 liée à la saisine 2010-SA-0031.

<https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2013sa0223.pdf>.

Auvray, F., Lecureuil, C., Tache, J., Perelle, S., Fach, P. 2008. Development of a 5'-nuclease PCR assay for the identification of *Escherichia coli* strains expressing the flagellar antigen H21 and their detection in food after enrichment. *J Appl Microbiol.* 104, 899–905.

Beutin, L., Fach, P. 2014. Detection of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* from Non human Sources and Strain Typing. *Microbiol Spectr.* 2, 1-23.

Brugère, H., Auvray, A., Mariani-Kurkidjian, P., King, L.A., Loukiadis, E. 2012. *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC): définitions, virulence et propriétés des souches entérohémorragiques (EHEC). *Bull. Epid. Santé Anim. Alim.*, 50, 23-30.

Directive (CE) 1999. N°2003/99/CE du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003 sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques, modifiant la décision 90/424/CEE du Conseil et abrogeant la directive 92/117/CEE du Conseil.

EFSA. 2009. Technical specifications for the monitoring and reporting of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) on animals and food (VTEC surveys on animals and food). 43 pp. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1366.htm>.

Mohamed, A.K., Mascarenhas, M., Shen, S., Ziebell, K., Johnson, S., Reid-Smith, R., Isaac-Renton, J., Clark, C., Rahn, K., Kaper, J.B. 2003. Association of Genomic O Island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* Seropathotypes That Are Linked to Epidemic and/or Serious Disease. *J. Clin. Microbiol.* 41, 4930-4940.

Loukiadis, E., Callon, H., Mazuy-Cruchaudet, C., Vallet, V., Bidaud, C., Ferré, F., Giuliani, L., Bouteiller, L., Pihier, N., Danan, C. 2012. Surveillance of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) in foodstuffs in France (2005-2011). *Bull. Epid. Santé Anim. Alim.*, 55, 3-9.

Madic, J., Peytavin de Garam, C., Vingadassalon, N., Oswald, E., Fach, P., Jamet, E., Auvray, F. 2010. Simplex and multiplex real-time PCR assays for the detection of flagellar (H-antigen) *fliC* alleles and intimin (*eae*) variants associated with enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) serotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 and O157:H7. *J. Appl. Microbiol.* 9, 1696-1705.

Nielsen, E.M., Andersen, M.T. 2003. Detection and Characterization of Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* by Automated 5' Nuclease PCR Assay. *J. Clin. Microbiol.* 41, 2884–2893.

Perelle, S., Dilasser F., Grout, J., Fach, P. 2004. Detection by 5'-nuclease PCR of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* O26, O55, O91, O103, O111, O113, O145 and O157:H7, associated with the world's most frequent clinical cases. *Mol. Cell. Probes.* 18, 185-192.

Règlement (CE) 2002. N° 178/2002 du Parlement européen et du Conseil du 28 janvier 2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires.

Scheutz, F., Teel, L.D., Beutin, L., Piérard, D., Buvens, G., Karch, H., Mellmann, A., Caprioli, A., Tozzoli, R., Morabito, S., Strockbine, N.A., Melton-Celsa, A.R., Sanchez, M., Persson, S., O'Brien, A.D. 2012. Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature. *J Clin Microbiol.* 50: 2951-63.

Tzschoppe, M., Martin, A., Beutin, L. 2012. A rapid procedure for the detection and isolation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) serogroup O26, O103, O111, O118, O121, O145 and O157 strains and the aggregative EHEC O104:H4 strain from ready-to-eat vegetables. *Int. J. Food Microbiol.* 152, 19-30.

# Surveillance de la contamination des carcasses de porcs par *Salmonella* via le bilan des autocontrôles réalisés à l'abattoir

Sabine Itié-Hafez (1) (sabine.itie@agriculture.gouv.fr), Alain Le Roux (2), Françoise Chartier (3), Daniel Fort (3), Corinne Danan (1)

(1) Direction générale de l'Alimentation, Sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments, Bureau d'appui à la surveillance de la chaîne alimentaire, Paris, France

(2) Institut technique du Porc (Ifip), Le Rheu, France

(3) Direction générale de l'Alimentation, Sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments, Bureau des établissements d'abattage et de découpe, Paris, France

## Résumé

Les salmonelloses sont la première cause de toxi-infection alimentaire collective d'origine bactérienne en Europe. La viande de porc est une des sources associée aux cas humains. La Commission européenne a renforcé en 2014 la supervision de la maîtrise de cette contamination en filière porcine. Dans ce cadre, un nouveau système de centralisation des autocontrôles réglementaires vis-à-vis de *Salmonella* dans les carcasses de porcs a été mis en place par la direction générale de l'Alimentation dans les abattoirs. Les résultats donnent une estimation du niveau moyen de la contamination par *Salmonella*, au niveau national et dans chaque abattoir. La variabilité des taux de contamination entre les abattoirs peut être associée à des facteurs de risque, qui pourraient faire l'objet d'études dédiées. Ces résultats sont destinés à être transmis à l'Autorité européenne de sécurité des aliments chaque année pour une comparaison entre États membres. Ils pourront être également utilisés au niveau national pour sensibiliser les opérateurs.

## Mots-clés

*Salmonella*, carcasses, porcs, abattoir, autocontrôles

## Abstract

**Surveillance of *Salmonella* contamination of pig carcasses through self-inspections undertaken at the slaughterhouse**

*Salmonellosis is the major cause of foodborne outbreaks caused by bacteria in Europe. In 2014, the European Commission reinforced the supervision of this contamination in the pig sector. In this context, General Directorate for Food implemented a new system to centralise regulatory self-inspections for *Salmonella* in pig carcasses. The results provide an estimate of the level of contamination of carcasses, at national level and for each slaughterhouse. Variability in levels of contamination can be associated with risk factors, which could be the subject of dedicated studies. These results are intended to be transmitted each year to the European Food Safety Authority for comparison among Member States. They could also be used at national level to raise the awareness of stakeholders.*

## Keywords

*Salmonella, Carcasses, Pigs, Slaughterhouses, Selfinspections*

La maîtrise sanitaire des systèmes de production alimentaire est encadrée réglementairement par les textes européens du Paquet hygiène. Dans ce cadre, les opérateurs du secteur alimentaire sont responsables des denrées alimentaires qu'ils mettent sur le marché et doivent s'assurer que celles-ci ne sont pas dangereuses. Pour cela, ils doivent élaborer un plan de maîtrise sanitaire afin de garantir la maîtrise des dangers identifiés (comprenant les bonnes pratiques d'hygiène, les procédures fondées sur les principes HACCP, la traçabilité et la gestion des non-conformités) et vérifier que les mesures de maîtrise définies sont efficaces. Cette vérification se fait notamment par la mise en place d'autocontrôles. Les autorités compétentes, quant à elles, veillent au respect des exigences réglementaires par les opérateurs du secteur alimentaire.

Bien que le nombre de cas de salmonelloses diminue depuis la mise en place des programmes de lutte en filière avicole, *Salmonella* reste la première cause de toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) d'origine bactérienne recensée en Europe (EFSA & ECDC, 2015). La viande de porc est l'une des sources associée aux cas humains. En 2014, en France, 15 % des Tiac à *Salmonella* concernaient de la viande et 11 % concernaient de la charcuterie (toutes espèces confondues) (InVS 2014). L'absence de mise en place de programme de lutte harmonisé en filière porcine en Europe a conduit la Commission européenne à renforcer ses exigences vis-à-vis de la supervision des autorités compétentes dans ce domaine à compter de 2015. Parmi les différentes modalités de supervision proposées par la Commission européenne en application du règlement (UE) 218/2014, la direction générale de l'Alimentation (DGAL) a choisi de mettre en place un système de collecte et de centralisation des résultats des autocontrôles réalisés en application du règlement (CE) N°2073/2005 dans tous les abattoirs de porcs. Cette approche innovante a été définie en concertation avec les représentants des professionnels des abattoirs et de la filière porcine.

Les États membres transmettent les résultats collectés annuellement à l'Efsa en application de la directive 2003/99/CE sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques.

## Matériel et méthode

### Abattoirs concernés

L'ensemble des abattoirs de porcs est concerné par cette collecte, ce qui inclut les établissements abattant exclusivement des porcs et les établissements abattant plusieurs espèces animales dont des porcs.

### Identification des prélèvements concernés

Les prélèvements concernent les autocontrôles de *Salmonella* réalisés en application du règlement (CE) n°2073/2005 (critère d'hygiène des procédés 2.1.4). Ces autocontrôles sont destinés à la vérification de la maîtrise du procédé d'abattage. Les abattoirs identifient ainsi ces autocontrôles afin de les distinguer d'autres prélèvements réalisés dans le cadre plus spécifique du pilotage de la maîtrise de l'hygiène du process ou après une perte de maîtrise ponctuelle.

### Mode opératoire pour la réalisation des prélèvements

Les autocontrôles sont effectués chaque semaine dans chaque abattoir, de manière aléatoire, sur cinq carcasses d'une même journée d'abattage, selon l'instruction technique DGAL/SDSSA/2015-619<sup>(1)</sup>. Le jour de prélèvement doit être modifié chaque semaine. Pour les établissements ne fonctionnant pas cinq jours par semaine, il peut être

1. Instruction technique DGAL/SDSSA/2015-619 du 20 juillet 2015 relative aux critères microbiologiques applicables aux autocontrôles sur les carcasses d'animaux de boucherie.

**Tableau 1. Caractéristiques des abattoirs pour lesquels les résultats sont disponibles**

	Nombre d'abattoirs sur le territoire national	Volume annuel d'abattage de porcs en 2015 (en tonnes)	Espèce majoritairement abattue en 2015 (en volume)	Nombre de chaînes d'abattage	Niveau de classement/ respect des règles communautaires*
Abattoirs multi-espèces (dont porcs)	133 (83,1 %)	560 523 (28,5 %)	Bovins: 63,9 % Porcs: 34,5 % Ovins: 0,8 % Équidés: 0,8 %	1 chaîne: 25,6 % 2 chaînes: 25,6 % 3 chaînes: 47,3 % 4 chaînes: 1,5 %	Niveau I: 6,0 % Niveau II: 84,2 % Niveau III: 9,8 %
Abattoirs de porcs	27 (16,9 %)	1 404 678 (71,5 %)		1 chaîne: 100 %	Niveau I: 7,4 % Niveau II: 88,9 % Niveau III: 3,7 %
<b>Total</b>	<b>160</b>	<b>1 965 201</b>		<b>1 chaîne: 38,1 %</b> <b>2 chaînes: 21,25 %</b> <b>3 chaînes: 39,4 %</b> <b>4 chaînes: 1,25 %</b>	<b>Niveau I: 6,25 %</b> <b>Niveau II: 85,0 %</b> <b>Niveau III: 8,75 %</b>

\* Le niveau de classement d'un abattoir est établi par la DDecPP/DAAF au cours de contrôles officiels et correspond au niveau de maîtrise des risques de l'abattoir : Niveau I = maîtrise des risques satisfaisante – Niveau 2 = maîtrise des risques acceptable – Niveau III = maîtrise des risques insuffisante. Il correspond au niveau de conformité de l'abattoir.

**Tableau 2. Catégorisation des abattoirs en fonction du nombre de prélèvements réalisés en 2015 dans le cadre des autocontrôles réglementaires**

Catégorie	Nombre d'abattoirs	Nombre annuel de prélèvements (N)
1	55 (35 %)	N < 50 (moins de 1 prélèvement de 5 carcasses par mois)
2	72 (46 %)	50 ≤ N < 240 (de 1 prélèvement de 5 carcasses par mois à 1 prélèvement toutes les deux semaines)
3	29 (19 %)	N ≥ 240 (au moins 1 prélèvement de 5 carcasses par semaine)

envisagé d'effectuer les prélèvements tous les cinq jours d'abattage effectif. Pour les établissements disposant de plusieurs chaînes d'abattage, un plan d'autocontrôles est établi pour chaque chaîne. Un allègement de cette fréquence de prélèvement à une fois tous les quinze jours (ou tous les dix jours d'abattage effectif) est possible en cas d'interprétation satisfaisante des résultats pendant trente semaines consécutives ou pour les établissements pour lesquels le volume d'abattage est inférieur à 1 000 têtes par an.

Les prélèvements sont effectués selon une méthode non destructive, à l'aide d'une éponge utilisée pour l'échantillonnage de quatre zones différentes par carcasse. La surface d'échantillonnage est d'au moins 100 cm<sup>2</sup> par zone. Les zones communément prélevées sont le jambon, la longe, la poitrine et la gorge externe<sup>2</sup>.

La recherche de *Salmonella* est effectuée selon la méthode de référence NF EN ISO 6579 « Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp. », ou toute méthode alternative équivalente certifiée par Afnor Validation.

### Centralisation des résultats

En 2015, les services de contrôle officiels ont saisi, dans un formulaire Sphinx mis en place par la DGAL, les résultats des autocontrôles réglementaires réalisés par chaque abattoir, en précisant les informations suivantes : période concernée, nombre de prélèvements réalisés, nombre de résultats positifs.

Ces données centralisées et analysées par la DGAL permettent d'estimer le taux de contamination moyen des carcasses de porcs au niveau national ainsi qu'au niveau de chaque abattoir.

Il est important de bien distinguer cette activité de supervision de la vérification par les opérateurs de la maîtrise de leur process via le critère réglementaire d'hygiène des procédés 2.1.4 du règlement (CE) n°2073/2005 :

- pour cette supervision effectuée par l'autorité compétente, un résultat positif correspond à une présence de *Salmonella* sur une carcasse; ces résultats ne font pas l'objet d'interprétation de conformité,
- pour l'application du critère réglementaire, l'interprétation en routine

des résultats d'autocontrôles par l'opérateur se fait sur des périodes de dix échantillonnages consécutifs et doit entraîner la mise en place immédiate de mesures correctives en cas de non-conformité (plus de 3 carcasses contaminées sur 50 carcasses prélevées sur la période de temps considérée).

## Résultats et discussion

### Caractéristiques des abattoirs de porcs

En 2015, 167 abattoirs de porcs étaient recensés sur l'ensemble du territoire national.

Cependant, seuls les résultats d'autocontrôles de 160 abattoirs sont disponibles; en effet, les données sont absentes ou incomplètes pour sept abattoirs (trois situés en Bretagne, deux en Corse, un en Languedoc-Roussillon-Midi-Pyrénées et un en Auvergne-Rhône-Alpes). Ces 160 abattoirs sont répartis dans 74 départements de France métropolitaine et quatre départements ou régions d'outre-mer.

Parmi les 160 abattoirs pour lesquels les résultats sont disponibles, 27 (16,9 %) abattent exclusivement des porcs et 133 (83,1 %) abattent plusieurs espèces animales dont des porcs (Tableau 1).

Les volumes d'abattage de porcs varient de deux à 208 579 tonnes par an selon les abattoirs, avec une moyenne de 12 362 tonnes par an. Les plus gros volumes d'abattage sont observés au sein des établissements abattant exclusivement des porcs.

### Bilan global des autocontrôles

Au niveau national, en 2015, 16 223 prélèvements ont été réalisés par les abattoirs de porcs dans le cadre de leurs autocontrôles réglementaires. Au total, 1 108 prélèvements ont présenté un résultat positif, ce qui correspond à un taux de contamination moyen de 6,8 % (min = 0,0 %, max = 28,1 %, médiane = 1,4 %).

Le nombre annuel de prélèvements réalisés dans le cadre des autocontrôles réglementaires est variable selon les abattoirs. Le nombre d'autocontrôles réalisés dans le cadre réglementaire est, pour la majorité des abattoirs, lié au volume d'abattage. En effet, plus le volume est faible et plus le nombre de prélèvements peut être réduit, du fait de la modulation possible du nombre de prélèvements à réaliser en fonction du nombre de jours d'abattage effectifs (pour les abattoirs ne fonctionnant pas tous les jours de la semaine) ou du prorata du

2. La norme NF EN ISO 17604 propose treize zones de prélèvements à titre de recommandation.

**Tableau 3. Caractéristiques des abattoirs ayant réalisé entre 1 et 50 prélèvements en 2015**

	Nombre d'abattoirs sur le territoire national	Volume annuel d'abattage de porcs en 2015 (en tonnes)	Espèce majoritairement abattue en 2015 (en volume)	Nombre de chaînes d'abattage	Niveau de classement/ respect des règles communautaires
Abattoirs multi-espèces (dont porcs)	53 (96,4 %)	25 231 (58,8 %)	Bovins: 71,7 % Porcs: 24,5 % Ovins: 1,9 % Équidés: 1,9 %	1 chaîne: 34,0 % 2 chaînes: 26,4 % 3 chaînes: 37,7 % 4 chaînes: 1,9 %	Niveau I: 5,7 % Niveau II: 81,1 % Niveau III: 13,2 %
Abattoirs de porcs	2 (3,6 %)	17 706 (41,2 %)		1 chaîne: 100 %	Niveau II: 100 %
<b>Total</b>	<b>55</b>	<b>42 937</b>		<b>1 chaîne: 36,4 % 2 chaînes: 25,4 % 3 chaînes: 36,4 % 4 chaînes: 1,8 %</b>	<b>Niveau I: 5,5 % Niveau II: 81,8 % Niveau III: 12,7 %</b>

**Tableau 4. Caractéristiques des abattoirs ayant réalisé entre 50 et 240 prélèvements en 2015**

	Nombre d'abattoirs sur le territoire national	Volume annuel d'abattage de porcs en 2015 (en tonnes)	Espèce majoritairement abattue en 2015 (en volume)	Nombre de chaînes d'abattage	Niveau de classement/ respect des règles communautaires
Abattoirs multi-espèces (dont porcs)	65 (90,3 %)	132 059 (42,3v %)	Bovins: 63,1 % Porcs: 36,9 %	1 chaîne: 20,0 % 2 chaînes: 20,0 % 3 chaînes: 58,5 % 4 chaînes: 1,5 %	Niveau I: 4,6 % Niveau II: 86,2 % Niveau III: 9,2 %
Abattoirs de porcs	7 (9,7 %)	180 380 (57,7 %)		1 chaîne: 100 %	Niveau II: 85,7 % Niveau III: 14,3 %
<b>Total</b>	<b>72</b>	<b>312 439</b>		<b>1 chaîne: 27,8 % 2 chaînes: 18,0 % 3 chaînes: 52,8 % 4 chaînes: 1,4 %</b>	<b>Niveau I: 4,2 % Niveau II: 86,1 % Niveau III: 9,7 %</b>

**Tableau 5. Caractéristiques des abattoirs ayant réalisé plus de 240 prélèvements en 2015**

	Nombre d'abattoirs sur le territoire national	Volume annuel d'abattage de porcs en 2015 (en tonnes)	Espèce majoritairement abattue en 2015 (en volume)	Nombre de chaînes d'abattage	Niveau de classement/ respect des règles communautaires
Abattoirs multi-espèces (dont porcs)	11 (37,9 %)	403 233 (25,0 %)	- Bovins: 18,2 % - Porcs: 81,8 %	1 chaîne: 18,2 % 2 chaînes: 45,4 % 3 chaînes: 36,4 %	Niveau I: 18,2 % Niveau II: 81,8 %
Abattoirs de porcs	18 (62,1 %)	1 206 592 (75,0 %)		1 chaîne: 100 %	Niveau I: 11,1 % Niveau II: 88,9 %
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>1 609 825</b>		<b>1 chaîne: 69,0 % 2 chaînes: 17,2 % 3 chaînes: 13,8 %</b>	<b>Niveau I: 13,8 % Niveau II: 86,2 %</b>

tonnage pour les établissements abattant plusieurs espèces sur la même chaîne (cf. supra).

Pour certains abattoirs, il apparaît cependant que le nombre d'analyses réalisées est plus faible que prévu; ceci peut être lié à des allègements de fréquence de prélèvements autorisés dans certains cas précis (cf. supra) ou encore, dans certains cas, à une mauvaise interprétation ou au non-respect des dispositions réglementaires.

Quatre abattoirs n'ont réalisé aucun autocontrôle. Il s'agit d'abattoirs pour lesquels le volume d'abattage de porcs est extrêmement faible et/ou non majoritaire.

Pour les 156 abattoirs ayant réalisé des analyses en 2015, les résultats sont présentés en répartissant les abattoirs en trois catégories établies en fonction du nombre de prélèvements réalisés (Tableau 2).

Pour l'exploitation globale des données, les résultats des 156 abattoirs ayant réalisé des analyses en 2015 (catégories 1 à 3) sont décrits ci-dessous.

#### Catégorie 1: abattoirs ayant réalisé entre 1 et 50 prélèvements

Pour les 55 abattoirs ayant réalisé entre 1 et 50 prélèvements en 2015, le taux de contamination moyen était de 1,8 % (min = 0,0 %, max = 21,4 %, médiane = 0,0 %). Il s'agit quasiment exclusivement d'établissements abattant plusieurs espèces animales (majoritairement des bovins) (Tableau 3).

#### Catégorie 2: abattoirs ayant réalisé entre 50 et 240 prélèvements

Pour les 72 abattoirs ayant réalisé entre 50 et 240 prélèvements en 2015, le taux de contamination moyen était de 4,3 % (min = 0,0 %,

max = 28,1 % et médiane = 1,6 %). Il s'agit quasiment exclusivement d'établissements abattant plusieurs espèces animales (majoritairement des bovins) et disposant de plusieurs chaînes d'abattage (Tableau 4).

#### Catégorie 3: abattoirs ayant réalisé plus de 240 prélèvements

Pour les 29 abattoirs ayant réalisé plus de 240 prélèvements, le taux de contamination moyen était de 9,5 % (min = 0,0 %, max = 21,5 % et médiane = 6,8 %). Il s'agit principalement d'établissements abattant exclusivement des porcs ou d'abattoirs multi-espèces abattant majoritairement des porcs. Aucun abattoir de cette catégorie ne possède un niveau de classement III (Tableau 5).

En considérant l'ensemble des résultats, le taux de contamination moyen des carcasses de porcs par *Salmonella* augmente avec le nombre de prélèvements réalisés dans le cadre des autocontrôles réglementaires (Tableau 6).

**Tableau 6. Taux de contamination moyen des carcasses de porcs par *Salmonella* en fonction du nombre de prélèvements réalisés dans le cadre des autocontrôles réglementaires en 2015**

Nombre de prélèvements réalisés en 2015 par abattoir	Taux de contamination moyen par <i>Salmonella</i>
Entre 1 et 50 (catégorie 1)	1,8 % (min = 0,0 %, max = 21,4 %, médiane = 0,0 %)
Entre 50 et 240 (catégorie 2)	4,3 % (min = 0,0v %, max = 28,1 %, médiane = 1,6v %)
Supérieur à 240 (catégorie 3)	9,5 % (min = 0,0 %, max = 21,5 %, médiane = 6,8 %)

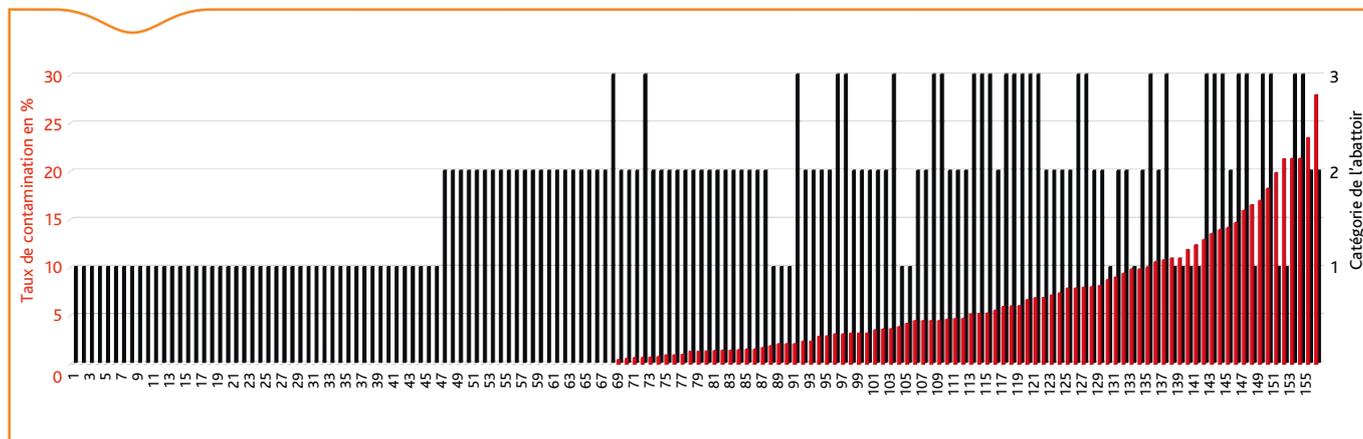


Figure 1. Répartition des abattoirs ayant réalisé des analyses en 2015 en fonction de leur catégorie et de leur taux de contamination

Néanmoins, ces résultats restent très variables selon les abattoirs (Figure 1).

Par ailleurs, le taux de contamination ne semble pas lié au niveau de classement des abattoirs (Tableau 7).

## Conclusions et perspectives

La mise en place de ce nouveau dispositif permet d'estimer le taux moyen de contamination des carcasses de porcs des abattoirs et d'appuyer des campagnes nationales de sensibilisation auprès des opérateurs.

Les résultats observés mettent en évidence une importante variabilité du taux de contamination entre abattoirs. Cette variabilité peut être associée à différents facteurs tels que le volume d'abattage, la spécificité des espèces abattues, la maîtrise du process, le choix des zones d'échantillonnage prélevées sur les carcasses, etc. L'impact de ces facteurs sur la maîtrise de l'hygiène pourrait être étudié par la mise en place d'enquêtes spécifiques. Ces études pourraient également inclure d'autres facteurs susceptibles de modifier les taux de contamination observés dans les abattoirs de porcs : rayon d'approvisionnement des animaux, temps d'attente des animaux à l'abattoir avant l'abattage, procédure de nettoyage/désinfection, process mis en œuvre (flambage/double flambage), cadence d'abattage... De plus, les résultats individuels de chaque abattoir doivent être exploités par les services déconcentrés dans le cadre des contrôles officiels, notamment en cas d'écarts à la réglementation.

En parallèle, l'Institut technique du porc (Ifip) a mis en place, depuis décembre 2015, avec un financement de l'interprofession nationale porcine (Inaporc) une interface Web afin de collecter les résultats des autocontrôles des abattoirs de porcs dans une base de données, et d'en assurer une synthèse et une interprétation au service des opérateurs et de l'interprofession. Afin de ne pas maintenir deux systèmes de collecte parallèles et redondants au niveau national, la DGAL souhaite utiliser les données de cette base au cours des prochaines années. Cette transition se fera progressivement, avec une étape de comparaison de l'équivalence des deux systèmes (couverture nationale, résultats collectés) en 2016.

Au niveau européen, une vigilance devra être maintenue quant à l'interprétation de l'ensemble des résultats des États membres qui sera faite par l'Efsa, d'autant que la Commission avait laissé aux États membres le choix entre trois possibilités pour cette supervision (organisation de contrôles officiels, utilisation de résultats de programme de contrôle validé, collecte des autocontrôles). Le groupe pluri-partenarial composé de membres de la DGAL, de l'Ifip, des entreprises françaises des viandes (Culture-viande), de la Fédération nationale des exploitants d'abattoirs prestataires de service (FNEAP), de la Fédération nationale de l'industrie et des commerces en gros des viandes (FNICGV) et de l'interprofession Inaporc mis en place pour le suivi du dispositif français sera mobilisé, autant que de besoin, pour assurer une bonne communication autour de ces données.

Tableau 7. Taux de contamination moyen des carcasses de porcs par *Salmonella* en fonction du niveau de classement des abattoirs

Niveau de classement	Nombre d'abattoirs ayant réalisé des analyses en 2015	Nombre d'analyses réalisées en 2015	Taux de contamination moyen par <i>Salmonella</i>
I	10 (6,4 %)	1 325 (8,2 %)	6,7 % (min = 0,0 %, max = 13,0 % et médiane = 1,9 %)
II	132 (84,6 %)	13 951 (86,0 %)	7,1 % (min = 0,0 %, max = 28,1 %, médiane = 1,4 %)
III	14 (9,0 %)	947 (5,8 %)	3,0 % (min = 0,0 %, max = 8,3 %, médiane = 0,7 %)

### Encadré.

#### Objectifs

L'objectif de cette surveillance est de collecter et de centraliser les résultats des autocontrôles de *Salmonella* réalisés sur des carcasses de porcs à l'abattoir, en application du règlement (CE) N°2073/2005. Ce dispositif a été mis en place pour la première fois en France en 2015.

#### Cadre de la programmation

Directive 2003/99/CE sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques.

Règlement (UE) N° 218/2014 modifiant le règlement (CE) 854/2004 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine.

Règlement (CE) 2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.

#### Protocole

- **Nature des contaminants recherchés:** *Salmonella*.
- **Productions concernées (« population »):** carcasses de porcs abattus en France.
- **Stade de la chaîne alimentaire:** abattoir.
- **Définition du « cas »:** prélèvement contaminé par *Salmonella* spp.
- **Nombre d'échantillons et modalité d'échantillonnage:** le protocole permet la collecte de la totalité des résultats d'autocontrôles *Salmonella* identifiés dans le plan de maîtrise sanitaire des opérateurs, en application du règlement CE n° 2073/2005.
- **Stratégie d'échantillonnage:** contrôle aléatoire des carcasses aux fréquences réglementaires pour l'ensemble des abattoirs de porcs.
- **Méthode analytique, nature du prélèvement:** les prélèvements sont réalisés en fin de chaîne avant le ressuage des carcasses, à l'aide d'une éponge frottée sur une surface d'au moins 400 cm<sup>2</sup>. La recherche de *Salmonella* est réalisée sur chaque prélèvement par la méthode ISO/CEN 6579 ou toute méthode alternative équivalente certifiée par Afnor Validation.

## Références bibliographiques

EFSA & ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2014, The European Union Abstract Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2014. EFSA Journal 2015;13(12):4329,191 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4329.

InVS (Institut de veille sanitaire), 2014, Données relatives aux toxi-infections alimentaires collectives déclarées en France en 2014 (<http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Toxi-infections-alimentaires-collectives/Donnees-epidemiologiques>).

# Surveillance programmée de la contamination par *Salmonella* spp. des viandes fraîches de volaille au stade de l'abattoir et de la résistance aux antibiotiques des souches isolées en 2014

Muriel Marault (1), Sabine Itié-Hafez (2), Viviane Morel (1), Isabelle Berta-Vanrullen (3), Sophie A. Granier (1) (sophie.granier@anses.fr), Claire Born (4), Corinne Danan (2)

(1) Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, Laboratoire associé au laboratoire nationale de référence Résistance antimicrobienne, Maisons-Alfort, France

(2) Direction générale de l'Alimentation, Sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments, Bureau de l'appui à la surveillance de la chaîne alimentaire, Paris, France

(3) Anses, Direction des laboratoires, Unité de coordination et d'animation de la surveillance, Maisons-Alfort, France

(4) Direction générale de l'Alimentation, Sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments, Bureau des établissements d'abattage et de découpe, Paris, France

## Résumé

En application de la décision 2013/652/UE concernant la surveillance de la résistance aux antimicrobiens chez les bactéries zoonotiques et commensales, la direction générale de l'Alimentation a organisé en 2014 un plan de surveillance de la contamination par *Salmonella* spp. des carcasses de volailles au stade de l'abattage et de la résistance aux antibiotiques des souches isolées. Seuls les abattoirs de volailles agréés dans l'ensemble des régions de France métropolitaine et d'Outre-mer étaient concernés afin de produire une information représentative des volumes d'abattage au niveau national. Le taux de contamination moyen des carcasses de volailles par *Salmonella* est supérieur à 10 %. Les carcasses de dindes présentent un taux de contamination plus élevé que celles de poulets. Les sérovars majoritairement isolés ne sont pas ceux qui sont concernés par le critère réglementaire de sécurité défini pour les viandes fraîches de volailles dans le règlement (CE) n°2073/2005; les taux de non-conformité sont donc faibles, proches de 1 %. Les profils d'antibiorésistance obtenus concernent peu les antibiotiques critiques pour la santé humaine. Par ailleurs, si les souches multi-résistantes sont peu nombreuses chez le poulet, leur nombre est plus élevé chez la dinde. Ce plan est destiné à être reconduit les années paires afin de comparer l'évolution du niveau de résistance des souches de *Salmonella* isolées au sein de ces filières, au niveau européen.

## Mots-clés

Plan de surveillance, *Salmonella*, volaille, carcasses, antibiorésistance

## Abstract

**Programmed surveillance of *Salmonella* spp. contamination of fresh poultry meat at slaughterhouse and the antimicrobial resistance of strains isolated in 2014**  
In 2014, implementing Decision 2013/652/EU on the surveillance and reporting of antimicrobial resistance in zoonotic and commensal bacteria, the Directorate General for Food (DGAL) organised a surveillance programme on poultry carcass contamination by *Salmonella* spp. at slaughterhouse. The antimicrobial resistance of these *Salmonella* isolates was also assessed. In order to produce data representative of the slaughtered volume nationwide, only certified poultry slaughterhouses were targeted in mainland and overseas France. Contamination by *Salmonella* spp. was on average greater than 10%. Turkey carcasses displayed higher contamination rates than chicken carcasses. The most commonly observed serovars were not those regulated in fresh poultry meat. Therefore, non-compliance rates remained very low, at around 1%. The resistance profiles observed rarely involved critically important antibiotics for human health. Multi-drug resistance appeared to be quite rare in chickens, while it was more frequent in turkeys. This programme is designed to be reproduced every other year in order to provide temporal trends as well as comparable data at European level.

## Keywords

Monitoring program, *Salmonella*, Poultry, Carcasses, Antimicrobial resistance

*Salmonella* constitue la seconde cause de toxi-infections alimentaires chez l'Homme et demeure la cause la plus fréquente de toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) d'origine bactérienne au niveau européen. Le réservoir principal de *Salmonella* est le tractus gastro-intestinal des mammifères (porcs, bovins) et des oiseaux (volailles domestiques). La transmission à l'Homme se fait essentiellement par la consommation d'aliments contaminés crus ou peu cuits. Pour les individus les plus sensibles, le traitement de la salmonellose se fait par l'administration d'antibiotiques. Cependant, les bactéries peuvent acquérir des caractères d'antibiorésistance et donc résister aux traitements. Ce phénomène constitue une menace pour la santé publique.

En application de la directive 2003/99/CE, les États membres de l'Union européenne sont tenus de mettre en place un système de surveillance des zoonoses, des agents zoonotiques et de la résistance antimicrobienne associée. Les salmonelles font partie de la liste des agents à surveiller énumérés à l'annexe I, partie A, de cette directive. Pour les salmonelles d'origine alimentaire, la surveillance officielle est constituée par: i) la supervision de l'application du règlement (CE) n°2073/2005 par les opérateurs, ii) l'application de la décision

2013/652/UE concernant la surveillance de la résistance et la présentation de rapports relatifs à la résistance aux antimicrobiens chez les bactéries zoonotiques et commensales.

L'objectif principal de ce plan de surveillance était de caractériser le profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Salmonella* isolées de carcasses de volailles à l'abattoir, conformément à la décision 2013/652/UE. La réalisation de ce plan a également permis de vérifier la conformité des carcasses de volailles au critère microbiologique de sécurité 1.28 du règlement (CE) n°2073/2005, mis en place en 2011, qui concerne *Salmonella* Typhimurium (y compris son variant monophasique 1,4,[5],12:i:-) et *Salmonella* Enteritidis.

## Matériels et méthodes

### Protocole d'échantillonnage

Conformément à la décision 2013/652/UE, le plan d'échantillonnage a été dimensionné afin d'obtenir 170 isolats de salmonelles en filière poulet et 170 isolats de salmonelles en filière dinde pour tester leur sensibilité aux antibiotiques.

**Encadré.**

**Objectifs**

Étude descriptive de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Salmonella* isolées de carcasses de volailles à l'abattoir.  
Vérification de la conformité des carcasses de volailles au critère réglementaire de sécurité.

**Cadre**

Décision 2013/652/UE, Règlement (CE) N°2073/2005 (critère de sécurité 1.28).

**Protocole**

Le plan d'échantillonnage a été dimensionné afin d'obtenir 170 isolats de salmonelles en filière poulet et 170 isolats de salmonelles en filière dinde.

- **Nature des contaminants recherchés:** *Salmonella*, sensibilité à 14 antibiotiques représentant 12 classes d'antimicrobiens.

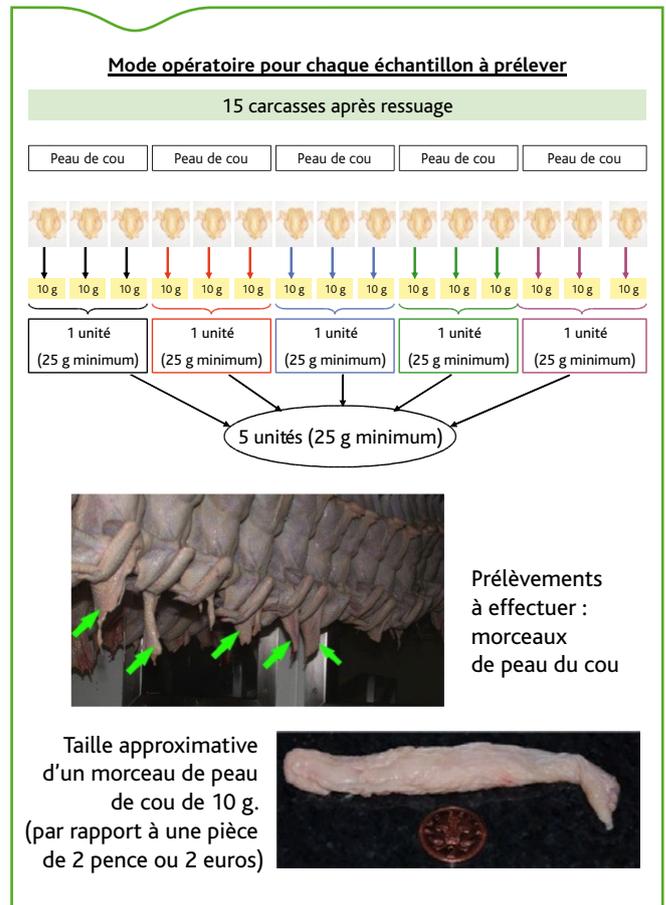
- **Productions concernées (« population »):** carcasses de dinde ou de poulet à l'abattoir

- **Définition du « cas »:** un échantillon non-conforme est défini s'il est contaminé par *Salmonella* Enteritidis ou Typhimurium (y compris son variant monophasique 1,4,[5],12:-).

Nombre d'échantillons et modalité d'échantillonnage: 3 000 (1 200 échantillons de dindes d'engraissement et 1 800 échantillons de poulets de chair) au prorata des volumes d'abattage.

- **Stratégie d'échantillonnage:** aléatoire dans chaque abattoir.

- **Méthode analytique, nature du prélèvement:** recherche de *Salmonella* sur peau de cou selon la méthode de référence NF EN ISO 6579 « Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* » ou des méthodes alternatives équivalentes validées par Afnor Certification.



**Figure 1.** Mode opératoire pour la réalisation des prélèvements (extrait de l'instruction technique DGAL/SDSSA/2013-9926 du 24/12/2013)

Le calcul du nombre de prélèvements s'est fondé sur les résultats d'un plan de surveillance comparable, mis en place par la direction générale de l'Alimentation (DGAL) en 2010 (taux moyen de contamination des carcasses de poulets: 10,4 % et des carcasses de dindes: 16,7 %) (1).

Ainsi, en intégrant une marge de sécurité, dans l'hypothèse d'une diminution de la prévalence de *Salmonella* sur les carcasses de volailles liée à la mise en place du critère microbiologique de sécurité 1.28, le nombre total de prélèvements a été fixé à 3 000 (1 200 échantillons de dindes d'engraissement et 1 800 échantillons de poulets de chair).

Les prélèvements ont été répartis dans dix-huit régions et trois DROM-COM, proportionnellement aux volumes d'abattage des abattoirs agréés de volailles. La répartition des prélèvements dans les différents abattoirs a ensuite été réalisée par les régions, conformément au protocole relatif à l'organisation des plans de surveillance et de contrôle défini par la DGAL, qui précise notamment les exigences en termes de répartition géographique et temporelle des prélèvements (répartition proportionnelle aux volumes d'abattage, lissage des prélèvements sur l'année).

**Réalisation des prélèvements et envoi aux laboratoires**

La sélection des lots à prélever devait être réalisée de manière aléatoire. Conformément au règlement (CE) n°2073/2005 (annexe I, chapitre 3), les échantillons étaient composés de cinq unités de peau de cou de volaille (n=5) constituées de la manière suivante (Figure 1):

- un morceau de peau de cou, d'environ 10 g, a été prélevé sur quinze carcasses de volailles issues du même cheptel d'origine, sélectionnées de manière aléatoire, après le ressuage,
- puis les morceaux de peau de cou ont été regroupés par trois, de manière à d'obtenir cinq unités de poids *a minima* égal aux 25 g nécessaires à l'analyse.

Les prélèvements ont été envoyés aux laboratoires d'analyse agréés pour la recherche et le sérotypage des salmonelles. Les souches de

**Tableau 1.** Liste des antibiotiques testés et seuil d'interprétations d'après l'Eucast (www.eucast.org)

Classes d'antibiotiques	Antibiotiques testés (abréviation)	Seuils épidémiologiques ECOFF (mg/L)
Pénicillines	Ampicilline (AMP)	> 8
	Céfotaxime (CTX)	> 0,5
C3G	Ceftazidime (CAZ)	> 2
	Méropénème (MEM)	> 0,125
Carbapénèmes	Méropénème (MEM)	> 0,125
Macrolides	Azithromycine (AZM)	> 16*
	Acide nalidixique (NAL)	> 16
(Fluoro)quinolones	Ciprofloxacine (CIP)	> 0,064
Aminosides	Gentamicine (GEN)	> 2
Phénicolés	Chloramphénicol (CHL)	> 16
Sulfamides	Sulfaméthoxazole (SSS)	> 256*
Diaminopyrimidines	Triméthoprime (TMP)	> 2
Tétracyclines	Tétracycline (TET)	> 8
Glycylcyclines	Tigécycline (TGC)	> 1
Polymyxines	Colistine (CST)	> 2

\*: valeurs seuils non fournies par Eucast (http://www.eucast.org/mic\_distributions\_and\_ecoffs/), valeurs utilisées sur proposition du laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE)-Antibiorésistance (http://www.crl-ar.eu/)

*Salmonella* isolées ont ensuite été transmises à l'Anses de Maisons-Alfort pour l'analyse de leur sensibilité aux antibiotiques.

**Méthodes d'analyse**

**Recherche de *Salmonella* et sérotypage**

La recherche de *Salmonella* et le sérotypage des souches isolées ont été effectués selon la méthode de référence NF EN ISO 6579 « Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour la recherche

1. [http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/recueil\\_tt\\_public\\_PSPC\\_2010\\_v4.pdf](http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/recueil_tt_public_PSPC_2010_v4.pdf).

des *Salmonella* ». Des méthodes alternatives équivalentes validées par AFNOR Certification sont autorisées si elles ne présentent pas de restriction d'emploi.

### Analyse de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées

Le profil de sensibilité aux antibiotiques a été déterminé en utilisant la technique de micro-dilution en milieu liquide selon la méthode Sensititre®. La concentration minimale inhibitrice (CMI) de quatorze antibiotiques, représentant douze classes d'antimicrobiens, a été mesurée. Les seuils d'interprétation utilisés sont ceux cités dans la décision 2013/652/UE. Il s'agit des seuils épidémiologiques déterminés par le Comité européen pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens (Eucast). Pour les valeurs non déterminées (ND), l'Autorité européenne de sécurité des aliments (Efsa) a communiqué des valeurs d'interprétation temporaires (Tableau 1). Ces seuils pourront être amenés à évoluer au fur et à mesure de l'avancée des connaissances et de l'accumulation des données. Un phénotype de résistance est dit « sauvage » lorsque la bactérie ne présente aucune résistance acquise. Les salmonelles de phénotype sauvage sont naturellement sensibles aux 14 antibiotiques testés. La « multi-résistance » est définie comme l'acquisition de la résistance à au moins trois classes d'antibiotiques (EFSA and ECDC, 2016).

## Résultats

Au total, 1 183 échantillons de dindes d'engraissement et 1 696 échantillons de poulets de chair ont été analysés, ce qui correspond à un taux de réalisation du plan de 98,5 % et 94 % respectivement. Au total, 131 abattoirs ont été concernés par ces prélèvements (20 % des abattoirs nationaux abattant des volailles).

### Taux de contamination et vérification du respect du critère de sécurité

#### Poulets de chair

Sur 1 696 échantillons de poulets de chair prélevés dans 122 abattoirs, *Salmonella* a été détectée dans 210 échantillons issus de 26 abattoirs (21 % des abattoirs prélevés), ce qui correspond à un taux de contamination moyen des carcasses de 12,4 %.

Dix-neuf sérovars différents ont été identifiés, les plus fréquents étant Derby (29 %), Anatum (27 %) et Indiana (20 %). Le séovar Typhimurium (y compris son variant monophasique 1,4,[5],12:i:-) a été retrouvé dans dix échantillons et le séovar Enteritidis n'a pas été isolé, ce qui correspond à un taux de non-conformité réglementaire estimé à 0,6 % pour les poulets de chair.

#### Dindes d'engraissement

Sur 1 183 échantillons de dindes d'engraissement prélevés dans 27 abattoirs, *Salmonella* a été détectée dans 192 échantillons issus de quinze abattoirs (111 échantillons contaminés provenaient d'un même abattoir), ce qui correspond à un taux de contamination moyen des carcasses de 16,2 %. Seize sérovars différents ont été identifiés, les plus fréquents étant Bredeney (41 %), Anatum (14 %) et Saintpaul (12 %). Le séovar Typhimurium (y compris son variant monophasique 1,4,[5],12:i:-) a été retrouvé dans quatorze échantillons et le séovar Enteritidis dans un échantillon, ce qui correspond à un taux de non-conformité réglementaire estimé à 1,3 % pour les dindes d'engraissement.

### Analyse de la sensibilité aux antibiotiques

Après élimination des isolats reçus en doublons<sup>(2)</sup> ou contaminés<sup>(3)</sup>, 169 souches de salmonelles isolées de carcasses de poulets et 173 salmonelles isolées de carcasses de dindes ont été analysées pour tester leur sensibilité aux antibiotiques.

2. Sont considérés comme doublons, tous les isolats provenant du même prélèvement et de même séovar. On conserve alors uniquement un exemplaire qui devient une souche.

3. L'étape de détection des salmonelles dans l'échantillon doit impérativement être suivie d'une étape de purification avant transmission au LNR résistance antimicrobienne pour analyse du phénotype de résistance. Certaines cultures se sont révélées poly-microbiennes et n'ont pas pu être exploitées.

#### Poulets de chair

Au total, 154 souches (91,1 %) de phénotype sauvage ont été observées. onze souches (6,5 %) possédaient un phénotype de résistance à une ou deux classes d'antibiotiques et quatre souches (2,4 %) étaient multi-résistantes (Figure 2). La production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) n'a pas été observée. Aucune résistance aux céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération (C3G) ou aux carbapénèmes n'a été décelée. La résistance à la ciprofloxacine représentait 1,2 % des souches. La résistance à la colistine s'élevait à 2,4 % (Tableau 2).

Tous les isolats du séovar majoritaire, Derby, étaient de phénotype sauvage. Chez Typhimurium, des résistances ont été observées pour l'ampicilline, les sulfamides et la tétracycline, tandis que les variants monophasiques de Typhimurium étaient résistants à l'ampicilline et aux sulfamides.

#### Dindes d'engraissement

Au total, 54 isolats (31,2 %) de phénotype sauvage ont été observés, 79 souches (45,7 %) possédaient un phénotype de résistance à une ou deux classes d'antibiotiques et 40 souches (23,1 %) étaient multi-résistantes (Figure 2).

Comme pour la filière poulet, aucune production de BLSE et aucune résistance aux C3G ou aux carbapénèmes n'ont été observées. La résistance à la ciprofloxacine concernait 6,9 % des souches; quant à la colistine, 38,7 % des souches avaient une valeur de CMI juste au-dessus de la valeur seuil de l'ECOFF (Epidemiological Cut-OFF value).

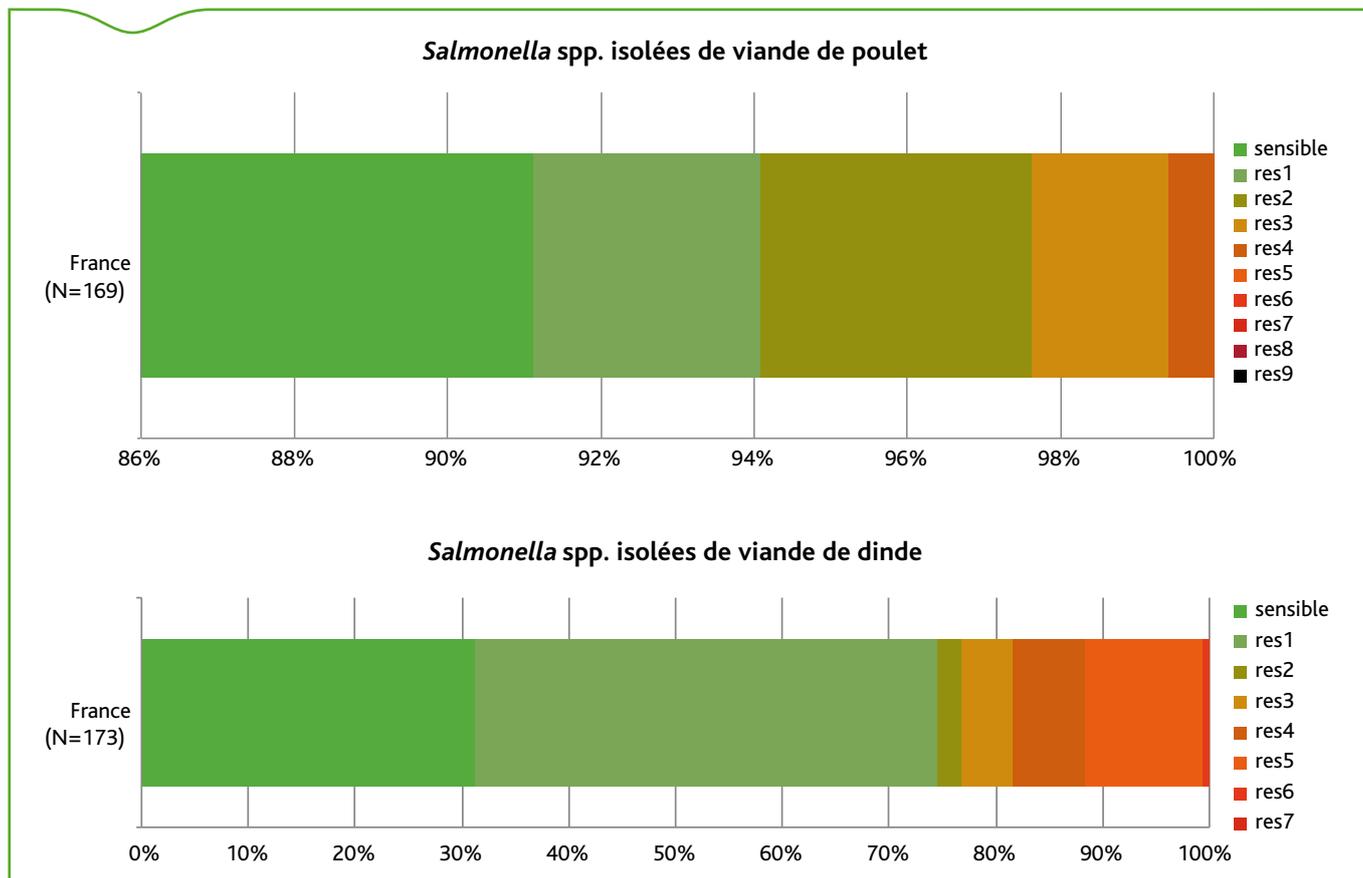
Les souches du séovar majoritaire, S. Bredeney, avaient des profils de résistance variés. Il est à noter une forte proportion de souches résistantes à la tétracycline (53/56) et/ou possédant une CMI vis-à-vis de la colistine (37/56) légèrement supérieure à la valeur seuil.

Pour les sérovars réglementés dans le cadre des programmes de lutte en filière avicole, les deux souches de S. Hadar étaient résistantes à l'acide nalidixique et à la tétracycline. Les résistances observées parmi les souches S. Typhimurium et son variant monophasique étaient homogènes: elles étaient toutes résistantes à l'ampicilline, aux sulfamides, à la tétracycline et à la gentamicine. Toutefois, une souche S. Typhimurium et un variant monophasique présentaient en plus une CMI à la colistine supérieure à la valeur du seuil épidémiologique, ce qui les classe comme résistantes à cet antibiotique.

La répartition de la « résistance » à la colistine est très hétérogène au sein des sérovars (majorité des S. Bredeney et S. Brandenburg, quelques S. Anatum, S. Albany, S. Newport, S. Indiana, S. Montevideo, S. Eko). La plupart des souches résistantes à la colistine présentaient une CMI de 4 mg/L, soit la valeur juste au-dessus du seuil limite, ce qui n'est pas un résultat significatif d'une vraie résistance. D'ailleurs, un antibiogramme en milieu gélosé n'a pas permis de confirmer une résistance de ces salmonelles vis-à-vis de la colistine. Toutefois, une souche de séovar Brandenburg présentait une CMI vis-à-vis de la colistine de 8 mg/L. Pour cette souche, la réalisation d'un antibiogramme en milieu gélosé a permis de mesurer un diamètre d'inhibition de 9 mm autour du disque de colistine chargé à 10 µg. Ceci est significativement plus étroit que ce qui est obtenu classiquement avec les salmonelles (environ 15 mm) et laisse supposer la présence d'un mécanisme de résistance à la colistine. La recherche du gène *mcr-1*, unique mécanisme de résistance plasmidique à la colistine décrit jusqu'à l'été 2016 (Encadré), n'a pas révélé la présence de ce type de mécanisme pour cette souche.

## Discussion - conclusion

Le taux de contamination moyen par *Salmonella* des carcasses de volailles à l'abattoir est de l'ordre de 10 % et apparaît plus élevé en filière dinde d'engraissement qu'en filière poulet de chair. Sur ce point, les résultats obtenus en 2014 sont comparables aux résultats du plan de surveillance de 2010 obtenus à partir d'un nombre plus faible d'échantillons. Néanmoins, ces résultats doivent être interprétés avec précaution, compte tenu de la variabilité observée entre les abattoirs. Le taux de contamination des carcasses de volailles est en effet



**Figure 2.** Distribution des fréquences de résistance des souches de *Salmonella* isolées de carcasses de dindes et de poulets en 2014 en France, exprimées par classes d'antibiotiques (d'après EFSA and ECDC, 2016). La multi-résistance est définie comme l'acquisition de la résistance à au moins trois classes d'antibiotiques

dépendant de plusieurs facteurs, tels que les volumes et les cadences d'abattage, les process, les niveaux de contamination des élevages, etc. Des enquêtes plus fines sur ces facteurs de risque permettraient de confirmer ces hypothèses. Par ailleurs, plusieurs biais de sélection peuvent surestimer les résultats observés, notamment le possible non-respect de la stratégie d'échantillonnage de la part de certains préleveurs privilégiant les prélèvements de lots issus d'élevages détectés positifs en salmonelle.

Il est à noter que les mesures de lutte en filière avicole semblent limiter la présence des cinq sérovars couverts par les programmes d'éradication (*S. Typhimurium* et son variant monophasique, *S. Enteritidis*, *S. Hadar*, *S. Infantis*, *S. Virchow*). Ces sérovars ne sont en effet pas ceux que l'on retrouve majoritairement sur les carcasses de volailles. Ceci souligne l'importance de la prise en compte de l'ensemble des sérovars de *Salmonella* dans le plan de maîtrise sanitaire des opérateurs en aval des abattoirs.

D'après les résultats des plans de surveillance de 2014 et 2010, la mise en place du critère de sécurité 1.28 dans le règlement (CE) N°2073/2005 en 2011 n'a pas eu d'impact sur le taux de contamination des carcasses de volailles par *Salmonella*. Le taux de non-conformité réglementaire des carcasses de volailles (présence des sérovars *Typhimurium* (y compris son variant monophasique 1,4,[5],12:i:-) ou *Enteritidis*) est proche de 1 %. La gestion des lots non-conformes a conduit à un retrait des carcasses et des pièces de découpe qui en sont issues, conformément au guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire<sup>(4)</sup>.

En ce qui concerne l'analyse de la sensibilité aux antibiotiques, la majorité des souches de *Salmonella* isolées dans la filière poulet étaient de phénotype sauvage. Les taux de résistance et de multi-

**Tableau 2.** Taux de résistance des souches *Salmonella* isolées en fonction des antibiotiques

Antibiotiques (Seuil épidémiologique en mg/L)	Taux résistance (en %, [IC95])	
	Poulets de chair N=169	Dindes d'engraissement N=173
Ampicilline (8) AMP	5,9 [3,2-10,5]	24,3 [18,5-31,2]
Cefotaxime (0.5) CTX	0,0 [0,0-2,2]	0,0 [0,0-2,2]
Ceftazidime (2) CAZ	0,0 [0,0-2,2]	0,0 [0,0-2,2]
Méropénème (0.125) MEM	0,0 [0,0-2,2]	0,0 [0,0-2,2]
Azithromycine (16) AZM	1,2 [0,3-4,2]	0,0 [0,0-2,2]
Acide nalidixique (16) NAL	0,0 [0,0-2,2]	6,4 [3,6-11,0]
Ciprofloxacine (0.06) CIP	1,2, [0,3-4,2]	6,9, [4,0-11,7]
Gentamicine (2) GEN	0,0 [0,0-2,2]	0,6 [0,1-3,2]
Chloramphénicol (16) CHL	0,6 [0,1-3,3]	10,4 [6,7-15,8]
Sulfaméthoxazole (256) SSS	4,7 [2,4-9,1]	22,5 [17,0-29,3]
Triméthoprime (2) TMP	1,8 [0,6-5,1]	17,3 [12,4-23,7]
Tétracycline (8) TET	3,6 [1,6-7,5]	65,9 [58,6-72,5]
Tigécycline (1) TGC	0,0 [0,0-2,2]	1,7 [0,6-5,0]
Colistine (2) CST	2,4 [0,9-5,9]	38,7 [31,8-46,2]

4. [http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/\\_Guide\\_Gestion\\_Alerte\\_Revision\\_2\\_jlt\\_2009\\_COMPLETEE\\_VDef\\_\\_cle09fc34.pdf](http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/_Guide_Gestion_Alerte_Revision_2_jlt_2009_COMPLETEE_VDef__cle09fc34.pdf).

résistance des souches de *Salmonella* sont plus élevés dans la filière dinde. Ce constat semble valable pour l'ensemble des États membres ayant rapporté à l'Efsa des données pour les viandes de dinde et de poulet (EFSA & ECDC, 2016).

Il est rassurant de constater qu'aucun phénotype BLSE, de résistance aux C3G ou de résistance aux carbapénèmes n'a été observé chez les salmonelles issues des filières poulet et dinde à l'abattoir. La résistance aux fluoroquinolones est présente également à un niveau faible; elle est plus élevée dans la filière dinde (6,9 %) mais est à un niveau inférieur à la moyenne des États membres (24,3 %) (EFSA & ECDC, 2016). La comparaison avec les données de l'Efsa est cependant limitée aux pays ayant déclaré des résultats dans les filières concernées et doit aussi être relativisée au vu du nombre de souches analysées. Par exemple, sur 28 États membres, seules les données de neuf États-membres reportant un total de 726 souches de salmonelles analysées étaient disponibles pour l'ensemble de la filière dinde (environnement d'élevage et/ou viande). Pour les viandes de dinde spécifiquement, seuls trois pays (France, Allemagne et Hongrie) ont transmis des données pour 226 souches analysées. Le taux de résistance à la colistine observé est en apparence élevé notamment dans la filière dinde. Toutefois, il doit être analysé avec précaution en raison des limites de la méthode et du manque de recul sur ces données. La méthode de micro-dilution est précise dans la limite d'un facteur 8. Un grand nombre de mesures se situaient juste au-dessus de la valeur du seuil. L'application de ce facteur 8 ne permet pas d'affirmer que ces souches étaient définitivement résistantes à la colistine. La collecte de données de CMI vis-à-vis de la colistine dans les futurs plans de surveillance, ainsi que les avancées de la recherche sur le sujet, devraient permettre de mieux comprendre ces résultats et d'avoir une idée plus précise du risque de propagation de cette résistance. Enfin, la pertinence de la valeur seuil pour la colistine (> 2 mg/L) utilisée actuellement pour l'interprétation « résistant » ou « sensible » méritera d'être réévaluée au fur et à mesure de l'accumulation des données de CMI.

### Encadré. Résistance à la colistine

En novembre 2015, Liu *et al* (2016) ont publié le 1<sup>er</sup> mécanisme de résistance plasmidique à la colistine. Auparavant, la résistance à la colistine était considérée comme non transmissible horizontalement entre bactéries. La découverte de ce gène *mcr-1* en Chine a été rapidement suivie de descriptions de ce gène sur cinq continents, chez des entérobactéries diverses (*E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella pneumoniae*...) et d'origine variée (homme, animal, aliments...). La résistance à la colistine n'est surveillée en Europe que depuis la mise en application de la décision 2013/652/UE le 1<sup>er</sup> janvier 2014. Il est à noter que les méthodes de caractérisation phénotypique de la résistance à la colistine sont pour le moment encore assez peu robustes et d'interprétation difficile.

Ce plan est destiné à être reconduit tous les deux ans au niveau européen. L'expérience acquise par les différents États membres de l'Union européenne devrait faciliter l'analyse et la transmission des données afin de mettre en évidence d'éventuelles tendances en fonction des pays, voire des circulations de souches résistantes aux antibiotiques.

### Références bibliographiques

EFSA, ECDC, 2016. The European Union Abstract report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. EFSA Journal 14, 4380.

Liu, Y.Y., Wang, Y., Walsh, T.R., Yi, L.X., Zhang, R., Spencer, J., Doi, Y., Tian, G., Dong, B., Huang, X., Yu, L.F., Gu, D., Ren, H., Chen, X., Lv, L., He, D., Zhou, H., Liang, Z., Liu, J.H., Shen, J., 2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis 16, 161-168.

# Le réseau *Salmonella*, un dispositif de surveillance des salmonelles sur la chaîne alimentaire: bilan 2015

Vincent Leclerc (1), Frédérique Moury (1), Véronique Noel (1), Isabelle Berta-Vanrullen (2), Sabrina Cadel-Six (1), Renaud Lailler (1) (renaud.lailler@anses.fr)

(1) Anses, Laboratoire de sécurité sanitaire des aliments, Maisons-Alfort, France

(2) Anses, Direction scientifique des laboratoires, Maisons-Alfort, France

## Résumé

Depuis 20 ans, le réseau *Salmonella* centralise des résultats de sérotypage de salmonelles isolées sur la chaîne alimentaire, de manière volontaire, dans toutes les filières et tous les secteurs d'activités. Cette surveillance événementielle complète les contrôles officiels réalisés chaque année. Ce volume massif de données collectées par l'Anses confirme les tendances et les émergences rapportées en niveau européen. Toutes origines confondues, *S. Typhimurium* et ses variants monophasiques ainsi que *S. Enteritidis* demeurent majoritairement isolées. *Salmonella* est depuis de nombreuses années un contaminant microbiologique majeur à l'origine d'épidémie d'origine alimentaire en France et en Europe. L'optimisation de l'évaluation et de la gestion du risque de salmonellose chez l'homme et l'animal implique la collecte de données de qualité, dans un pas de temps adapté. À la suite d'un processus d'évaluation de son fonctionnement, ce réseau a entamé en 2015 une action profonde de modernisation de ses outils analytiques mais également de pilotage, d'interprétation, de partage et de communication de l'information pour mieux répondre aux besoins exprimés par l'ensemble des acteurs et utilisateurs de cette surveillance. Au-delà du sérovar, les salmonelles isolées dans le cadre de ce réseau peuvent être caractérisées pour leur potentiel lien épidémiologique. Les nouvelles méthodes de typage basées sur le séquençage du génome offrent des perspectives très prometteuses dans ce domaine.

## Mots-clés

*Salmonella*, surveillance, zoonose, sérovar, émergence

## Abstract

### **The *Salmonella* network: a surveillance scheme for *Salmonella* in the food chain: 2015 results**

*For 20 years, the Salmonella network has been centralising serotyping results for Salmonella isolated on a voluntary basis in the food chain, in all industries and sectors. This outbreak surveillance supplements the official inspections undertaken every year. This massive volume of data collected by ANSES confirms the trends and emerging strains reported at European level. All origins combined, S. Typhimurium and its monophasic variants as well as S. Enteritidis are the main isolated strains. For many years, Salmonella has been a major microbiological contaminant responsible for foodborne epidemics in France and Europe. Optimising the assessment and management of the risk of salmonellosis in humans and animals requires the collection of high-quality data, over a suitable time period. In 2015, after a process was undertaken to evaluate its operations, this network launched a major campaign to modernise its analytical tools and tools for the management, interpretation, sharing and communication of information to better meet the needs expressed by the stakeholders and users of this surveillance system. In addition to being tested for their serovar, the Salmonella isolated through this network can be characterised for their potential epidemiological link. New typing methods based on genome sequencing offer highly promising prospects in this area.*

## Keywords

*Salmonella, Surveillance, Zoonosis, Serovar, Emergence*

Les salmonelles représentent un danger microbiologique, majoritairement transmissible à l'Homme par la voie alimentaire. Ce danger est connu et surveillé au niveau local, national et international depuis de nombreuses années. En 2014, *Salmonella* apparaît en deuxième position, derrière *Campylobacter*, dans le classement des agents bactériens isolés chez l'Homme en Europe. C'est également le premier contaminant microbiologique à l'origine de toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) pour lesquelles l'agent responsable a pu être confirmé (EFSA-ECDC, 2015). En France, sur la période 2008-2013, l'incidence des *Salmonella* non-typhiques a été estimée à 307 cas pour 100 000 habitants ( $IC_{90\%}$ : 173-611), entraînant en moyenne 4 305 hospitalisations par an (Van Cauteren et al., 2015).

Les aliments les plus fréquemment contaminés par *Salmonella* sont les viandes de volailles, de porcs et de bovins. Si les œufs de consommation (et les ovo-produits) sont très rarement contaminés, ils représentent toujours la première cause d'épidémie à *Salmonella* en Europe du fait de leur très large consommation et du risque de consommer ces aliments crus ou insuffisamment cuits (EFSA-ECDC, 2015). L'impact de *Salmonella* en santé humaine et les répercussions économiques des mesures de gestion dans les différentes filières de productions animales soulignent la nécessité d'identifier et de caractériser les *Salmonella* tout au long de la chaîne alimentaire, pour la maîtrise de ce pathogène.

## Objectifs du dispositif

Créé en 1997, le réseau *Salmonella* avait pour but d'apporter un appui scientifique et technique aux laboratoires partenaires, en charge de la

détection de cette bactérie pathogène dans les matrices animales et/ou alimentaires. Le réseau s'étend sur tout le territoire national. Quelques laboratoires partenaires sont également situés à l'étranger. Cet appui concernait la caractérisation phénotypique, voire moléculaire, des isolats dans un but de confirmation du sérovar et d'une éventuelle discrimination des souches bactériennes isolées. Cette activité a engendré une collecte massive de données descriptives, associées au contexte de prélèvement. Étant donné la stabilité du réseau, l'intérêt d'un suivi des tendances d'isolement des principaux sérovars s'est avéré de plus en plus évident au fil du temps (Lailler et al., 2012).

Aujourd'hui, ce réseau a pour objectif principal de détecter l'émergence de souches potentiellement problématiques en santé publique et/ou pouvant impacter économiquement les filières de production animales. Il doit permettre de caractériser la contamination des animaux, de leur environnement, de l'écosystème et des aliments au regard du danger *Salmonella*. Les souches isolées par les laboratoires partenaires sont transmises de manière volontaire.

Dans ce contexte, les données présentées ici concernent uniquement les résultats de sérotypage par agglutination sur plaque, obtenus en 2015 au Laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses. Ces résultats sont associés à des méta-données descriptives concernant les prélèvements réalisés sur le terrain. Ce bilan n'inclut pas les résultats de sérotypage obtenus dans les laboratoires partenaires du réseau (environ deux tiers des données centralisées annuellement). En effet, l'organisation et les moyens mis en œuvre pour ce réseau ne permettent pas actuellement une réactivité suffisante dans la restitution des sérotypages réalisés dans les laboratoires partenaires et leur intégration dans la base de données du réseau. En concertation avec l'ensemble de ses partenaires,

## Encadré.

### Objectifs

Détection d'émergence de sérovars de *Salmonella* au sein d'une filière particulière, suivi des tendances évolutives de chaque sérovar isolé sur la chaîne alimentaire, appui scientifique et technique aux laboratoires de terrain pour la caractérisation des isolats.

### Cadre de la programmation

La recherche de *Salmonella*, tout au long de la chaîne alimentaire, s'inscrit dans le respect de la réglementation européenne (Paquet hygiène). Les règlements (CE) N° 178/2002 et N°2073/2005 (modifié) définissent les responsabilités des différents acteurs de cette chaîne et les critères microbiologiques de sécurité et d'hygiène qui ciblent notamment les salmonelles dans les aliments. Dans leurs derniers avis concernant *Salmonella*, l'Efsa (2010) et l'Anses (2013) recommandent le sérotypage complet des salmonelles isolées sur la chaîne alimentaire pour fournir une information précise aux gestionnaires et évaluateurs du risque.

*Salmonella* et *Campylobacter* sont considérés en Europe comme les agents zoonotiques responsables de la plupart des cas de zoonose chez l'Homme (règlement (CE) N°2160/2003). Pour prendre en compte l'impact dans le domaine de la santé animale et des crises sanitaires, fortement mobilisatrices de moyens financiers et humains, l'autorité compétente a défini *Salmonella* comme un danger sanitaire de 1<sup>re</sup> catégorie pour les espèces animales *Gallus gallus* et *Meleagris gallopavo* (arrêté du 29 juillet 2013).

### Protocole

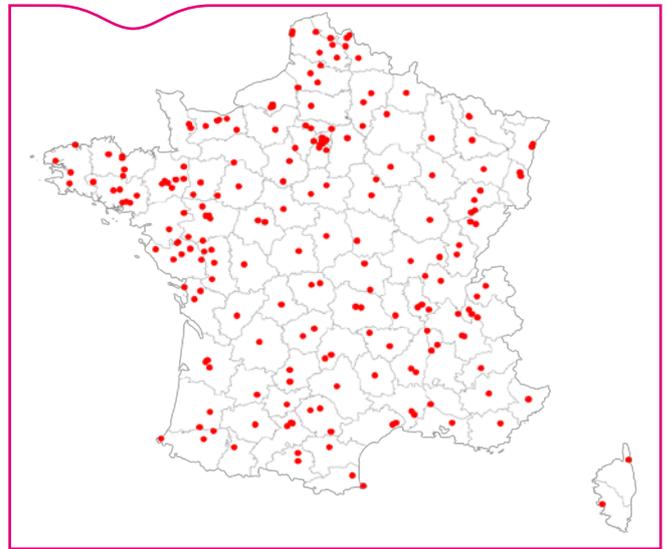
- **Nature du contaminant recherché:** *Salmonella* spp.
- **Productions concernées:** productions animales et végétales, environnements de production, alimentation pour animaux, alimentation humaine, écosystème.
- **Stade de la chaîne alimentaire:** de la fourche à la fourchette.
- **Définition du « cas »:** isolement d'une salmonelle à partir d'un prélèvement réalisé sur la chaîne agro-alimentaire.
- **Nombre d'échantillons et modalité d'échantillonnage:** 3465 salmonelles isolées dans le cadre d'autocontrôles, d'alertes, de diagnostics en élevage ou d'enquêtes (nombre total d'échantillons prélevés pour autocontrôles non connu).
- **Stratégie d'échantillonnage:** aléatoire/ciblée selon les dispositifs de surveillance impliqués; transmission des données selon volontariat.
- **Méthode analytique, nature du prélèvement:** potentiellement, toute matrice présente sur la chaîne alimentaire. Recherche de *Salmonella* par les méthodes validées par Afnor Validation, méthode de référence: NF EN ISO 6579-1 et NF EN ISO 6579/A1 (Annexe D). Sérotypage par agglutination de *Salmonella*: FD CEN ISO/TR 6579-3.

le réseau est en pleine évolution pour permettre d'améliorer cette réactivité et disposer d'outils plus performants pour répondre aux nouveaux objectifs de surveillance qui lui sont fixés (voir § Orientations souhaitables du dispositif).

## Synthèse du fonctionnement

### Des laboratoires partenaires volontaires

Le réseau *Salmonella* est géré et animé par le Laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses Maisons-Alfort. Le Laboratoire de sécurité des aliments est le laboratoire associé au laboratoire national de référence (LNR) *Salmonella* du laboratoire de Ploufragan-Plouzané de l'Anses, pour la caractérisation des salmonelles tous secteurs confondus. Le LNR est chargé, dans le cadre de son mandat de référence et selon l'ordonnance 2015-1245 du 7 octobre 2015, d'apporter « à l'État, aux laboratoires agréés et aux plates-formes mentionnées au II de l'article L. 201-14 l'appui scientifique et technique nécessaire à la collecte, au traitement, à l'accessibilité, à la transmission et à la diffusion des données d'épidémiologie. Ces laboratoires peuvent également apporter leur appui aux autres gestionnaires de dispositifs de surveillance ». Le réseau *Salmonella* collabore ainsi étroitement avec le LNR pour l'aider dans cette tâche et pour répondre à ces obligations. Le réseau propose, à ce titre, un exemple d'outil pour la surveillance sous gestion complète de l'Anses.



**Figure 1. Répartition géographique des laboratoires partenaires adhérents du réseau *Salmonella* en 2015**  
Chaque point rouge représente un laboratoire partenaire. Les laboratoires situés dans les DOM-TOM et à l'étranger ne sont pas représentés sur cette carte.

**Tableau 1. Importance relative des différents contextes de prélèvement associé aux souches reçues au Laboratoire de sécurité des aliments dans le cadre du réseau *Salmonella***

Contexte de prélèvement	Nombre de souches	Proportion (en %)
Alerte Produit	34	1,0
Epidémie/Alerte	99	2,9
Diagnostic en élevage	288	8,3
Surveillance (autocontrôles)	3039	87,7
Enquête	5	0,1
<b>Total général</b>	<b>3465</b>	<b>100,0</b>

Date de prélèvement comprise entre le 01/01/2015 et le 31/12/2015. Date de réception des souches par l'Anses comprise entre le 5/1/2015 au 6/6/2016

Les partenaires de ce réseau sont des laboratoires publics ou privés, adhérents, pour la majorité, aux associations Adilva, Aflabv et Arolab. Ces trois associations assurent la représentation au sein du réseau *Salmonella*, respectivement:

- des laboratoires vétérinaires publics d'analyse départementaux,
- des laboratoires privés d'analyses de biologie vétérinaire impliqués en particulier en production primaire,
- des laboratoires privés d'analyses d'environnement et d'hygiène des aliments.

En 2015, 131 laboratoires partenaires ont transmis au réseau des souches et des données associées (Figure 1). Le nombre de souches transmises à l'Anses par chaque partenaire variait entre 1 et 392 souches. Le contexte de réalisation du prélèvement associé à ces souches, concerne majoritairement (88 %) la réalisation d'autocontrôles par les professionnels pour la surveillance de leurs activités, quelle que soit l'étape de la chaîne alimentaire (Tableau 1). Certaines souches sont isolées dans le cadre d'analyses réalisées à des fins de diagnostic en élevage. Plus rarement, les salmonelles reçues ont été mises en évidence dans un contexte d'alerte, lié à la contamination d'un produit fini, éventuellement en cours de distribution, ou suite à la survenue de cas humains de salmonellose. Ainsi, les souches collectées par le réseau ont été isolées de matrices très diverses: à partir d'animaux malades ou porteurs sains, dans l'environnement d'élevages, dans des abattoirs, dans des ateliers de transformation ou dans des aliments destinés à la consommation humaine ou animale.

### Description des données collectées

L'état sanitaire d'un animal ou d'un végétal qui entre dans le processus de transformation et de production de l'alimentation humaine doit être

surveillé pour éviter la transmission d'agents pathogènes à l'Homme tels que *Salmonella*. Les laboratoires partenaires effectuent donc la recherche de salmonelles sur des prélèvements réalisés à tous les stades de la chaîne alimentaire : depuis l'importation de matières premières qui composent l'alimentation animale, jusqu'à l'aliment destiné au consommateur à son domicile ou à la table d'un restaurant. Dans ce contexte, de nombreuses analyses sont demandées chaque année à partir de prélèvements effectués en élevage, à l'abattoir ou à d'autres stades de la chaîne dans le cadre, soit des plans de surveillance et de contrôles officiels, soit des autocontrôles des opérateurs.

Les résultats de sérotypage intégrés dans la base de données du réseau *Salmonella* sont obtenus, soit par les laboratoires partenaires, soit par le Laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses (seules données prises en compte dans cet article, au regard de l'objectif principal relatif à la détection de signaux inhabituels ou d'émergence). Ces résultats sont accompagnés de données épidémiologiques qui caractérisent la souche :

- le pays, le département et si possible la ville où le prélèvement a été réalisé,
- le « lieu » (exploitation, atelier de transformation, abattoir, etc.) et la date de prélèvement,
- le « secteur » (écosystème naturel, alimentation animale, santé et production animales, alimentation humaine) et éventuellement l'existence de signes cliniques chez l'animal,
- le « contexte » (surveillance, diagnostic, épidémie, alerte produit, etc.),
- le « préleveur » (autocontrôle, échantillonnage officiel, etc.),
- le « type de prélèvement » (aliment destiné à l'animal ou à l'Homme, prélèvement de l'environnement, prélèvement sur l'animal, etc.),
- la nature de la matrice prélevée,
- les numéros d'identification permettant l'investigation de situations le cas échéant (Inuav, DAP, EDE, Eget, N° Tiac, N° note de service, etc.).

Pour chaque souche envoyée, une fiche est renseignée par les laboratoires et les métadonnées ainsi collectées sont saisies dans la base de données du réseau, nommée ACTEOLab (Application pour la centralisation et le transfert de données dédiées à l'épidémiologie opérationnelle des laboratoires). Les commémoratifs de sérotypage transmis par les partenaires, sont systématiquement vérifiés avant d'être intégrés dans la base de données. Ces données peuvent faire l'objet d'un contact téléphonique avec le laboratoire expéditeur des souches pour apporter

d'éventuels compléments d'information. Lorsque le sérotypage est réalisé au Laboratoire de sécurité des aliments et que ce résultat a été validé par l'équipe technique chargée de coordonner ce réseau, un rapport d'analyse est envoyé au laboratoire demandeur. Dans le cas de souches non agglutinables, qui ne peuvent pas être sérotypées par des méthodes classiques, une méthode alternative est mise en œuvre au Laboratoire de sécurité des aliments, pour permettre la caractérisation de ces souches (kit Check & Trace *Salmonella*, Société Check-Point).

Ces données sont utiles :

- aux laboratoires partenaires qui peuvent interroger l'équipe du réseau *Salmonella* pour, par exemple, identifier le sérovar majoritairement rencontré dans une matrice ou un environnement donné, ou connaître l'évolution d'un sérovar au cours des années,
- aux gestionnaires du risque qui disposent d'information sur la présence de sérovirs non réglementés et sur l'émergence de certaines souches à prendre en compte le cas échéant dans la réglementation,
- aux partenaires impliqués dans l'investigation des Tiac ou des alertes produits liées à des non conformités de produits mis sur le marché. La contribution du réseau se traduit, dans ce cas, par la transmission de bilans permettant de cibler des sérovirs et/ou des aliments (potentiellement) impliqués,
- à la détection d'événements inhabituels sur la chaîne alimentaire, par la mise en place d'outils statistiques dédiés (analyse de séries temporelles notamment).

Des méthodes de typage moléculaire (caractérisation de variants de Typhimurium par PCR, MLVA, PFGE, séquençage) peuvent également être mises en œuvre au laboratoire. Ces méthodes permettent de comparer les souches entre elles et d'illustrer le lien potentiel entre des souches isolées de différents types de prélèvement. En effet, la probabilité que deux souches dérivent d'un ancêtre commun récent est d'autant plus élevée que ces souches présentent des profils moléculaires similaires, voire non distinguables. En complément des informations sur les prélèvements (contexte, date et lieu de prélèvement), ces méthodes sont particulièrement intéressantes dans le suivi des souches au sein d'une exploitation/atelier ou dans le contexte d'investigation de Tiac.

## Résultats obtenus

En 2015, le Laboratoire de sécurité des aliments a réalisé le sérotypage de 3 465 souches. En moyenne, 68 souches ont été réceptionnées chaque semaine par le Laboratoire de sécurité des aliments, pour confirmation du sérovar (Figure 2).

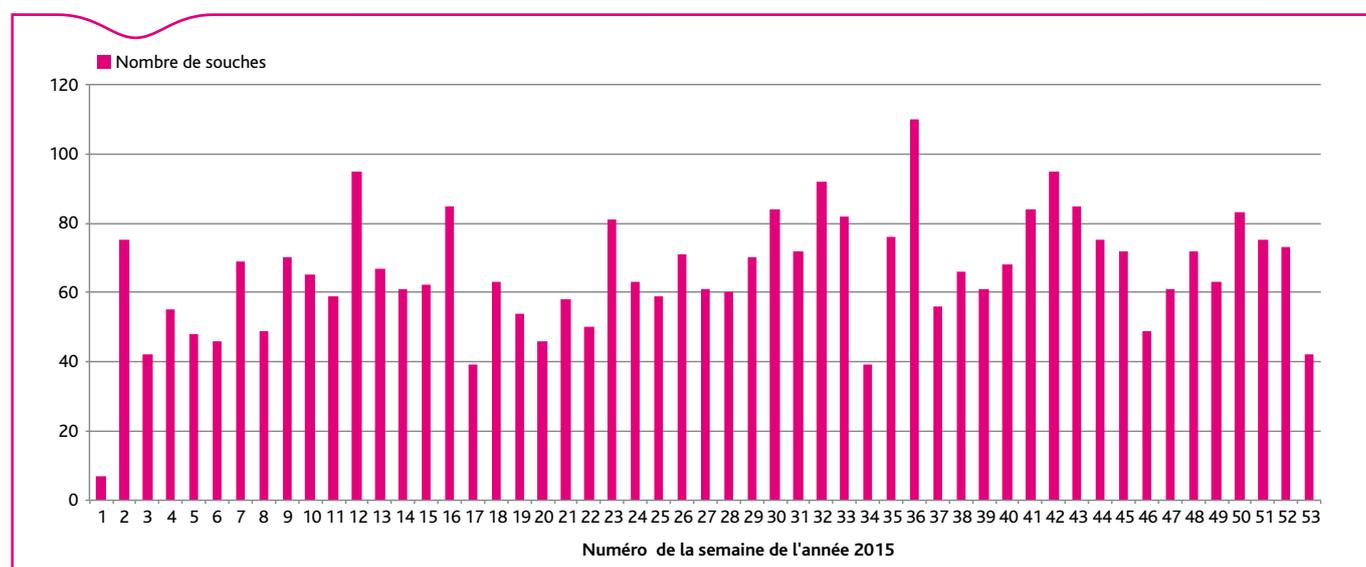


Figure 2. Répartition du nombre de souches transmises au Laboratoire de sécurité des aliments dans le cadre du réseau *Salmonella*, en fonction de la semaine de réalisation du prélèvement (moyenne du nombre de souches isolées et transmises au Laboratoire de sécurité des aliments = 68 souches/semaine)

**Tableau 2. Principaux sérovars des souches reçues au Laboratoire de sécurité des aliments selon le secteur d'activité, dans le cadre du réseau *Salmonella* en 2015.**

Alimentation humaine (n=1 503)	Alimentation animale (n=619)	Santé animale (n=1 236)	Ecosystème (n=107)
S. 1,4,[5],12:i:- (224)	S. Livingstone (162)	S. Enteritidis (154)	S. Veneziana (17)
S. Typhimurium (135)	S. Cerro (113)	S. Livingstone (71)	S. 4,5,12:i:- (10)
S. Enteritidis (131)	S. 1,3,19:z27:- (19)	S. 1,4,[5],12:i:- (64)	S. Enteritidis (9)
S. Derby (111)	S. Hadar (19)	S. Montevideo (56)	S. Typhimurium (7)
S. Bredeney (98)	S. Mbandaka (18)	S. IIIb 61:k:1,5,7 (55)	S. Albany (6)
S. IIIb 61:k:1,5,7 (93)	S. Anatum (16)	S. Mbandaka (45)	S. Newport (5)
S. Dublin (66)	S. Havana (13)	S. Kottbus (42)	S. Bovismorbificans (4)
S. Montevideo (49)	S. Tennessee (13)	S. IIIa 48:z4,z23:- (38)	S. Livingstone (4)
S. Mbandaka (41)	S. Agona (12)	S. Lille (35)	S. London (4)
S. Infantis (38)	S. Newport (12)	S. Typhimurium (35)	S. Napoli (4)
S. Kentucky (28)	S. Indiana (11)	S. Llandoff (33)	S. Weltevreden (3)
S. Livingstone (27)	S. Infantis (11)	S. Tennessee (28)	S. Agona (2)
S. Newport (27)	S. Llandoff (10)	S. Give (25)	S. Ajiobo (2)
S. Anatum (26)	S. Montevideo (10)	S. Newport (25)	S. Durban (2)
S. Rissen (25)	S. Typhimurium (10)	S. Veneziana (21)	S. Infantis (2)
S. Kedougou (25)	S. 1,4,[5],12:i:- (10)	S. Dublin (20)	S. IIIb 38:r:z (2)

### Répartition des isolats reçus au Laboratoire de sécurité des aliments en fonction du secteur et du type de matrice

Les souches inventoriées selon le secteur d'activité d'origine se répartissent de la façon suivante: 1 503 souches (43,4 %) en alimentation humaine, 1 236 souches (35,7 %) en santé et production animales, 619 souches (17,8 %) en alimentation animale et 107 souches (3,1 %) issues de l'écosystème naturel (Tableau 2).

#### Alimentation humaine

Les souches, collectées dans ce secteur, sont principalement issues de la catégorie « produits carnés » (815 souches soit 54,2 %) et de la catégorie « produits laitiers » (545 souches soit 36,3 %). Les autres catégories de produits (œufs et ovo-produits, fruits et légumes, produits de la mer) représentent quant à elles, moins de 2 % des isolats pour chacune d'entre elles.

Les viandes de porc (302 souches), de poulet (166 souches) et de dinde (96 souches) représentent 69,3 % des produits carnés pour lesquels une salmonelle a été isolée au Laboratoire de sécurité des aliments. Les isolats issus des viandes d'ovins, de bovins et de canards représentent respectivement 8,2 %, 8,0 % et 2,3 %. Les autres viandes (cerf, cheval, chèvre, sanglier, oie, gibier, lapin...) représentent 11,6 % des isolats reçus au Laboratoire de sécurité des aliments provenant de produits carnés.

Les laits et fromages issus de bovins (114 et 189 souches) et d'ovins (38 et 51 souches) sont les deux sources de contamination les plus importantes pour les isolats issus des produits laitiers. Ils représentent 71,9 % des produits laitiers pour lesquels une salmonelle a été isolée au Laboratoire de sécurité des aliments.

#### Santé et production animales

Les souches, issues de ce secteur, sérotypées au Laboratoire de sécurité des aliments ont été majoritairement issues de l'espèce *Gallus gallus* (546 souches soit 44,2 %), de bovins (342 souches soit 27,7 %) et de canards (111 souches soit 9,0 %). Sur les 546 souches isolées de *Gallus gallus*, 140 (25,6 %) étaient isolées de poules pondeuses et 342 (62,6 %) isolées de poulets de chair.

#### Alimentation animale

Les souches, issues de ce secteur, sérotypées au Laboratoire de sécurité des aliments ont été majoritairement isolées d'aliments destinés

aux animaux domestiques (379 souches soit 61,2 %). Pour 84 des 619 isolats traités au Laboratoire de sécurité des aliments (13,6 %), l'information précise n'est pas connue et est notée sous la forme de « tous les aliments pour animaux ». Viennent ensuite les aliments composés pour les volailles (43 souches soit 6,9 %). Le Laboratoire de sécurité des aliments a également sérotypé 43 souches (6,9 %) issues de matières premières d'origine végétale, les huiles de graines ou de fruits (soja, colza, tournesol...), 35 souches (5,6 %) issues de matières premières d'origine animale et 13 souches (2,1 %) issues de matières premières d'origine végétale (orge, maïs, blé...). Les autres souches se répartissent dans diverses autres catégories.

#### Ecosystème

Les souches, issues de ce secteur, sérotypées au Laboratoire de sécurité des aliments ont été majoritairement isolées de sources/captage de l'eau (54 souches soit 50,5 %) et d'usines de traitement de l'eau (33 souches soit 30,8 %). Les souches proviennent des systèmes de distribution des eaux pour 4,7 % (5 souches) et 11 souches (10,3 %) sont identifiées en tant que « autres activités ».

### Principaux sérovars recensés au Laboratoire de sécurité des aliments

Parmi les souches reçues au Laboratoire de sécurité des aliments en 2015, 42 souches se sont avérées non agglutinables (sérovar dit Rough).

#### Alimentation humaine

##### > Catégorie « Viandes »

- Viandes de porc (n=302) : les souches collectées dans cette catégorie appartiennent à 26 sérovars. Les trois principaux sérovars que sont les variants monophasiques de Typhimurium (S. 1,4,[5],12:i:-) (43,7 %), S. Typhimurium (17,9 %) et S. Derby (17,9 %) représentent 79,5 % des souches issues de cette catégorie de viande.
- Viandes de poulet (n=166) : S. Derby (14,5 %), S. Infantis (13,7 %) et S. Kentucky (13,3 %) ont été majoritairement isolés parmi les 31 sérovars retrouvés.
- Viandes de dinde (n=96) : les trois principaux sérovars, S. Bredeney (31,3 %), S. 1,4,[5],12:i:- (24,0 %) et S. Brandenburg (14,6 %) représentent 69,9 % des souches issues de cette catégorie de viande. Au total, quatorze sérovars ont été retrouvés.

- Viandes de mouton (n=67) : parmi les onze sérovars isolés de cette catégorie de viande, seul le sérovar *S.* IIIb 61:k:1,5,7 a été très majoritairement retrouvé (64,2 %).

#### > Catégorie « Lait et produits laitiers »

Les principaux sérovars isolés du lait de vache (n=114) sont *S.* Montevideo (26,3 %), *S.* Mbandaka (21,1 %), *S.* Dublin (17,3 %) et *S.* Enteritidis (14,0 %). Au total, 16 sérovars ont été retrouvés. Pour les fromages fabriqués à base de lait de vache (n=189), *S.* Enteritidis (31,2 %), *S.* Dublin (21,7 %), *S.* Typhimurium (14,8 %) et les variants monophasiques de Typhimurium (*S.* 1,4,[5],12:i:-) (9,5 %) sont les 4 principaux sérovars isolés sur les 21 recensés dans ce type de produits.

Le lait de brebis (n=38) peut également être occasionnellement source de contamination. Plus de la moitié des souches isolées appartiennent au sérovar *S.* IIIb 61:k:1,5,7 (55,3 %). Au total, dix sérovars ont été retrouvés. Pour les fromages au lait de brebis (n=51), les deux principaux sérovars rencontrés sont *S.* IIIb 61:k:1,5,7 (27,4 %) et *S.* IIIb 50:i:z (21,6 %). Concernant les autres produits laitiers, tous types confondus, *S.* Bredeney (40,5 %) est le sérovar majoritairement isolé parmi les 29 sérovars détectés.

#### > Catégorie « Œufs et ovoproduits »

Le sérovar le plus souvent retrouvé est *S.* Livingstone (35,7 %) mais le nombre de ces matrices traitées au Laboratoire de sécurité des aliments est très faible (n=28). Au total, 7 sérovars ont été recensés.

#### > Catégorie « Produits de la mer »

Concernant les produits de la mer (crustacés et mollusques, n=11), neuf sérovars différents ont été identifiés et aucun n'est donc majoritaire.

#### > Catégorie « Fruits et légumes »

Les trois sérovars les plus fréquemment isolés sont *S.* Typhimurium (21,4 %), les variants monophasiques de Typhimurium (*S.* 1,4,[5]:12:i:-) (14,3 %) et *S.* Anatum (14,3 %). Au total, dix sérovars différents ont été recensés parmi les quatorze souches isolées.

#### Santé et production animales

Filière « bovine » (n=342) : les souches collectées en filière bovine sont majoritairement issues de prélèvements d'animaux malades et de leur environnement d'élevage et appartiennent à 27 sérovars, dont les principaux sont *S.* Enteritidis (32,7 %), *S.* Montevideo (13,5 %) et *S.* Mbandaka (10,8 %).

Filière « poulets de chair » (n=385) : *S.* Livingstone (18,1 %) et *S.* Lille (10,2 %) sont les deux sérovars majoritairement isolés. Il est intéressant de noter l'importante diversité de sérovars (72 différents) recensés au sein de ces 342 souches sérotypées au Laboratoire de sécurité des aliments.

Filière « poules pondeuses » (n=145) : les sérovars les plus fréquemment isolés sont *S.* Enteritidis (11,4 %), *S.* Havana (9,3 %) et *S.* Banana (8,6 %) parmi les 37 sérovars différents retrouvés.

Filière « canards » (n=111) : 30 sérovars ont été recensés dont 3 majoritairement isolés : *S.* Give (19,8 %), *S.* Kentucky (8,1 %) et *S.* 6,7:i:- (8,1 %).

#### Alimentation animale

Dans ce secteur, les aliments destinés aux animaux domestiques représentent la catégorie de prélèvement à l'origine du plus grand nombre de souches sérotypées au Laboratoire de sécurité des aliments (n=379). Les salmonelles le plus souvent isolées dans ce secteur appartiennent aux sérovars *S.* Livingstone (37,5 %) et *S.* Cerro (28,0 %), parmi les 31 sérovars recensés.

#### Ecosystème

Les souches provenant de sources ou de captage de l'eau (n=54), ont permis d'identifier majoritairement *S.* Veneziana (27,8 %) parmi les 25 sérovars recensés. À partir des prélèvements réalisés en usines de traitement de l'eau (n= 33), *S.* Albany a été le sérovar le plus fréquemment isolé (42,9 %).

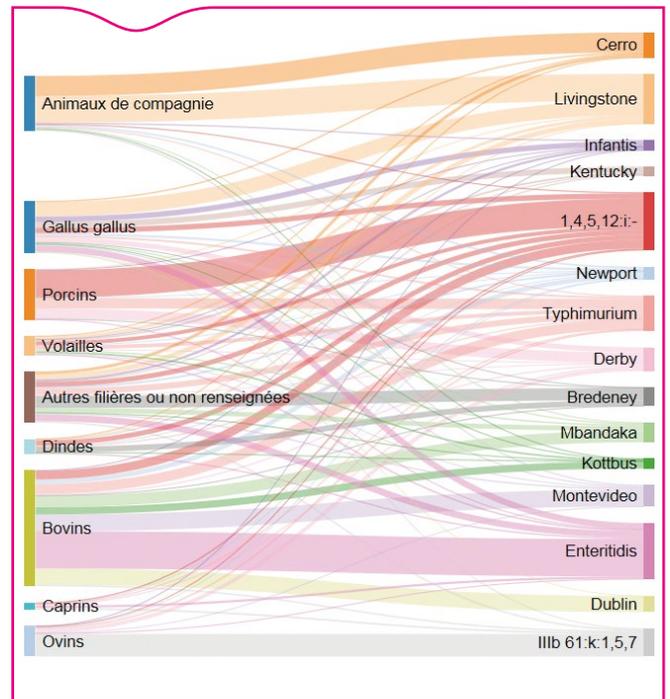


Figure 3. Distribution des 15 principaux sérovars de *Salmonella* (n=2100, 61 %) recensés parmi les souches adressées au Laboratoire de sécurité des aliments dans le cadre du réseau *Salmonella* durant l'année 2015, selon la filière de production d'origine du prélèvement. (Les diagrammes de Sankey illustrent l'importance relative de chaque sérovar isolé dans les différentes filières de production)

## Analyse des points forts et des points faibles du dispositif

Le sérotypage systématique des souches isolées est recommandé par l'Efsa (2010) pour mener une surveillance plus fine aux différents stades de la chaîne alimentaire ou encore pour préciser les messages transmis dans le cadre du système d'alerte rapide concernant les aliments destinés à l'alimentation humaine ou animale vis-à-vis du danger *Salmonella*. Le sérotypage par agglutination est la méthode de typage officielle des *Salmonella*. S'agissant de sérovars peu ou pas fréquents, l'isolement et l'identification de telles souches constituent des données précieuses pour permettre d'établir une forte présomption de lien entre les souches. Cependant, cette méthode historique manque d'intérêt s'agissant des sérovars les plus abondants qui sont issus de filières distinctes (variants monophasiques de Typhimurium, Typhimurium, Enteritidis, Newport, Livingstone, Derby, etc.). Il serait extrêmement profitable de mettre en œuvre le séquençage du génome entier, sur tout ou partie de ces sérovars, afin de démontrer l'apport d'une meilleure discrimination des souches en épidémiologie préventive. Le réseau *Salmonella* prévoit de mener cette étude en 2017.

La caractérisation de certaines souches peut être approfondie en situation d'alerte dans une entreprise ou d'investigation de Tiac afin d'apprécier la relation entre les souches isolées chez l'Homme et celles d'origine non humaine. Cette comparaison des profils moléculaires nécessite d'avoir une bonne connaissance de la diversité des souches circulant sur le terrain, appartenant au sérovar concerné. L'importante collection de souches du réseau permet d'accéder à une grande diversité d'origine d'isolement (géographique, temporelle, matricielle, contextuelle) et ainsi de conforter ou réfuter les hypothèses de lien épidémiologique entre les souches étudiées.

La qualité des données est assurée par le maintien en compétence du personnel au Laboratoire de sécurité des aliments et dans les laboratoires adhérant au réseau. Des actions de formation au sérotypage pour les techniciens de ces laboratoires sont dispensées plusieurs fois par an, mais l'audience demeure restreinte (2-3 personnes/

session). De plus, chaque année, le Laboratoire de sécurité des aliments organise un essai inter-laboratoires d'aptitude (EILA) auquel plus de la moitié des laboratoires partenaires au réseau participent et obtiennent des résultats satisfaisants. Il s'agit d'évaluer leur performance à réaliser *a minima* le sérotypage des salmonelles réglementées. Le Laboratoire de sécurité des aliments participe pour sa part à deux EILA organisés au niveau international par le laboratoire de référence de l'Union européenne pour les *Salmonella* et par l'Organisation mondiale de la santé.

Comme les années précédentes, la comparaison des bilans annuels réalisés par le centre national de référence pour les *Salmonella* (CNR) et le réseau *Salmonella* souligne des similarités entre les sérovars majoritairement isolés dans le secteur de l'alimentation humaine et ceux isolés chez l'Homme: émergence des variants monophasiques de Typhimurium (S. 1,4,[5],12:i:-) depuis le début des années 2000, prépondérance de *S. Typhimurium* et *S. Enteritidis* depuis les années 1990. Ces mêmes sérovars constituaient le « Top 3 » des salmonelles recensées en 2014 en Europe dans ces mêmes secteurs (EFSA–ECDC, 2015). Plus récemment, sur la base des données de surveillance collectées par le réseau *Salmonella* et le CNR, le sérovar *S. Kentucky* a été intégré, à titre provisoire<sup>(1)</sup>, à la liste des dangers sanitaires de première catégorie, par arrêté ministériel<sup>1</sup>, pour lutter contre l'implantation de souches multi-résistantes aux antibiotiques en production primaire dans les filières réglementées *Gallus gallus* et *Meleagris gallopavo*.

Le réseau *Salmonella* collecte également des données issues du secteur de l'alimentation animale, majoritairement des souches isolées d'aliments destinés aux animaux domestiques. Ces derniers représentent une source potentielle de contamination humaine par contact direct. Il s'agit donc de réduire cette voie de contamination animale et de surveiller le portage de salmonelles par les animaux de compagnie, dont certains plus exotiques (reptiles, serpents, etc.) sont connus pour héberger parfois plusieurs sérovars sans exprimer de signes.

Le champ d'application de la surveillance couvert par ce réseau est donc très vaste. Cependant, il présente certaines faiblesses, mentionnées ci-après, qui doivent être corrigées pour améliorer le fonctionnement de ce dispositif de surveillance. Il est raisonnable de penser que les laboratoires de première intention déterminent plus aisément des sérovars de salmonelles auxquels ils sont régulièrement confrontés ou pour lesquels des exigences réglementaires sont fixées et des EILA organisés.

Par ailleurs, l'évaluation externe du réseau, réalisée en 2015 selon la méthode « Oasis flash » (Hendriks *et al.*, 2011), a souligné le manque d'information concernant la représentativité des données collectées par rapport à l'ensemble des salmonelles isolées sur le territoire national. En effet, ce dispositif ne recense pas le nombre total d'analyses réalisées mais s'intéresse à ce jour uniquement aux souches isolées, transmises volontairement par les partenaires pour sérotypage. Pour autant, la prévalence des salmonelles dans les matrices dites à risque pourrait être estimée par une centralisation renforcée des résultats d'analyse, incluant les résultats négatifs obtenus sur le territoire national.

Les délais de transmission des données de sérotypage obtenues par les partenaires du réseau vers l'unité centrale du dispositif et les délais d'intégration dans la base de données doivent être compatibles avec le niveau de réactivité attendu par les utilisateurs du réseau.

En outre, certains sérovars peu fréquemment isolés ou d'autres dont la formule antigénique requiert l'utilisation de sérums peu communs sont probablement surreprésentés parmi les souches reçues au Laboratoire de sécurité des aliments pour confirmation du sérovar. Plus généralement, même si les laboratoires sont compétents pour réaliser ce sérotypage, une proportion non négligeable de souches principalement isolées en élevage avicole (filière réglementée), sont

transmises au Laboratoire de sécurité des aliments, laboratoire associé au LNR, pour confirmer le résultat (argument pour un audit ou pour pallier au manque de confiance d'un client).

Le réseau doit donc aujourd'hui renforcer ses actions dans le développement d'outils facilitant une utilisation des données et une communication en temps réel entre les partenaires, avant de fixer des objectifs de transmission plus contraignants.

Pour gagner en efficacité, il serait souhaitable que la masse d'informations recueillie par le réseau *Salmonella* soit traitée, quasiment en temps réel, de manière à fournir aux gestionnaires du risque des renseignements leur permettant d'anticiper l'éventuelle survenue de cas humains et planifier les contrôles officiels. Cette évolution est d'autant plus attendue que la base de données est sollicitée par Santé publique France (SpF), pour faciliter les investigations épidémiologiques dans le cadre d'un contexte d'alerte sanitaire, ce qui nécessiterait idéalement de disposer de résultats d'analyse récents, concernant des prélèvements réalisés dans une fenêtre de temps compatible avec la chronologie de survenue des cas. Pour cela, les caractéristiques de la matrice alimentaire suspectée doivent également être considérées: durée de vie du produit, complexité du procédé de fabrication et de distribution du produit, etc.

Le réseau est animé par une équipe multidisciplinaire comprenant notamment des microbiologistes et épidémiologistes. L'équipe d'animation de ce réseau collabore avec d'autres entités de l'Agence pour développer des outils informatiques (base de données, algorithmes, applicatifs sous environnement R-Shiny, etc.). À travers ses nouveaux outils, le réseau diversifie son appui à ses partenaires et donc indirectement aux professionnels des différentes filières du secteur agro-alimentaire mais également aux évaluateurs du risque. Des outils de requête permettent de connaître par exemple la nature des matrices les plus contaminées par un sérovar donné. Cette information est très utile pour guider les professionnels dans la gestion d'une situation de contamination. Cette fonctionnalité, actuellement accessible uniquement à l'équipe d'animation du réseau, sera prochainement proposée aux partenaires du réseau en retour de leur participation motivée à contribuer à la surveillance sanitaire des salmonelles dans la chaîne alimentaire.

Ce dispositif de surveillance des salmonelles est donc en pleine évolution. L'adéquation des moyens alloués à ce dispositif pour répondre aux objectifs de surveillance fixés aujourd'hui en France, au regard du danger *Salmonella*, fait l'objet d'une réflexion interne à l'Anses. Les nouvelles modalités de fonctionnement du réseau seront clarifiées d'ici fin 2016, après validation du comité de pilotage. Le rôle de chaque acteur dans le dispositif sera précisé. Par cette démarche, le réseau devrait aboutir à une meilleure adéquation entre les données acquises (référentiels, représentativité estimée de certains secteurs, etc.) et les attentes des utilisateurs finaux (gestionnaires et évaluateurs du risque, professionnels de l'agroalimentaire) de l'information produite par le dispositif de surveillance.

## Remerciements

L'ensemble des laboratoires partenaires du réseau *Salmonella* sont remerciés pour leur participation volontaire à ce dispositif de surveillance. L'équipe d'animation du réseau repose sur un collectif de scientifiques, techniciens et personnels administratifs plus important que la simple liste des co-auteurs de cet article. Ces personnes sont vivement remerciées pour leur précieuse implication.

## Glossaire

Adilva: Association française des directeurs et cadres de laboratoires vétérinaires publics d'analyses

Aflabv: Association française des laboratoires d'analyses de biologie vétérinaire

Aprolab: Association professionnelle des sociétés françaises de contrôle en laboratoire

CNR: Centre national de référence

1. Arrêté du 17 février 2015 modifiant l'arrêté ministériel du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales.

DAP: Document d'accompagnement des prélèvements  
EDE: Numéro d'identification des élevages de bovins  
EGET: Numéro d'identification des ateliers de porcs à l'engraissement  
EILA: Essai inter-laboratoires d'aptitude  
LNR: Laboratoire national de référence  
LRUE: Laboratoire de référence de l'Union européenne  
MLVA: Multi Locus VNTR Analysis  
OMS: Organisation mondiale de la santé  
PCR: Polymerase Chain Reaction  
PFGE: Pulse Field Gel Electrophoresis  
RS: Réseau *Salmonella*  
SSCA: Surveillance sanitaire de la chaîne alimentaire  
TIAC: Toxi-infection alimentaire collective

## Références bibliographiques

ANSES, Identification de variants de *Salmonella* Typhimurium et prise en compte de ces variants dans le programme officiel de lutte en élevage

avicole. Avis de l'Anses, rapport d'expertise scientifique et technique, juillet 2013. <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2012sa0214Ra.pdf>

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), 2010. Scientific Opinion on monitoring and assessment of the public health risk of "*Salmonella* Typhimurium-like" strains. EFSA Journal, 8(10), 1826.

EFSA-ECDC, 2015. European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Abstract Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2014. EFSA Journal 13, 4329.

Hendrikx, P., Gay, E., Chazel, M., Moutou, F., Danan, C., Richomme, C., Boue, F., Souillard, R., Gauchard, F., Dufour, B., 2011. OASIS: an assessment tool for epidemiological surveillance systems in animal health and food safety. Epidemiol Infect, 139, 1486–1496.

Lailler, R., Moury, F., Granier, S. A., Brisabois, A. (2012). Le Réseau *Salmonella*, un outil pour la surveillance des salmonelles de la « fourche à la fourchette », EuroReference, N°8, ER08-12RX01.

Van Cauteren, D., De Valk, H., Sommen, C., King, L.A., Jourdan-Da Silva, N., Weill, F.X., Le Hello, S., Megraud, F., Vaillant, V., Desenclos, J.C., 2015. Community Incidence of *Campylobacteriosis* and Nontyphoidal Salmonellosis, France, 2008-2013. Foodborne Pathog Dis 12, 664-669.

# Une base de données moléculaires partagée au service de la surveillance de *Listeria monocytogenes* dans la chaîne alimentaire en France

Benjamin Felix (1) (benjamin.felix@anses.fr), Damien Michelon (1), Bertrand Lombard (1), David Albert (1), Léna Barre (1), Carole Feurer (2), Sophie Roussel (1)

(1) Université Paris-Est, Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, Unité *Salmonella-E. coli- Listeria* (SEL), Maisons-Alfort, France  
(2) Ifip, Institut du Porc, Maisons-Alfort, France

## Résumé

*Listeria monocytogenes* (*Lm*) est une bactérie ubiquitaire responsable d'une infection rare mais grave: la listériose. Transmise par la consommation d'aliments contaminés, la listériose s'avère mortelle dans 20 à 30 % des cas. Elle touche principalement les personnes immunitairement affaiblies. De ce fait, la surveillance des souches isolées de la chaîne alimentaire et de l'environnement de production est essentielle. Un dispositif efficace de surveillance sanitaire de la chaîne alimentaire nécessite la centralisation de données de qualité et la production d'informations utiles et accessibles. L'Anses, au titre de ses mandats de Laboratoire de référence national (LNR) et de l'Union européenne (LRUE) pour *Lm*, fournit un appui scientifique et technique en amont de cette collecte de données. Elle assure notamment l'harmonisation des méthodes de typage des souches isolées de la chaîne alimentaire, l'organisation de formations et d'essai inter-laboratoires d'aptitude pour les laboratoires des réseaux français et européen. En France, dans le cadre de l'unité mixte technologique (UMT) Armada, l'Anses et l'Institut du Porc (Ifip) ont travaillé depuis quatre ans au développement d'une base de données nationale pour la centralisation et le partage des données épidémiologiques et génétiques des souches détenues par les deux organismes. A terme, elle sera partagée avec quatre autres instituts techniques français ainsi que les laboratoires de l'Anses impliqués dans la surveillance de *Lm*. Cette base de données est interconnectée avec le système de base de données européen mis en place par le LRUE et l'Autorité européenne de sécurité des aliments et permet la remontée au niveau européen des données collectées au niveau national. La base de l'UMT Armada contient actuellement 1 200 souches typées par PFGE, partageant 256 profils combinés Apal/Ascl. Cet outil permet une surveillance plus fine des souches circulant en France dans les différentes filières alimentaires.

## Mots-clés

Base de données, PFGE, *Listeria monocytogenes*, surveillance moléculaire

## Abstract

### **A shared molecular database for the surveillance of *Listeria monocytogenes* in the food chain in France**

*Listeria monocytogenes* (*Lm*) is a ubiquitous bacterium responsible for a rare but serious infection: listeriosis. Transmitted through the consumption of contaminated food, listeriosis is fatal in 20% to 30% of cases. It mainly affects people with a weakened immune system. Therefore, the surveillance of strains isolated from the food chain and the environment is essential. An effective food chain surveillance system requires the centralisation of high-quality data and the production of useful and accessible information. ANSES, under its mandates as National Reference Laboratory (NRL) and European Union Reference Laboratory (EURL) for *Lm*, provides scientific and technical support prior to this data collection. In particular, it harmonises typing methods for strains isolated from the food chain, and organises training and inter-laboratory proficiency tests for laboratories in the French and European networks. In France, as part of the ARMADA Joint Technological Unit (UMT), ANSES and the French Pork and Pig Institute (IFIP) have been working for four years on the development of a national database for the centralisation and sharing of epidemiological and genetic data on the strains held by the two organisations. Over time, it will be shared with four other French technical institutes and the ANSES laboratories involved in *Lm* surveillance. This database is interconnected with the European database system developed by the EURL and the European Food Safety Authority, which makes it possible to report data collected nationwide at European level. The database of the ARMADA UMT currently contains 1,200 strains typed by PFGE, sharing 256 combined Apal/Ascl profiles. This tool is enhancing the surveillance of strains circulating in the various food sectors in France.

## Keywords

Database, PFGE, *Listeria monocytogenes*, Molecular surveillance

Dans cet article, est décrit le mode de fonctionnement et les fonctionnalités d'un outil de collecte de données de typage moléculaire, utilisé pour:

- améliorer nos connaissances de la structure des populations de *Listeria monocytogenes* (*Lm*) circulant en France,
- la surveillance de cet agent pathogène au niveau national.

## Listeria et listériose, rappels

*Lm* est une bactérie de l'environnement responsable de la listériose. Cette infection se caractérise par: i) la gravité de la symptomatologie, ii) la létalité élevée de la maladie allant de 20 à 30 % des cas, et iii) l'atteinte prioritaire de sujets immunitairement déficients, des femmes enceintes et de leurs enfants (Tourdjman *et al.*, 2014). La listériose se contracte par consommation d'aliments contaminés. Les contaminations des aliments peuvent provenir de la matière première animale ou végétale, ou de l'environnement de transformation et de distribution des aliments (bactéries dites « résidentes »). *Lm* est

capable de persister dans les produits, tout au long de la chaîne alimentaire, de se multiplier aux températures de réfrigération, de résister aux procédures de nettoyage et de désinfection, et de contaminer les ateliers de transformation de produits alimentaires. Les principales filières alimentaires font l'objet d'une surveillance, en particulier la filière porc, touchée par plusieurs crises sanitaires liées à *Lm* (Giovannacci *et al.*, 1999; Hong *et al.*, 2007).

La réglementation française implique le retrait du marché des aliments contaminés par des concentrations supérieures à 100 ufc/g, ou des aliments contaminés par des teneurs inférieures mais permettant la croissance de *Listeria*, jusqu'à des valeurs supérieures à 100 ufc/g en fin de durée de vie. Le nombre élevé de cas sporadiques en France (Tourdjman *et al.* 2014) incite à approfondir les connaissances des souches circulantes et de leurs réservoirs.

L'électrophorèse sur gel en champ pulsé (PFGE) reste jusqu'à présent la méthode de référence en France et à l'étranger pour la surveillance des souches cliniques et alimentaires de *Lm* (Tourdjman *et al.*, 2014). Les

méthodes fondées sur le séquençage du génome complet des souches (« whole genome sequencing » (WGS)) devraient, dans un très proche avenir, remplacer la PFGE. Toutefois le typage par WGS n'est pas encore utilisé en routine par l'ensemble des laboratoires impliqués dans la surveillance de cette bactérie.

L'espèce *Lm* est divisée en quatre lignées phylogénétiques, et se découpe en treize sérotypes distincts. Deux de ces lignées et quatre de ces sérotypes sont principalement associés à la listériose humaine: 4b, 1/2b (lignée I), 1/2a et 1/2c (lignée II). La diversité génétique de l'espèce a été ces dernières années largement étudiée, notamment par le groupe de recherche de l'Institut Pasteur (CNR et CC OMS pour *Listeria*) grâce à la technique MLST (Multi Locus Sequence Typing). (Ragon *et al.*, 2008). Elle permet de caractériser les souches en fonction de leur « séquence type » (ST) obtenu à partir du séquençage de sept gènes de ménage. Les ST peuvent être regroupés par complexe clonal (CC). Le CC est composé d'un groupe de STs ayant au moins six allèles en commun (Ragon *et al.*, 2008). Ces données de MLST sont devenues la base d'une nomenclature de référence française et internationale. Elles sont désormais indispensables pour analyser la structure des populations mais aussi pour échanger dans le cadre de la surveillance. Certains complexes clonaux (CC1, CC2, CC4 et CC6) sont fréquemment retrouvés dans les cas de listériose humaine en France et dans le monde (Ragon *et al.*, 2008; Chenal-Francisque *et al.*, 2011). Les souches de ces complexes clonaux ont récemment été reconnues comme hyper-virulentes, avec une capacité particulière à s'attaquer au cerveau et au fœtus, alors que d'autres souches de CCs telles que les CC9 et CC121 sont très peu ou pas du tout virulentes (Maury *et al.*, 2016).

Dans le cadre de leurs mandats, le laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE *Lm*)<sup>(1)</sup> et laboratoire national de référence (LNR)<sup>1</sup> pour *Lm* disposent d'une collection exceptionnelle de par sa taille (plus de 10000 souches dont 3000 ont été typées par PFGE) et de par la diversité des souches de terrain qu'elle contient (filière alimentaire variées, isolées sur plus de 20 ans). Ces souches ont été reçues dans le cadre d'autocontrôles, de plan de surveillance nationaux et européens (Roussel *et al.* 2012, Roussel *et al.* 2014), ou de projets de recherche menés en collaboration avec l'Inra, les centres techniques et les LNR européens. Une partie de la collection a été caractérisée au niveau génotypique, par sérotypage et par PFGE (Félix *et al.*, 2012a,b, 2013; Michelin *et al.*, 2014; Roussel *et al.*, 2014). Certaines souches ont également été caractérisées au niveau phénotypique (résistance aux antibiotiques, résistance des souches à survivre aux conditions extrêmes, capacité à former des biofilms, virulence).

L'information issue de ces collections a été structurée au sein de bases de données moléculaires partagées, en concertation avec l'ensemble des partenaires. En 2012, dans le cadre des activités du LRUE *Lm*, une base partagée avec les LNR européens, l'« EURL *Lm* DB », a été mise en place. Les différentes étapes de développement de cet outil, ainsi que son fonctionnement sont décrits en détails dans deux articles publiés en 2014 (Félix *et al.*, 2014 et 2015). Cette expertise a permis de mettre en place sur le même schéma, une base de données nationale lors d'un projet d'une durée de cinq ans mené en étroite collaboration avec l'Institut du porc (Ifip), dans le cadre d'une unité mixte technologique (UMT) Armada. Cette base est partagée entre les différents acteurs de l'UMT qui seront les utilisateurs de cet outil: les instituts techniques agro-industriels (ITAI) français (Ifip, Aérial, Actalia La Roche sur Foron et Adria Développement) et trois laboratoires de l'Anses (Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Laboratoire de sécurité des aliments, sites de Boulogne-sur-mer et de Maisons-Alfort). Cet outil a pour objectif de centraliser les principaux profils moléculaires de *Lm* circulant en France dans les différentes filières alimentaires.

Dans cet article, nous décrivons la base de données de l'UMT Armada, en particulier son fonctionnement et les données contenues. Enfin, nous illustrons les possibilités d'utilisation de cette base en donnant quelques exemples.

1. Activités scientifiques et techniques portées par l'équipe *Listeria* de l'unité SEL (*Salmonella-E. coli-Listeria*) du Laboratoire de sécurité des aliments (LSA), site de Maisons-Alfort, de l'Anses.

## Encadré.

### Objectifs

La base de l'UMT Armada permet aux instituts techniques agro-industriels (ITAI) et aux professionnels de l'agro-alimentaire de mettre en commun, avec l'Anses, les profils moléculaires de *Listeria monocytogenes* (*Lm*) collectés au niveau national pour tracer et détecter les sources de contamination sur les chaînes de production. De ce point de vue, la base de données sera utilisée comme un outil d'aide pour la définition d'action de prévention des contaminations. Les profils soumis seront facilement partageables et validés en qualité du fait des critères de validation appliqués aux données soumises. Cela permettra la disponibilité immédiate des données de typages en cas de besoin.

### Obligation réglementaire

La soumission, dans la base de données de l'UMT Armada, des profils moléculaires des souches et des informations épidémiologiques associées se fait sur la base du volontariat. Le LNR soumet les profils moléculaires des souches issues des plans de contrôles et de surveillance réalisés par les administrations de contrôles comme décrit par Roussel *et al.* (2012). Les ITAI soumettent les profils des souches issues de leur collection, pour la plupart isolées lors d'études spécifiques.

### Protocole

La base de données de l'UMT Armada centralise les profils moléculaires de PFGE de souches de *Lm* et les informations épidémiologiques qui leurs sont associées. Elle permet aux utilisateurs d'avoir accès aux données tout en conservant anonyme l'appartenance des souches et leur origine géographique d'isolement comme décrit dans Félix *et al.* (2014; 2015; 2016). La consultation des données permet, par exemple, de comparer un profil moléculaire avec ceux de la base de données. La validation des données soumises est réalisée au niveau européen puis retransmise au niveau national via un système de synchronisation en cascade avec la base de l'UMT Armada et la base de données des ses utilisateurs.

La base de l'UMT Armada contient actuellement les données de typage des souches de l'Ifip et de l'Anses, et sera accessible aux laboratoires de l'Anses de Ploufragan-Plouzané, au Laboratoire de sécurité des aliments, site de Boulogne sur mer et de Maisons Alfort et quatre ITAI (Ifip, Aérial, Actalia La Roche sur Foron et ADRIA Développement)

### Définition du « cas »

La base de données rassemble les profils moléculaires et les informations épidémiologiques associées à des souches de *Lm* isolées de prélèvements animaux (portage asymptomatique ou cas de pathologie animale), d'aliments ou de l'environnement de production agro-alimentaire.

## Matériel et méthode

### Des méthodes de typage harmonisées entre les partenaires

Les activités menées par le LRUE ces dernières années ont largement contribué à renforcer les capacités de typage au sein du réseau de LNR, par le biais de formations régulières, de cours théoriques et pratiques, de rencontres annuelles et par des essais inter-laboratoires d'aptitude (EILA) (Félix *et al.*, 2012; Félix *et al.*, 2013). Cette expérience a contribué à la mise en place au niveau national, par le LNR français, de sessions de formation à la PFGE et à l'interprétation des profils, pour les différents partenaires de l'UMT Armada. De plus, les deux EILA organisés par l'Ifip, dans le cadre de l'UMT, ont permis de valider la compétence de typage des acteurs de l'UMT et d'améliorer la qualité des profils obtenus suite aux actions correctives mises en places.

### Une plateforme technique organisée et administrée par l'Anses

L'échange des données entre les différents utilisateurs se fait via un serveur web (BN Server Web Edition version 7 Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgique). Il permet la gestion simultanée de plusieurs réseaux de bases de données. Il gère actuellement l'EURL *Lm* DB et la base de l'UMT Armada.

L'Anses est administrateur de ces bases de données et est responsable de la validation des profils PFGE soumis dans l'EURL *Lm* DB. L'Anses

est également chargée de la conservation et de la pérennité des données soumises.

### **Qui peut soumettre des profils dans la base de données ?**

La soumission des profils moléculaires dans la base de l'UMT Armada s'effectue sur la base du volontariat. Les utilisateurs doivent avoir été au préalable: i) formés à la PFGE selon des protocoles standardisés (Roussel *et al.* 2014) et ii) évalués pour l'obtention de résultats satisfaisants lors de leur participation aux EILA que l'Ifip organise tous les deux ans. Par ailleurs, l'Ifip et l'Anses ont mis en place une charte d'utilisation de la base de données, dont les utilisateurs sont signataires. Cette charte décrit les conditions d'alimentation de la base de données par les utilisateurs et les conditions de mise à disposition des données de la base par l'Anses. La propriété et la confidentialité des données y sont également précisées.

Actuellement quatre ITAI (Ifip, Aerial, Actalia La Roche sur Foron et Adria Développement) et deux laboratoires Anses (Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Laboratoire de sécurité des aliments, sites de Boulogne sur mer et de Maisons-Alfort) peuvent utiliser la base de données de l'UMT Armada.

La base de données est suivie par un comité de pilotage composé par les membres fondateurs de l'UMT Armada (Anses, Ifip, Actalia La Roche sur Foron) et les administrateurs de la base de données.

### **Deux points clés : gestion des données sensibles et nomenclature**

Le numéro d'enregistrement de chaque souche est généré de façon aléatoire par le BN Server au moment de l'envoi des données (code d'identification unique constitué de 33 caractères alphabétiques) et sert d'identifiant dans la base de données. Les souches sont identifiées par deux autres champs: le premier contient l'identité de l'utilisateur, ayant envoyé les données, sous la forme d'un code numérique, le deuxième est le numéro de souche initialement attribué par l'utilisateur. Afin de garantir l'anonymat de l'utilisateur ayant fourni les données, les autres utilisateurs n'ont pas accès au code numérique qui permet son identification, ni au numéro de souche initial. De la même manière, les données géographiques peuvent être soumises mais ne sont pas visible aux autres utilisateurs. La nomenclature des pulsotypes est établie selon le format de pulsotype de PulseNet USA (Gerner-Smidt *et al.* 2006) identifié par l'étiquette « EU ». Par exemple, pour un profil *Ascl* « GX6A16.0001.EU », « GX6 » signifie *Lm*, « A16 » fait référence à l'enzyme de restriction *Ascl*, « 0001 » est le numéro du pulsotype et « EU » l'étiquette européenne. Chaque pulsotype est associé à des informations sur son occurrence dans l'ensemble de la base de données (ratio du nombre de souches appartenant au mêmes pulsotypes *Ascl* *Apal* sur la population totale de la base de données).

### **Une classification épidémiologique en accord avec l'Autorité européenne de sécurité des aliments (Efsa)**

Les données épidémiologiques associées sont enregistrées selon une classification détaillée (Figure 1), constituée de plusieurs champs consécutifs associés à des listes de choix prédéfinies dans le logiciel. La structure de cette classification épidémiologique repose sur l'ensemble de données requise par le système de déclaration épidémiologique de l'Efsa (EFSA, 2012). Cependant, pour simplifier l'utilisation, les données épidémiologiques contenues dans la base de données de l'UMT Armada ont été limitées à la classification des aliments généralement utilisée pour l'évaluation des risques liés à *Lm*.

Figure 1. Description standard des aliments utilisée dans la base de données de l'UMT Armada et correspondance automatique avec le schéma épidémiologique Foodex 2 (EFSA 2015).

Un système de conversion automatique des données épidémiologiques selon les descripteurs des échantillons utilisés au niveau européen par l'Efsa (Foodex2 (EFSA 2015) a été mis en place, en étroite collaboration avec l'Efsa. Ce système génère automatiquement un code et un descriptif standard à partir des descriptions de la base

de l'UMT Armada (par ex. A0EYM#F01.A057F Charcuterie meat products, SOURCE= Pig (live animals) correspond à ...). Ce système a été conçu pour pouvoir évoluer si de nouveaux termes sont ajoutés à la classification épidémiologique de la base de données de l'UMT Armada. Il anticipe la connexion de la base à la future base de données mise en place par l'Efsa et l'ECDC dont le pilote a été lancé en 2016 (Figure 1) (EFSA 2014).

### **Interconnexion des systèmes de base de données et validation des données de typage**

Les profils moléculaires des souches sont soumis par les membres de l'UMT Armada. Les profils sont ensuite envoyés vers une base de données européennes (EURL *Lm* DB jusqu'en 2017, puis sur la base de données Efsa par la suite (Encadré)). Ce système permet de regrouper les profils moléculaires disponibles au niveau national puis de les soumettre au niveau européen (Figure 2). La validation des profils de PFGE se fait au niveau européen, en commun avec les profils soumis par les autres LNR. Un système de synchronisation permet le retour des données de typage après validation (profils moléculaires modifiés, commentaires des évaluateurs et nomenclature). Toutes les modifications apportées par l'opérateur en charge de la validation et de l'intégration des profils dans la base de données sont tracées et peuvent être téléchargées par les utilisateurs pour ses propres profils. De ce fait, la base de l'UMT Armada télécharge régulièrement les données des profils validés qui ont été soumis à l'échelon européen. La synchronisation peut également se faire entre les profils présents dans la base des utilisateurs nationaux pour les profils soumis sur la base de données de l'UMT Armada (Figure 2).

### **Qu'est-ce qu'un curateur ?**

L'opérateur en charge de la validation de chaque nouveau profil moléculaire dans une base de données de typage est désigné par le terme « curateur » dérivé de l'anglais. Le curateur peut directement modifier les paramètres de traitement des images de gels ainsi que le marquage des bandes sur les profils. Chaque profil est analysé et identifié selon un protocole innovant d'interprétation des profils PFGE développé par le LRUE *Lm* (Felix *et al.* 2012), utilisé et valorisé par l'Efsa (Roussel *et al.* 2014). La curation se fait au moyen d'un système d'interprétation structuré en groupes d'identification. Les compétences techniques du curateur, en matière d'interprétation des gels PFGE, sont régulièrement mises à jour et vérifiées dans le cadre d'un processus d'évaluation interne qui détermine l'aptitude aux fonctions de curateur. Après traitement, le curateur note les profils comme suit: « confirmé » ou « non satisfaisant ». Dans le système actuel, l'interconnexion des bases de données permet une curation centralisée au niveau de l'EURL *Lm* DB, ce système sera transposé à la base de données Efsa en 2017.

### **La base de données, c'est aussi un outil consultable de façon illimitée**

Tous les profils PFGE disponibles dans la base de données de l'UMT Armada peuvent être comparés aux profils présents dans la les bases de données des utilisateurs. Pour un profil PFGE donné, les utilisateurs ont accès aux informations suivantes: 1) sérotype, 2) matrice alimentaire, 3) date du prélèvement et 4) fréquence d'apparition du profil dans la base de l'UMT Armada.

La base de données contient également un sous ensemble de 167 souches qui ont été typées à la fois par PFGE et par Multi-Locus Sequence Typing (MLST). Les données de MLST sont disponibles dans deux champs dédiés correspondant au CC et au ST.

Dans un travail récemment publié par l'Anses et le DTU food (Henri *et al.* 2016), nous avons obtenu une bonne congruence (capacité d'une méthode à prédire le résultat d'une autre méthode), sur un panel de 396 souches entre les groupes PFGE à 80 % de similarité (groupe construit par la méthode construction de dendrogrammes UPGMA sur la base de la similarité moyenne des profils de restriction *Ascl* et *Apal*, coefficient de Dice, tolérance et optimisation fixées à 1 %) et les

STs. La base de données de l'UMT Armada contient un sous ensemble de 167 souches qui ont été typées à la fois par PFGE et par Multi-Locus Sequence Typing (MLST). Les données de MLST sont disponibles dans deux champs dédiés correspondant au CC et au ST.

Ce dictionnaire permet dorénavant aux utilisateurs d'avoir une indication du CC et du ST de certaines de leurs souches et ainsi de relier leurs résultats de PFGE à des données de MLST.

## Résultats

### Quelques chiffres clefs : contenu actuel de la base de données de l'UMT Armada

La base de données de l'UMT Armada rassemble les profils PFGE combinés de 1602 souches générés avec les enzymes de restriction Ascl et ApaI. Parmi ces profils, 1136 ont été soumis au niveau européen. À ce niveau ils sont validés en qualité puis associés à un

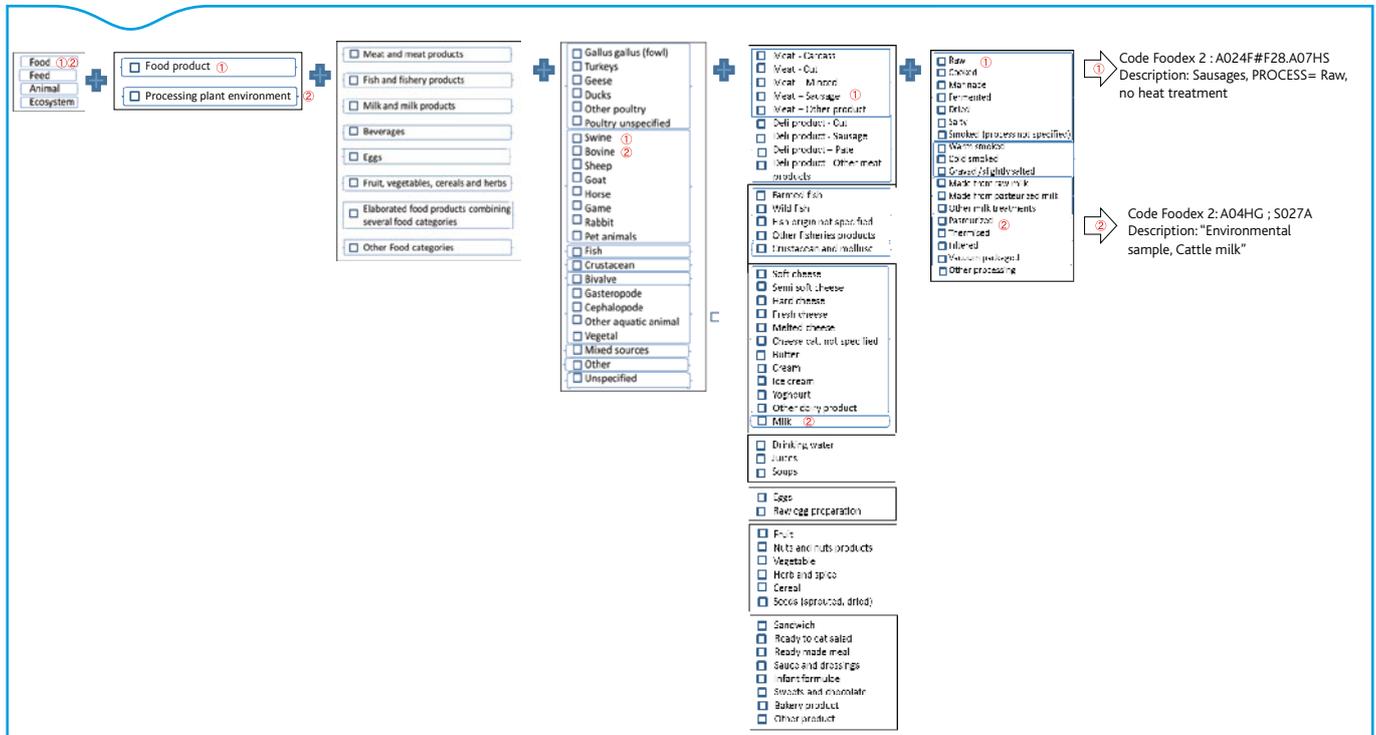


Figure 1. Description standard des aliments utilisée dans la base de données de l'UMT Armada et correspondance automatique avec le schéma épidémiologique Foodex 2 (Efsa 2015).

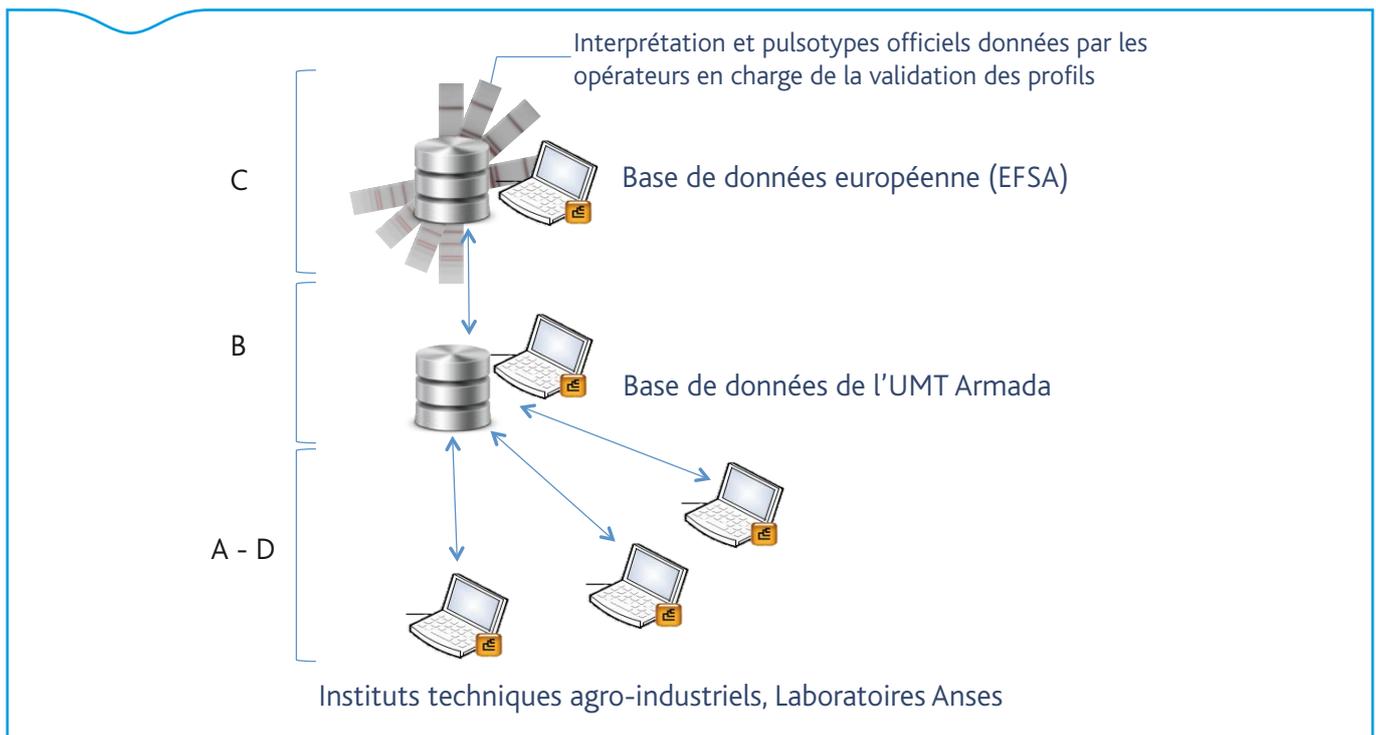


Figure 2. Flux des informations assurant (A) la soumission des profils moléculaires, (B) le partage des données entre les utilisateurs de la base de données de l'UMT Armada, (C) la curation des données au niveau Européen et (D) le retour des information de curation aux utilisateurs

numéro de pulsotype. Les autres profils sont en cours de validation. Parmi les profils déjà validés, les souches se répartissent par origine alimentaire: produits carnés (524 souches dont 241 isolées de produits à base de porc), produits laitiers (189 souches), produits de la pêche (179 souches), produits composés (produit élaboré combinant au moins deux produits d'origines alimentaires distinctes - 213 souches), végétaux (59 souches), prélèvements animaux et environnementaux non-alimentaires (45 souches).

Les profils validés rassemblent 93 profils soumis par l'IFIP, 1030 profils soumis par l'Anses et trois profils soumis par d'autres utilisateurs. Les profils de ces souches ont été subdivisés en groupes PFGE à 80 % de similarité. Les quatorze principaux groupes PFGE, représentent 86 % des profils soumis. Ils sont tous observés dans les quatre principales origines alimentaires. Ces groupes ont été associés à des complexes clonaux (Tableau 1).

## Discussions

### Exemple d'utilisation concrète de la base de l'UMT Armada

#### Comprendre la diversité des souches au sein d'une filière donnée.

L'UMT Armada a permis de renforcer les liens entre l'Ifip, le LSAL et le laboratoire Anses de Ploufragan-Plouzané. Ces trois entités ont récemment mis en commun leurs connaissances et leur savoir-faire afin de mieux apprécier la diversité des populations de souches de *Lm* isolées de la filière porc, de l'élevage au produit fini. Les données fournies par l'Anses de Ploufragan-Plouzané proviennent de deux études de terrains (Boscher *et al.* 2008, Kerouanton *et al.* 2011). Les données fournies par l'Ifip proviennent d'études spécifiques réalisées avec leurs partenaires professionnels. Les données fournies par le LSAL de Maisons-Alfort proviennent de plans de surveillance et de contrôle de la DGCCRF pour lesquels les souches ont été typées depuis 2005 au LNR, ainsi que des souches d'autocontrôles collectées entre 2003 et 2016. Grâce à la base de l'UMT Armada, il a été possible de rassembler, pour la première fois, les profils PFGE de plus de 900 souches circulant dans la filière porc, de l'élevage à la distribution. La mise en commun de ces souches issues de contexte d'isolement variés a permis d'étendre notre connaissance de la diversité génétique de *Lm* dans le temps et au niveau d'un nombre important de site de colonisation de cette bactérie dans la filière porc.

#### Exemple d'utilisation de la base de données de l'UMT Armada par les ITAI.

Pour un ITAI, la base de données de l'UMT Armada peut être utilisée au titre de la surveillance de *Lm* exercée par une entreprise cliente de l'institut. Cette surveillance peut s'exercer au sein de ses ateliers d'abattage, de découpe ou de fabrication de produits transformés. Cela permet à l'entreprise de caractériser la diversité des souches circulantes dans l'environnement de ses ateliers et de relier cette diversité à celle de souches isolées de matières premières ou de produits finis, afin de mieux tracer les origines de contamination des pièces de découpe/produits finis. L'utilisation de la base de données multi-filières permet à l'entreprise de visualiser la fréquence d'observation des profils PFGE de ses souches et de comparer cette fréquence à celle de sa filière d'activité mais aussi pour les autres filières alimentaires. Cela peut aussi lui permettre d'évaluer la dangerosité des souches qu'elle isole. L'hypervirulence de certains CC étant décrite, il est possible de prédire le CC à partir du profil PFGE et d'obtenir cette information.

La base de l'UMT Armada peut également être utilisée dans le cadre d'investigation d'incidents de contamination dans un site de production. Dans la mesure où l'entreprise exerce une surveillance de *Lm* dans ses ateliers au jour le jour, la mise en évidence d'un produit contaminé sur une ligne de production sera plus vite reliée à une origine de contamination (matériel, matières premières), en croisant les données de typage contenues dans la base. L'entreprise pourra alors maîtriser plus rapidement la dissémination de cette contamination et dans certains cas, pourra remonter au(x) fournisseur(s) de matières premières contaminées.

## Encadré. Le devenir l'EURL Lm DB

L'EURL *Lm* DB fait partie intégrante du dispositif de surveillance de *Listeria* au niveau national et européen. Elle est considérée aujourd'hui comme un outil de surveillance européen des clones circulants. Elle peut être sollicitée par les LNR européens pour orienter leurs investigations vers une filière alimentaire ou une catégorie de produit. Cependant elle n'a pas vocation à être utilisée en dehors d'un cas de suspicion d'épidémie internationale.

Le développement de cette base a permis au laboratoire et à l'Anses d'asseoir son expertise et de pouvoir se positionner auprès des acteurs clés impliqués dans la surveillance de *Lm* au niveau: i) européen, (ECDC, Efsa, SSI), ii) États-Unis (CDC) et iii) international (PulseNet international).

La base de données mise en place par l'Efsa et l'ECDC, actuellement en phase pilote, devrait être opérationnelle en 2017 (EFSA 2014). Elle contiendra tous les profils de souches alimentaires, animales et environnementales, ainsi que ceux des souches humaines de *Lm*, *Salmonella* et *VTEC*. Elle se substituera donc à l'EURL *Lm* DB pour la collecte des données de typage d'origine non humaine. Les utilisateurs de l'EURL *Lm* DB récupéreront les données relatives à leurs profils moléculaires par synchronisation. Ils installeront ensuite les fonctionnalités de la base de données EFSA-ECDC et soumettront les profils moléculaires de leurs souches. La base de données EFSA-ECDC a été développée pour conserver les mêmes fonctionnalités que l'EURL *Lm* DB, notamment en permettant la synchronisation des profils après curation. L'équipe de curation de l'EURL *Lm* DB fera partie intégrante du comité de pilotage de la base de données EFSA-ECDC et sera en charge de la curation des données relatives à *Lm* d'origine non humaine, dans ce nouveau dispositif.

Au niveau français, les autorités compétentes (DGAI, DGCCRF et DGS) doivent nommer le laboratoire responsable d'effectuer la soumission des données françaises de typage moléculaire dans la base de données EFSA-ECDC. Les LNR sont les laboratoires identifiés pour cette tâche. Une des perspectives possible est de permettre le regroupement et la soumission de toutes les données de typages nationales des utilisateurs de la base de l'UMT Armada.

**Tableau 1. Répartition des principaux groupes PFGE par rapport aux principales origines alimentaires des souches soumises sur la base de données de l'UMT Armada par l'Anses et l'Ifip**

Groupe PFGE*	Produits de la pêche	Produits laitiers	Produits composés	Produits carnés	Total	Complexes clonaux MLST deduis du PFGE
A	70	8	48	120	246	CC121
B	7	3	70	94	174	CC9
C	15	3	5	40	63	CC5
D	12	33	15	36	96	CC8
E	7	7	13	35	62	CC1
F	15	66	17	31	129	CC4
G	5	18	10	21	54	CC31
H	0	9	0	12	21	CC204
I	5	4	6	12	27	CC20
J	0	6	5	9	20	CC37
K	9	0	5	7	21	CC121
L	1	5	3	7	16	CC155
M	9	4	3	4	20	CC77 - CC54
N	11	2	8	4	25	CC14
<b>Total</b>	<b>166</b>	<b>168</b>	<b>208</b>	<b>432</b>	<b>974</b>	

\* groupe construit par UPGMA sur la base de la similarités moyenne des profils Ascl et Apal supérieure à 80 %, coefficient de Dice, tolérance et optimisation sont fixées à 1 %

Cette démarche peut également être utilisée pour évaluer l'efficacité des procédures de nettoyage et de désinfection des ateliers et des équipements sur les souches circulantes ou persistantes dans une entreprise.

## Perspectives

La surveillance de *Lm* exercée par les pouvoirs publics sur la chaîne alimentaire et dans la population française associe plusieurs acteurs dont les missions se complètent. L'utilisation de l'outil qu'est la base de l'UMT Armada par les acteurs pouvoirs publics ne pourra être faite que comme le prévoit l'article R201-11 du code rural. C'est-à-dire, lors d'une obligation de transmission d'échantillons ou de résultats d'analyse par les propriétaires et laboratoires d'analyses détenteurs de denrées alimentaires concernées par une enquête épidémiologique consécutive à une toxi-infection alimentaire. Il faudra par conséquent collaborer avec les producteurs et les ITAI qui leur sont associés pour avoir accès aux données soumises.

La base de l'UMT Armada a été conçue pour intégrer des types variés de données, notamment ceux issus des technologies de pointe telles que le séquençage de génome entier (WGS). Cette nouvelle technologie permet l'utilisation d'informations génétiques jusqu'alors inaccessibles. Elle augmente considérablement le pouvoir discriminant du typage. Elle permet également de s'affranchir d'artefacts génétiques inhérents aux méthodes basées sur l'analyse de profils moléculaires comme la PFGE. Le WGS promet donc une détection plus pertinente et plus poussée des épidémies. Plusieurs laboratoires européens et internationaux ont désormais recours aux techniques fondées sur le WGS pour le typage des souches cliniques et alimentaires. Les méthodologies utilisées diffèrent d'un laboratoire à l'autre (Moura *et al.* 2016; Hyden *et al.* 2016; Painset *et al.* 2016; Gerner-Smidt *et al.* 2016; Nielsen *et al.* 2016). Une limite actuelle du WGS est le traitement bio-informatique des données. Aux États-Unis où le typage WGS se généralise, les équipements informatiques possédant la puissance de calcul nécessaire à l'analyse des données WGS sont hébergés par le laboratoire responsable de la surveillance (Jackson *et al.* 2016; Allard *et al.* 2016). Cela permet une analyse harmonisée des données pour les laboratoires utilisateurs nationaux. En France, cette solution pourrait être proposée par l'Anses pour l'évolution de la base de données de l'UMT Armada.

## Conclusion

La base de données de l'UMT Armada a permis d'encourager l'utilisation du typage moléculaire de *Lm* dans le réseau français. Le projet de développement de cette base de données a été proposé comme un projet innovant créé par l'Anses en collaboration étroite avec les acteurs nationaux de la filière agro-alimentaire, en particulier l'Ifip. Ce projet a contribué à l'établissement de l'interconnexion entre la base de données de l'UMT Armada et la base de données en cours de développement par l'Efsa et l'ECDC.

Il a été convenu avec les utilisateurs de la base de données que la validation des profils soit faite au niveau européen, afin de permettre la remontée des données de typage dans le système européen de surveillance. Au niveau national, la base de données de l'UMT Armada ne pourra être sollicitée par l'administration que dans le cadre d'une demande officielle de transmission d'information par les producteurs comme précisé dans l'article R201-11 du code rural. Au-delà de l'harmonisation des méthodes de typage, l'utilisation conjointe d'un système de base de données permet de fédérer les acteurs de la surveillance de *Lm* au niveau national et européen.

## Références bibliographiques

Allard, M.W., Strain, E., Melka, D., Bunning, K., Musser, S.M., Brown, E.W., Timme, R. (2016). Practical value of Food Pathogen Traceability through building a Whole-Genome Sequencing Network and database. *J Clin Microbiol.* 54(8):1975-83.

EFSA (2015). The food classification and description system FoodEx2 (revision 2), supporting publication, ed. (EFSA).

EFSA (2014). Technical specifications for the pilot on the collection of data on molecular testing of food - borne pathogens from food, feed and animal samples, supporting publication, ed. (EFSA).

EFSA (2012). Manual for reporting of food-borne outbreaks in accordance with Directive 2003/99/EC from the year 2011, supporting publication, ed. (EFSA).

Félix, B., Brisabois, A., Dao, T.T., Lombard, B., Asséré, A., Roussel, S. (2012). The use of Pulsed Field Gel Electrophoresis in *Listeria monocytogenes* sub-typing: harmonization at the European Union level. In *Gel Electrophoresis: Principles and Basics*, INTECH, ed. (Rijeka, Croatia), 241-254.

Félix, B., Danan, C., Van Walle, I., Lailier, R., Texier, T., Lombard, B., Brisabois, A., Roussel, S. (2014). Building a molecular *Listeria monocytogenes* database to centralize and share PFGE typing data from food, environmental and animal strains throughout Europe. *J Microbiol Met* 104C, 1-8.

Felix, B., Roussel, S., Pot, B. (2015). Harmonization of PFGE profile analysis by using bioinformatics tools: example of the *Listeria monocytogenes* European Union Reference Laboratory network. *Methods Mol Biol* 1301, 9-28.

Félix, B., Michelon, D., Prenom, C., Robieu, E., Roussel, S., and Feurer, C. (2016). Une base de données de typage partagée pour la surveillance de *Listeria monocytogenes* Les Cahiers de l'IFIP 2, 1-6.

Gerner-Smidt, P., Hise, K., Kincaid, J., Hunter, S., Rolando, S., Hyytia-Trees, E., Ribot, E.M., and Swaminathan, B. (2006). PulseNet USA: a five-year update. *Foodborne Pathog Dis* 3, 9-19.

Gerner-Smidt, P. (2016). Whole genome sequencing-based surveillance of listeriosis in the United States. Paper presented at: ISOPOL XIX Problems of Listeriosis (Paris).

Hyden, P., Grim, C., Pietzka, A., Lennkh, A., Blaschitz, M., Indra, A., Sensen, C., Allerberger, F., Rattei, T., and Ruppitsch, W. (2016). Comparison of SNP based and cgMLST based typing of *Listeria monocytogenes* isolates from Seeliger's historical "Special *Listeria* Culture Collection". Paper presented at: ISOPOL XIX Problems of Listeriosis (Paris).

INVS Santé publique France, site web: <http://www.invs.sante.fr/fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Listeriose/Donnees-epidemiologiques>.

Jackson, B.R., Tarr, C., Strain, E., Jackson, K.A., Conrad, A., Carleton, H., Katz, L.S., Stroika, S., Gould, L.H., Mody, R.K., Silk B.J., Beal J., Chen Y., Timme R., Doyle M., Fields A., Wise M., Tillman G., Defibaugh-Chavez S., Kucerova Z., Sabol A., Roache K., Trees E., Simmons M., Wasilenko J., Kubota K., Pouseele H., Klimke W., Besser J., Brown E., Allard M., Gerner-Smidt P (2016). Implementation of Nationwide Real-time Whole-genome Sequencing to Enhance Listeriosis Outbreak Detection and Investigation. *Clin Infect Dis.* 63(3):380-6.

Michelon, D., FelixFélix, B., Vingadassalon, N., Mariet, J.F., Larsson, J.T., Moller-Nielsen, E., Roussel, S. 2015. PFGE standard operating procedures for *Listeria monocytogenes*: harmonizing the typing of food and clinical strains in Europe. *Foodborne Pathog Dis* 12, 244-252.

Moura, A., Leclercq, A., Bracq-Dieye, H., Thouvenot, P., Vales, G., Maury, M., De Valk, H., Criscuolo, A., Enouf, V., Brisse, S., et al. (2016). Genome-based surveillance of *Listeria monocytogenes* in France in 2015. Paper presented at: ISOPOL XIX Problems of Listeriosis (Paris).

Nielsen, E.M., Björkman, K., Sørensen, G., Jensen, A.K., Lassen, S.G., Müller, L., K. Kiil, K., Ethelberg, S., Baggesen, D.L. (2016). Whole-genome sequencing of *Listeria monocytogenes* enhances outbreak detection and linking to food sources. Paper presented at: ISOPOL XIX Problems of Listeriosis (Paris).

Painset, A., Swift, C., Amar, C., Grant, K., and Dallman, T.J. (2016). Whole Genome Sequencing for Routine Surveillance of *Listeria*. Paper presented at: ISOPOL XIX Problems of Listeriosis (Paris).

Roussel, S., Michelon, D., Lombard B., Lailier R. (2014). Molecular typing of *Listeria monocytogenes* strains isolated from food, feed and animals: state of play and standard operating procedures for pulsed field gel electrophoresis (PFGE) typing, profile interpretation and curation, supporting publication, ed. (EFSA).

Roussel, S., Leclercq, A., Santolini, J., Agbessi, A., Chenal-Francois, V., Lailier, R., Lecuit, M., Pihier, N., and Brisabois, A. (2012). Surveillance des *Listeria monocytogenes* dans les aliments. *Bull. Epid. Santé Anim. Alim.* 50, 51-56.

Roussel, S., Felix, B., Agbessi, A., Dao, T.T., Grout, J., Vingadasalon, N., Lombard, B., and Brisabois, A. (2014). Caractérisation moléculaire des souches de *Listeria monocytogenes* isolées en France, dans le cadre d'une enquête de prévalence communautaire ciblant certaines denrées alimentaires prêtes à être consommées. *Bull. Epid. Santé Anim. Alim.* 61, 5-8.

Tourdjman M., Laurent E., Leclercq A., 2014. Listériose humaine: une zoonose d'origine alimentaire. *Rev Franc Lab*, 464, 37-44.

# Surveillance de l'**histamine** dans les poissons réfrigérés à forte teneur en histidine en France (2010 à 2012 et 2015)

Laurent Guillier (1) (laurent.guillier@anses.fr), Isabelle Berta-Vanrullen (2), Laurence Rudloff (3), Diane Cuzzucoli (4), Mathilde Saussac (5), Guillaume Duflos (1)

(1) Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, Département des produits de la mer et département des contaminants microbiologiques, sites de Boulogne-sur-Mer et Maisons-Alfort, France

(2) Anses, Direction des laboratoires, Unité de coordination et d'animation de la surveillance, Maisons-Alfort, France

(3) Direction générale de l'Alimentation, Bureau des produits de la mer et d'eau douce, Paris, France

(4) Anses, Direction à l'évaluation des risques, Maisons-Alfort, France

(5) Anses, Direction des laboratoires, Unité de coordination et d'animation de la surveillance, Lyon, France

## Résumé

Les poissons frais à forte concentration en histidine sont les plus forts contributeurs au risque histaminique. Une surveillance de l'histamine dans les produits de la mer est organisée chaque année depuis 2005 par la direction générale de l'Alimentation. De 2010 à 2012, l'échantillonnage pour les poissons frais à forte concentration en histidine, établi à partir des données de consommation (notamment de la répartition saisonnière et régionale des consommations), a permis d'obtenir des résultats représentatifs de l'exposition des consommateurs. Les contaminations moyennes en histamine présentent peu de différences entre les différents poissons frais suivis. Les probabilités de dépasser les seuils réglementaires ou les concentrations qui ont un impact connu sur la santé des consommateurs apparaissent comme un meilleur indicateur de la qualité sanitaire des aliments. L'espèce qui contribue le plus à l'exposition des consommateurs, avec des concentrations élevées en histamine, est le thon réfrigéré. En outre, les résultats de 2015 établis à partir d'un échantillonnage réduit par catégorie de poissons frais montrent que l'incertitude sur les indicateurs devient plus importante et ne permet plus d'estimer d'éventuelles évolutions de l'exposition des consommateurs.

## Mots-clés

Amines biogènes, histamine, surveillance, poisson

## Abstract

**Results of histamine monitoring in refrigerated fish with high histidine concentrations in France (2010-2012 and 2015)**

Fresh fish with high concentrations of histidine are the main contributors to histamine risk. From 2010 to 2012, a monitoring plan for fresh fish with high concentrations of histidine was carried out. Sampling was established according to consumption data. It took into account both seasonal and regional distribution, in order to be representative of consumer exposure. Mean histamine concentrations showed little differences between sampled fresh fish. Probabilities of exceeding the regulatory limits or concentrations that have a known impact on consumer health appeared to be better indicators of food safety and quality. The species that most contributed to consumer exposure, with high concentrations of histamine, was chilled tuna. In addition, the 2015 results, obtained from a smaller sample, show there is greater uncertainty regarding the indicators, and possible changes in consumer exposure can thus no longer be estimated.

## Keywords

Biogenic amines, Histamine, Surveillance, Fish

## Contexte sanitaire

### L'histamine

L'histamine fait partie de la famille des amines biogènes, substances faisant partie du métabolisme chez l'Homme, les animaux et les végétaux. Dans le domaine alimentaire, elles correspondent plus particulièrement aux amines non volatiles qui proviennent de l'activité biologique de décarboxylation d'acides aminés par des enzymes microbiennes ou tissulaires. Plus de 200 espèces bactériennes ont la possibilité de produire l'histidine décarboxylase et peuvent produire de l'histamine en fonction des conditions environnementales.

L'histamine est un composé physiologiquement indispensable chez l'Homme. Toutefois, l'alimentation peut en apporter une quantité trop importante qui va perturber l'organisme et déclencher une intoxication sous la forme d'une réaction dite « pseudo-allergique ».

En France, il n'existe pas de déclaration obligatoire (DO) spécifique des intoxications reliées à l'histamine. La surveillance de ces intoxications est assurée par la déclaration des toxi-infections alimentaires collectives (DO Tiac). Le nombre de Tiac où l'histamine est impliquée de façon certaine est passé de neuf foyers au début des années 2000 (Delmas *et al.*, 2005) à plus de 27 foyers en 2006 (InVS, 2007). Plusieurs hypothèses, non vérifiées, ont été avancées pour expliquer cette augmentation: évolution sur les produits concernés (espèces de poissons consommées, zones géographiques de pêche...), évolution des pratiques de consommation, amélioration du fonctionnement du dispositif de déclaration (Afssa, 2009).

Les données les plus récentes font état d'un nombre de Tiac plus bas. En 2014, en France, l'histamine a été impliquée de manière certaine ou

fortement suspectée dans respectivement sept et 25 foyers de Tiac, touchant 36 et 115 personnes (InVS, 2014). L'histamine représente 3 % des foyers dont l'agent est confirmé (InVS, 2014). En 2014, au niveau européen, 74 Tiac impliquant l'histamine ont été rapportées (EFSA, ECDC, 2015).

## Contexte de surveillance de l'histamine dans les aliments en France

### Réglementation

L'histamine n'est réglementée que pour les produits de la pêche. Des critères de sécurité sont définis par le règlement (CE) N°1441/2007 de la Commission du 5 décembre 2007 modifiant le règlement (CE) N°2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. Ce règlement s'applique aux autocontrôles mis en place par les opérateurs pour vérifier la sécurité sanitaire des lots de produits qu'ils mettent sur le marché. Dans ce cadre, il est demandé de prélever neuf échantillons par lot ( $n = 9$ ); la moyenne des concentrations de ces neuf échantillons doit être inférieure ou égale à  $100 \text{ mg.kg}^{-1}$  (m), deux échantillons ( $c = 2$ ) au maximum peuvent avoir une concentration comprise entre 100 (m) et  $200 \text{ mg/kg}$  (M) mais aucun ne peut dépasser  $200 \text{ mg/kg}$  (un facteur 2 est autorisé sur ces valeurs pour les produits ayant subi une maturation enzymatique comme les anchois). Le règlement (UE) N°1019/2013 du 23 octobre 2013 apporte quelques précisions sur la possibilité de ne considérer qu'un seul échantillon ( $n = 1$ ) pour la vérification des aliments au stade de la vente au détail; la concentration en histamine ne doit pas

dépasser 200 mg/kg. Un critère de sécurité a été ajouté pour les sauces de poisson produites par fermentation à base de produits de la pêche ( $n = 1$ ;  $m = M = 400$  mg/kg) (UE, 2013).

### Principaux aliments concernés par l'histamine

On retrouve l'histamine dans les produits alimentaires fermentés comme le vin, la bière, la choucroute, le fromage (roquefort, gruyère, cheddar, gouda, edam, emmental, gorgonzola), la charcuterie (salami, chorizo, saucisse sèche), le chocolat et les gibiers faisandés, mais également dans des produits non fermentés comme les épinards, et surtout chez certains poissons (Suzzi et Gardini 2003; Lavizzari et al., 2007).

Toutefois, la grande majorité des Tiac associées à l'histamine (plus de 70 %) est associée aux poissons et aux produits de la mer (FAO/OMS, 2013). Seules certaines espèces de poissons peuvent contenir une grande quantité d'histamine, du fait de leur richesse en histidine. Les poissons les plus impliqués dans les cas d'intoxications appartiennent à la famille des Scombridés. On trouve d'ailleurs la dénomination « Scombroïd Fish Poisoning » pour qualifier l'intoxication à l'histamine dans les produits de la mer. D'autres familles de poissons sont reconnues à risque (Tableau 1, Guillier et al., 2011).

### Plans de surveillance

Dans le contexte d'augmentation du nombre de Tiac entre 2000 et 2006, la DGAL a saisi l'Afssa en 2008 pour améliorer un plan de surveillance organisé chaque année depuis 2005. Un avis a été rendu (Afssa, 2009) et le plan de surveillance DGAL sur l'histamine a été revu. Le plan proposé (et mis en œuvre sur les années 2010 à 2012) permet d'apprécier directement l'exposition des consommateurs à l'histamine. Ce plan s'appuie sur les niveaux de risque des différentes catégories de produits de la mer associés aux espèces à forte concentration en histidine. La démarche globale est décrite en détail dans l'avis de l'Afssa de 2009 et un article scientifique (Guillier et al., 2011). Le plan se concentre sur les catégories de produits à risque (les poissons frais). Pour chacune des catégories, le plan d'échantillonnage a été ensuite défini sur la base des données de consommation afin d'assurer une représentativité spatiale et saisonnière. Les échantillons ont été répartis proportionnellement à ces deux critères entre huit grandes zones (Nord, Est, région parisienne, Ouest, Centre-Ouest, Sud-Ouest, Centre-Est, Sud-Est) et six périodes de l'année (janvier-février, mars-avril...). Les prélèvements ont été faits au stade de la distribution (GMS, poissonneries) et de la restauration, en respectant une répartition proportionnelle aux quantités relatives de poisson associées aux lieux de consommation (domicile et hors foyer).

Le plan de surveillance réalisé en 2015 visait le même objectif, mais il n'a pas suivi les mêmes contraintes concernant la répartition spatiale et temporelle des prélèvements. Les 212 prélèvements de poissons frais ont été programmés au stade de la remise directe au consommateur. Le nombre d'échantillons à prélever par région a été établi proportionnellement à la taille de la population humaine. Les prélèvements ont été réalisés sur des lots différents pour garantir la représentativité des résultats. La variabilité des niveaux de contamination n'a pas pu être estimée pour trois catégories (hareng, sardine et saumon frais) en 2015 car les niveaux de contamination étaient inférieurs à la limite de quantification.

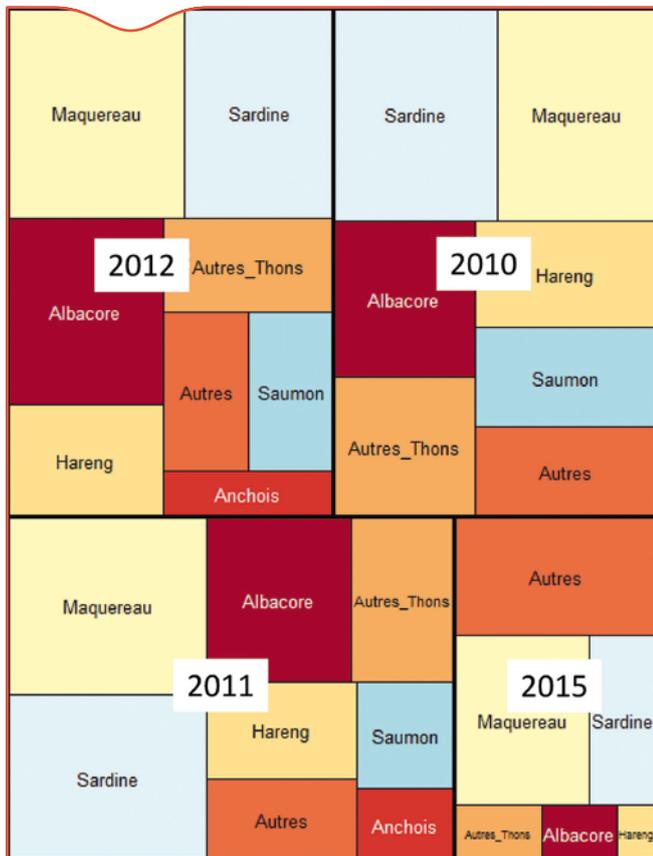
## Données utilisées et méthodes de caractérisation des données de contamination des produits par l'histamine

### Source des données

L'extraction des données de contamination des produits de la pêche par l'histamine transmises par la DGAL a été faite à partir de la base Access mutualisant les données publiques de surveillance développée dans le cadre du prototypage du projet de section sanitaire de l'Observatoire de

**Tableau 1.** Ensemble des espèces de poissons potentiellement à risque par rapport au danger histamine (d'après Afssa (2009) et Guillier et al. (2011)). En rouge foncé, les catégories de poissons prélevés dans le plan de surveillance

Famille	Espèce	Nom français
Arripidae	<i>Arripis trutta</i>	Loup de mer
Amodytidae	<i>Ammodytes tobianus</i>	Langon
Belonidae	<i>Belone belone</i>	Orphie, aiguille
Carangidae	<i>Seriola dumerili</i> (Risso)	Sériole, limon
	<i>Seriola lalandii</i>	
	<i>Caranx</i> spp.	Carangue
	<i>Trachurus</i> spp.	Chinchard
Coryphaenidae	<i>Coryphaena hippirus</i>	Coryphène, mahimahi
Clupeidae	<i>Sardinella sirm</i>	Anchois de Norvège, sprat
	<i>Amblygaster sirm</i>	Sardinelle tachetée
	<i>Sardinops</i> sp.	Pilchard
	<i>Sardina pilchardus</i>	Sardine
	<i>Clupea harengus</i>	Hareng
	<i>Sprattus</i> spp.	Sprat
	<i>Harregula</i> spp.	Sardine
	<i>Alosa pseudoharengus</i>	Gaspereau
Engraulidae	<i>Spratelloides gracilis</i>	Sprat
	<i>Anchoa</i> spp.	Anchois
	<i>Anchoviella</i> spp.	
	<i>Engraulis</i> spp.	
<i>Cetengraulis mysticetus</i>		
Gempylidae	<i>Stolephorus</i> spp.	
	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	Escolar
Istiophoridae	<i>Rivetus pretiosus</i>	
	<i>Makaira (Tetrapterus) audax</i> (poey)	Marlin
Lutjanidae	<i>Istiophorus</i> spp.	Voilier
	<i>Aphareus</i> spp.	Vivaneau (thazar, mékoua (Nouvelle Calédonie), job (Réunion))
	<i>Aprium virescens</i>	
<i>Pristipomoides</i> spp.		
Pomatomidae	<i>Pomatomus saltatrix</i>	Tassergal, poisson-serre
Sciaenidae	<i>Seriphus politus</i>	Courbine reine
Scomberesocidae	<i>Cololabis saira</i>	Balaou japonais, scombérésoco, samana
Scombridae	<i>Auxis thazard</i>	Auxide, bonitou
	<i>Acanthocybium solandri</i>	Thazard noir
	<i>Euthynnus alleratur</i>	Thonine
	<i>Katsowonus pelamis</i>	Listao, bonite à ventre rayée
	<i>Sarda sarda</i>	Bonite à dos rayé, bonite, sarde
	<i>Scomber japonicus</i>	Maquereau espagnol
	<i>Scomber scombrus</i>	Maquereau
	<i>Scomberomorus cavalla</i>	Thazard barré, sierra
	<i>Scomberomorus maculatus</i>	Thazard tacheté
	<i>Scomberomorus. regalis</i>	Thazard franc
	<i>Scomberomorus. brasiliensis</i>	Thazard moucheté
	<i>Thunnus alalunga</i>	Germon, thon blanc
	<i>Thunnus. albacares</i>	Albacore
	<i>Thunnus. obesus</i>	Patudo
<i>Thunnus. thynnus</i>	Thon rouge	
<i>Thunnus. atlanticus</i>	Thon à nageoires noires	
Salmonidae	<i>Salmo salar</i> , <i>Oncorhynchus</i> sp.	Saumon
Serranidae	<i>Epinephelus</i> sp.	Mérou
Xiphiidae	<i>Xiphias gladius</i>	Espadon



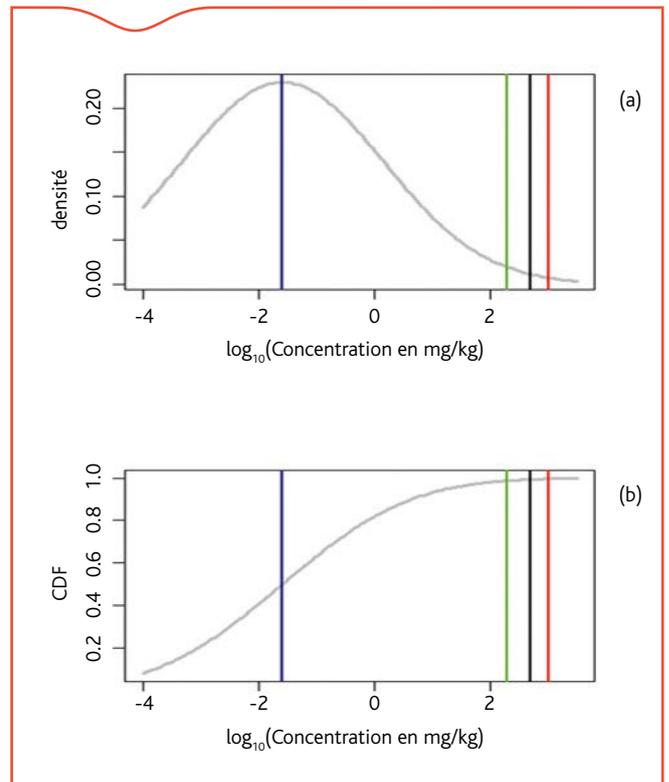
**Figure 1.** Représentation hiérarchique de la répartition des 1686 données du plan de surveillance des poissons frais réfrigérés sur les années 2010, 2011, 2012 et 2015. Les surfaces sont proportionnelles à la répartition de l'échantillonnage

l'alimentation (Ossa). Ces données sont issues des plans de surveillance de la DGAL couvrant les années de 2010 à 2012, ainsi que 2015. Afin de correspondre aux exigences de format et de nomenclature de la base de données européenne, les données concernées ont été recodées par l'Anses selon le « Standard Sample Description ver.2.0 » (SSD2) et le système de classification et de description des aliments Foodex2. La Figure 1 représente la répartition des 1686 données de concentration en histamine en fonction des quatre années (2010, 2011, 2012 et 2015) et des différentes catégories de poissons frais. Seules les données relatives au thon (albacore et autres espèces du genre *Thunnus*), au maquereau, à la sardine, au hareng et au saumon sont exploitées ici. La catégorie « Autres » regroupe des données relatives à de nombreuses espèces de poissons (par ex. chinchard, mérrou, espadon...) pour lesquelles les effectifs ne permettent pas une analyse avec une puissance statistique suffisante. Cette possibilité de suivre d'autres espèces que celles les plus consommées avait été proposée dans l'avis de l'Afssa en 2009, afin de laisser l'opportunité, dans le cadre du plan de surveillance, de s'intéresser à des espèces ou des origines de produits de la mer faisant l'objet d'une surveillance événementielle.

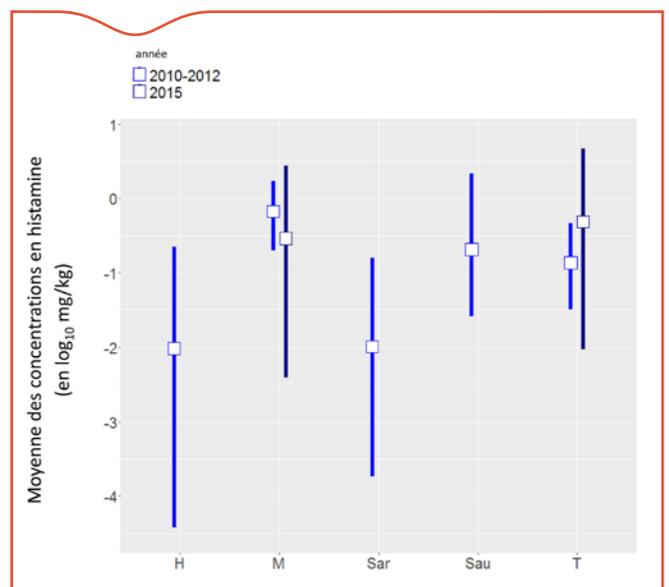
### Méthodes statistiques

La plupart des résultats des plans de surveillance de l'histamine étant sous la limite de la quantification, le recours aux statistiques descriptives (moyenne, médiane...) présente un intérêt limité voire conduirait à des biais si les données en-dessous de ce seuil étaient arbitrairement fixées à la valeur de la limite de quantification (ou LOQ) de la méthode. Dans ce contexte, la modélisation des données est un réel avantage pour améliorer le processus global de description d'une distribution empirique. La méthodologie appliquée ici pour l'histamine est directement inspirée des méthodologies appliquées en microbiologie (Busschaert *et al.*, 2010; Pouillot et Delignette-Muller, 2010).

L'autre objectif méthodologique est de caractériser l'incertitude des lois de distribution utilisées pour améliorer la connaissance de la variabilité



**Figure 2.** Illustration d'une distribution log-normale utilisée pour caractériser les données de concentration en histamine du plan de surveillance. (a) Densité, (b) Distribution cumulative (CDF). Légende des quantiles utilisés pour caractériser la distribution : bleu=médiane/moyenne, vert=200 mg/kg, noir=500 mg/kg, rouge=1 000 mg/kg



**Figure 3.** Concentration moyenne en  $\log_{10}$ (mg/kg) en histamine dans les différents produits de la mer suivis dans les plans de surveillance (H=hareng, M=Maquereau, Sar=Sardine, Sau=Saumon, T=thon). Valeurs les plus probables (points), intervalles de crédibilité à 95 % de la concentration moyenne (barres d'erreur)

de contamination des produits. Plusieurs méthodes d'appréciation de l'incertitude sont disponibles comme le bootstrap (technique de ré-échantillonnage) ou l'approche bayésienne (Commeau *et al.*, 2012). Le bootstrap a été retenu pour caractériser l'incertitude sur les statistiques descriptives issues des lois de distribution.

Les fonctions statistiques utilisées pour ajuster la loi log-normale sur les données censurées et pour caractériser l'incertitude sur les quantiles d'intérêt sont celles du package « fitdistrplus » de R (Delignette-Muller *et al.*, 2015). La Figure 2 représente les valeurs estimées à partir

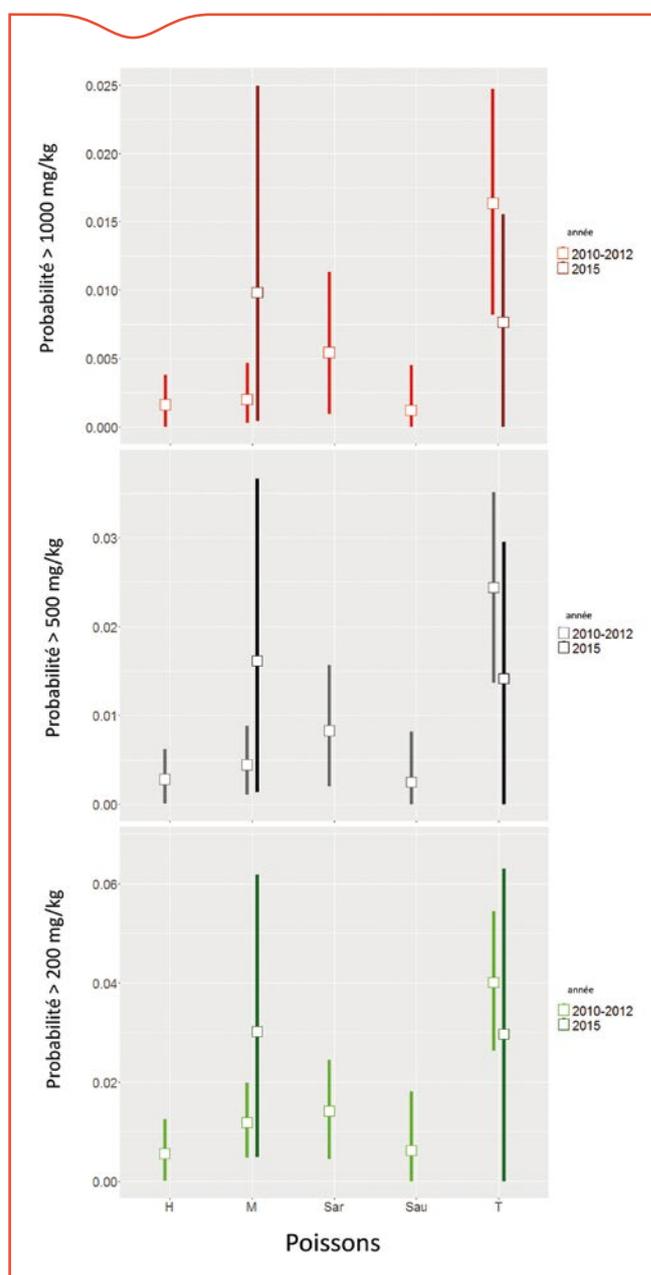
des données de surveillance. La concentration moyenne ainsi que la probabilité de dépasser les seuils de respectivement 200, 500 et 1000 mg/kg ont été estimées.

## Résultats du plan de surveillance et discussion

Les niveaux de contamination n'étant pas significativement différents entre les quatre années, ils seront présentés de façon globale. La Figure 3 présente les niveaux moyens de contamination pour les différentes catégories de poisson frais. Pour les années 2010 à 2012, les contaminations moyennes étaient respectivement de 0,01, 0,76, 0,01, 0,18, et 0,15 mg/kg pour le hareng, le maquereau, la sardine, le saumon et le thon. L'incertitude associée à ces estimations confirme que les différences entre les poissons en termes de contamination moyenne sont faibles et généralement non significatives (seule la contamination moyenne du maquereau se révèle être significativement supérieure à celle des sardines). La plus faible quantité de données sur l'année 2015 a pour conséquence d'augmenter l'incertitude autour des résultats. Cette plus grande incertitude ne permet pas de conclure à une évolution des contaminations entre 2012 et 2015. La Figure 4 montre la probabilité d'atteindre des niveaux élevés (en relation avec le seuil réglementaire et les seuils associés à une forte probabilité de déclencher une intoxication) pour chacun des poissons frais. L'analyse des données montre que la probabilité d'atteindre des niveaux élevés de contamination est plus importante pour le thon que pour les autres catégories de poissons à forte concentration en histidine. Comme pour les contaminations moyennes, le faible nombre de prélèvements pour 2015 ne permet pas de conclure sur une éventuelle évolution des probabilités de contaminations élevées.

Les niveaux de contamination observés dans les poissons frais au stade de la consommation en France sont du même ordre de grandeur que ceux recensés dans une synthèse réalisée au niveau international dans un rapport FAO/WHO (2013). À titre d'exemple, aux Pays-Bas, la concentration moyenne en histamine dans le thon frais était de 14 mg/kg en 2010 et la probabilité de dépasser 200 mg/kg était de 2,9 %. D'autres publications plus récentes font état de probabilités de dépasser le seuil de 200 mg/kg inférieures à 3,3 % (Michalski, 2016; Petrovic *et al.*, 2016). Toutefois, les valeurs de contaminations médianes, ou les probabilités de dépassement de valeurs limites, ne sont représentatives que des aliments analysés. Comme il est presque impossible, à partir des rapports d'études, de savoir si l'échantillonnage est représentatif du profil de consommation du pays, les résultats ne peuvent être comparés entre les pays (FAO/WHO, 2013).

Le choix de consacrer un certain nombre d'échantillons au saumon frais avait été proposé dans l'avis de l'Afssa de 2010. Des doutes restaient à lever sur l'implication potentielle de ce poisson dans les cas d'intoxication à l'histamine (Emborg *et al.*, 2002). L'analyse des données des plans 2010 à 2012 montre que les niveaux en histamine peuvent être importants dans ce type de poisson. Les données des plans de surveillance obtenues pour le saumon confirment les connaissances existantes sur la possibilité de contamination de ce poisson par l'histamine (Løvdaal, 2015). Les contaminations médianes estimées pour le saumon dans le cadre de ces plans de surveillance sont robustes. La probabilité de dépasser des niveaux de concentration plus élevés est beaucoup plus incertaine. Contrairement aux autres poissons à forte concentration en histidine, il n'est pas certain, pour le saumon, que la croissance microbienne et/ou la concentration en histidine initiale permettent d'atteindre des niveaux élevés de contamination. En d'autres termes, la loi de distribution utilisée permet d'envisager des niveaux élevés alors que la contamination en histamine dans les faits ne dépasse peut-être pas un certain niveau. Les concentrations maximales observées pour les poissons à forte concentration en histidine dépassent 2000 mg/kg. À notre connaissance, ce niveau de contamination n'a jamais été observé pour le saumon.



**Figure 4.** Probabilité de dépasser des concentrations en histamine dans les différents produits de la mer de (a) 1000 mg/kg, (b) 500 mg/kg et (c) 200 mg/kg (H=hareng, M=Maquereau, Sar=Sardine, Sau=Saumon, T=thon). Valeurs les plus probables (points), intervalles de crédibilité à 95 % de la concentration moyenne (barres d'erreur)

Avec un plan d'échantillonnage qui n'est pas représentatif de la consommation, il est nécessaire de redresser les données afin d'estimer l'exposition. Le redressement statistique consiste, à partir des données du plan d'échantillonnage, à attribuer à chaque échantillon un « poids » particulier en fonction de la catégorie à laquelle il appartient. La pondération est fonction de la consommation de chaque poisson; ce poids est supérieur à 1 si sa catégorie n'est pas assez représentée par rapport à sa part de consommation et il est inférieur à 1 si celle-ci est surreprésentée. Toutefois, il est difficile de redresser les données si le plan comporte de nombreuses données inférieures au seuil de quantification (Williams et Ebel, 2014). Dans le cas présent, les données n'ont pas été redressées puisque pour chacune des catégories de produits, les échantillons dont elles sont issues étaient directement représentatifs des données de consommation (Guillier *et al.*, 2011). Comme la plupart des données analysées montrent une très forte proportion de données inférieures au seuil de quantification, il conviendra donc pour les futurs plans de surveillance de continuer d'utiliser un échantillonnage représentatif de l'exposition. Les plans 2010 à 2012 présentaient un échantillonnage représentatif de la

saisonnalité des consommations ainsi que de la répartition régionale des consommations (Afssa, 2010). L'analyse des données montre que certains facteurs influent peu sur les niveaux de contamination. Il n'apparaît donc pas nécessaire d'indexer strictement la répartition des échantillons sur la saisonnalité des consommations ou sur l'ensemble des régions françaises.

L'analyse des données permet une classification des poissons les plus contributeurs à l'exposition à l'histamine. Le thon, compte tenu des niveaux de contamination, apparaît comme l'espèce la plus contributrice. L'appréciation de l'exposition à l'histamine réalisée à travers les plans de surveillance ouvre la voie pour l'attribution des cas d'intoxication histaminique en France aux différentes catégories de poisson frais. Le couplage des estimations d'exposition à l'histamine (combinant les données de concentration des plans de surveillance aux données de consommation) avec sa relation dose-réponse (permettant de calculer la probabilité d'observer un effet chez le consommateur en fonction de la dose de danger ingérée), incluant d'éventuelles différences selon la sensibilité spécifique de sous-populations de consommateurs, permettrait d'apprécier le risque sous la forme d'un nombre relatif ou absolu de cas humains liés aux différentes sources.

Le rapport FAO/OMS (2013) a soulevé la question du rôle des autres amines biogènes (effet « potentialisateur » possible ou pas). Les réponses à ces questions nécessitent l'acquisition de données. Aussi, il est demandé que les laboratoires agréés du réseau du laboratoire national de référence Histamine transmettent non seulement les concentrations en histamine, mais également les concentrations pour d'autres amines biogènes (putrescine, cadavérine et tyramine). Ces données sont essentielles pour comprendre les corrélations potentielles entre ces amines et permettront d'évaluer l'exposition des consommateurs.

## Conclusion

Les plans de surveillance de l'histamine et des amines biogènes à venir continueront à suivre l'exposition des consommateurs en suivant la méthodologie proposée dans l'avis Afssa de 2009. À des fins de suivi de l'évolution de cette exposition, le plan d'échantillonnage inspiré de celui suivi sur les années 2010-2012 sera repris en conservant les mêmes catégories de poissons. Les résultats obtenus en 2015 avec un plan de surveillance réduit par rapport à 2012 indiquent qu'il est préférable de conserver la seule catégorie de poisson frais par an. Ceci permettra de garder une puissance statistique suffisante pour conclure sur l'évolution de l'exposition des consommateurs français à l'histamine provenant des poissons frais.

## Références bibliographiques

Afssa (2009). Avis sur les propositions d'amélioration du plan de surveillance histamine. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2008sa0310.pdf>.

Busschaert, P., Geeraerd, A., Uyttendaele, M., Van Impe, J. (2010). Estimating distributions out of qualitative and (semi) quantitative microbiological contamination data for use in risk assessment, *Int J Food Microbiol*, 138: 260-269.

CE (2005). Règlement (CE) n°2073/2005 de la Commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. JO UE 22/12/05, L 338:1.

CE (2007). Règlement (CE) n°1441/2007 de la Commission du 5 décembre 2007 modifiant le règlement (CE) n°2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. JO UE 07/12/07, L 322:12.

Commeau, N., Parent, E., Delignette-Muller, M.-L., Cornu, M. (2012). Fitting a lognormal distribution to enumeration and absence/presence data, *Int J Food Microbiol*, 155: 146-152.

Emborg, J., Laursen, B.G., Rathjen, T., & Dalgaard, P. (2002). Microbial spoilage and formation of biogenic amines in fresh and thawed modified atmosphere-packed salmon (*Salmo salar*) at 2°C. *J Appl Microbiol*, 92: 790-799.

Delignette-Muller, M.L., Dutang, C. (2015). *fitdistrplus: An R Package for Fitting Distributions*, *J Stat Soft*, vol. 64 1-34.

Delmas, G., Le Querrec, F., Weill, F. X., Gally, A., Espié, E., Haeghebaert, S., Vaillant, V. (2005). Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001-2003. Rapport INVs. <http://invs.santepubliquefrance.fr//Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-declaration-obligatoire/Toxi-infections-alimentaires-collectives/Publications/Articles>.

EFSA, ECDC (2015). The European Union Abstract report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. *EFSA J* 13(12):4329. doi:10.2903/j.efsa.2015.4329.

FAO/OMS (2013). Joint FAO/WHO Expert Meeting on the Public Health Risks of Histamine and Other Biogenic Amines from Fish and Fishery Products. ISBN: 9789240691919. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/89216/1/9789240691919\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/89216/1/9789240691919_eng.pdf).

Guillier, L., Thébault, A., Gauchard, F., Pommepuy, M., Guignard, A. & Malle, P. (2011). A risk-based sampling plan for monitoring of histamine in fish products. *J Food Prot*, 74(2) : 302-310.

Hungerford, J. M. (2010). Scombroid poisoning: A review. *Toxicol*, 56(2): 231-243.

INVS (2007). Données relatives aux Toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) déclarées en France en 2006 et 2007. Disponible en ligne ([http://www.invs.sante.fr/surveillance/tiac/donnees\\_2007/Tiac\\_donnes\\_2006\\_2007.pdf](http://www.invs.sante.fr/surveillance/tiac/donnees_2007/Tiac_donnes_2006_2007.pdf)).

INVS (2014). Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives. Données de la déclaration obligatoire, 2012. Disponible en ligne sur: <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-declaration-obligatoire/Toxi-infections-alimentaires-collectives/Donnees-epidemiologiques>.

Lavizzari, T., Veciana-Nogués, M. T., Weingart, O., Bover-Cid, S., Mariné-Font, A., & Vidal-Carou, M. C. (2007). Occurrence of biogenic amines and polyamines in spinach and changes during storage under refrigeration. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(23), 9514-9519. Løvdal, T. (2015). The microbiology of cold smoked salmon. *Food Control*, 54, 360-373.

Michalski, M. (2016). The Content of Histamine in Fresh and Smoked Fish Commercially Available in Poland. In IAFP's 12th European Symposium on Food Safety.

Petrovic, J., Babić, J., Jaksic, S., Kartalovic, B., Ljubojevic, D., & Cirkovic, M. (2016). Fish Product-Borne Histamine Intoxication Outbreak and Survey of Imported Fish and Fish Products in Serbia. *J Food Prot*, 79(1), 90-94

Suzzi, G., Gardini, F. (2003). Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *Int J Microbiol*, 88(1) : 41-54.

Williams, M.S., Ebel, E.D. (2014). Fitting a distribution to censored contamination data using Markov Chain Monte Carlo methods and samples selected with unequal probabilities. *Env Sci Technol*, 48: 13316-13322.

# Place des alertes alimentaires et des toxi-infections alimentaires collectives dans la surveillance de la chaîne alimentaire

Anne Morand (1) (anne.morand@haute-corse.gouv.fr), Marie-Pierre Donguy (1), Nelly Fournet (2)

(1) Direction générale de l'Alimentation, Mission des alertes sanitaires, Paris, France

(2) Santé publique France, Direction des maladies infectieuses, Saint-Maurice, France

## Résumé

Cet article présente succinctement les deux dispositifs nationaux de gestion des alertes alimentaires et de surveillance des toxi-infections alimentaires collectives (Tiac), ainsi qu'un bilan annuel spécifique de chaque dispositif. Les systèmes de gestion des alertes alimentaires et de surveillance des Tiac sont présentés comme complémentaires aux dispositifs de surveillance des aliments pour optimiser la sécurité des consommateurs.

## Mots-clés

Toxi-infection alimentaire collective, alerte, aliment

## Abstract

### *The role of food alerts and food-borne outbreaks in food chain surveillance*

*This article briefly presents the two French systems for food alert management and food-borne outbreak surveillance as well as a specific annual report for both systems. The food alert management system and food-borne outbreak surveillance are considered complementary to optimise consumer safety.*

## Keywords

*Food-borne outbreaks, Alert, Food*

Le système de gestion des alertes alimentaires et le dispositif de surveillance des toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) sont deux dispositifs mis en place au niveau national, dont l'objectif est avant tout opérationnel et vise à identifier des mauvaises pratiques, des aliments et des produits à risque afin de limiter l'exposition des consommateurs à un aliment dangereux et/ou à éviter de nouveaux cas humains.

## Gestion des alertes

La gestion harmonisée des alertes alimentaires au niveau national est assurée par la Mission des urgences sanitaires (MUS) de la DGAL, qui réceptionne et s'assure de la gestion proportionnée et adaptée des alertes sur l'ensemble du territoire (alertes émanant du territoire national ou d'autres pays).

Une alerte d'origine alimentaire (« alerte produit ») se définit par toute information en lien avec une origine alimentaire dont l'absence de traitement peut conduire à une situation mettant en jeu la sécurité des consommateurs. La détection d'une denrée « dangereuse », au sens de l'article 14 du règlement (CE) n°178/2002, peut être mise en évidence, soit par les exploitants dans le cadre de leurs autocontrôles, soit par les administrations nationales ou d'autres pays (informations du système d'alerte rapide européen pour l'alimentation humaine et animale (Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF) dans le cadre de contrôles officiels, soit par les consommateurs eux-mêmes. La connaissance d'une alerte par l'une des parties (exploitants, organisations professionnelles ou administration) conduit à en informer l'autre partie.

## Encadré. Définitions

**Retrait (article 2, point h de la directive 2001/95/UE) :** « Toute mesure visant à empêcher la distribution et l'exposition à la vente d'un produit ainsi que son offre au consommateur ». Les opérations de retrait relèvent de la responsabilité du professionnel détenteur de ces produits, à toutes les étapes de la chaîne alimentaire.

**Rappel (article 2, point g de la directive 2001/95/UE) :** « Toute mesure visant à obtenir le retour d'un produit dangereux que le producteur ou le distributeur a déjà fourni au consommateur ou mis à sa disposition ». Le rappel des produits, c'est-à-dire l'information des consommateurs, est décidé en fonction de l'importance du risque potentiel ou avéré pour la santé humaine afin de faire cesser le plus rapidement possible l'exposition des consommateurs au danger et de les informer des risques encourus en cas de consommation du produit incriminé.

L'évaluation de la situation est réalisée en premier lieu par l'opérateur qui a mis le produit sur le marché dès qu'il a connaissance de la non-conformité. Conformément au règlement (CE) n°178/2002, dès lors que le produit est mis sur le marché, le professionnel doit mettre en place les actions visant à protéger le consommateur (retrait et rappel du produit, cf. encadré), à informer l'autorité compétente locale et à assurer le rétablissement des conditions normales de fabrication. Après réception de l'information par les services déconcentrés, le signalement est vérifié, puis la situation est évaluée en termes de dangerosité afin de déterminer si le signalement doit être qualifié en alerte nationale ou locale et si les mesures de gestion mises en place par le professionnel sont adaptées et proportionnées.

## Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives

La surveillance nationale des Tiac est assurée par Santé publique France, en lien avec les agences régionales de santé (ARS) et en collaboration avec la DGAL et les directions départementales en charge de la protection des populations (DDecPP), via un système de déclaration obligatoire (DO)

La déclaration d'une Tiac auprès de l'ARS et/ou de la DDecPP est obligatoire pour les médecins et les responsables d'établissements de restauration collective ou à caractère social. La déclaration peut également être faite par des consommateurs ou d'autres personnes qui ont connaissance d'un épisode pouvant être une Tiac.

Un foyer de Tiac est défini par l'apparition d'au moins deux cas similaires d'une symptomatologie en général gastro-intestinale, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire.

On distingue les foyers de Tiac :

- « confirmés » : lorsque un agent pathogène (bactérie, virus ou parasite) est isolé dans un prélèvement d'origine humaine (sang/selles), dans des restes alimentaires, des repas témoins ou dans l'environnement de l'aliment (par exemple, des zones de pêche ou des prélèvements de surface),
- « suspectés » : lorsque un agent pathogène n'a pas été confirmé ; il est alors suspecté à l'aide d'un algorithme d'orientation étiologique prenant en compte les signes cliniques, la durée médiane d'incubation et le type d'aliments consommés,
- « d'étiologie inconnue » : lorsque un agent pathogène n'a pu être ni confirmé ni suspecté.

Les signalements des Tiac aux ARS et aux DDecPP permettent de mener des investigations afin d'identifier les aliments en cause, la source de contamination, d'éventuelles mauvaises pratiques d'hygiène, de préparation ou de conservation des aliments. L'objectif ultime est de prendre les mesures nécessaires (mesures correctives ou fermetures de restaurants ou de zones, retraits, rappels, ) afin d'éviter la survenue de nouvelles Tiac ou de nouveaux malades.

## Bilan

### Bilan des « alertes produits »

Ce bilan ne constitue pas un inventaire exhaustif de toutes les non-conformités détectées sur le territoire national par les opérateurs ou par les DDecPP, mais seulement celles qui ont été notifiées au niveau central, car elles concernent exclusivement :

- des produits mis sur le marché,
- des produits distribués en dehors de leur département de production et/ou ayant fait l'objet d'un rappel auprès du consommateur (quel que soit le périmètre de distribution).

En 2015, la MUS a réceptionné 1 082 alertes alimentaires : 952 alertes étaient d'origine nationale (Figure 1) et 130 alertes en provenance d'autres pays. Parmi ces 1 082 alertes, la DGAL en a notifié 117 via RASFF.

Les principales sources des alertes au niveau national sont : i) la réalisation d'autocontrôles chez les opérateurs français (détaillants, producteurs) qui contribuent à plus de deux-tiers des alertes, ii) les plans de surveillance et les plans de contrôle officiels qui contribuent à 20 % des alertes, iii) les plaintes consommateurs arrivent en troisième position, avec près de 5 % des alertes produits et sont en augmentation depuis quelques années.

En lien avec les critères de ciblage réglementaires (matrices ou dangers explicitement visés par les textes réglementaires), la répartition des alertes par type de produits place les produits de viande de boucherie en tête du classement, suivis par les produits de la pêche et les produits laitiers (Figure 2).

De même, en lien avec les contaminants visés par les critères réglementaires (en particulier le règlement (CE) n°2073/2005), la pression de contrôle et l'évaluation de la dangerosité des produits contaminés mis sur le marché, les cinq contaminants les plus fréquemment associés aux alertes produits sont *Listeria monocytogenes* (32 % des dossiers traités par la MUS en 2015), suivi par *Salmonella* (16 % des dossiers), les métaux lourds (9,1 % des dossiers, dont la recherche est réalisée dans le cadre des PSPC pour plus des deux tiers d'entre eux), *Escherichia coli* pathogène et les médicaments vétérinaires (Figure 3). Ces dossiers ont conduit à 576 opérations de retrait et 272 mesures de rappel en 2015.

### Bilan des Tiac

Dans cadre du dispositif de surveillance des Tiac, les dangers identifiés sont essentiellement les agents infectieux et l'histamine. D'autres agents (toxiques par exemple) sont exceptionnels ; ils sont généralement surveillés par un dispositif de toxicovigilance.

Un bilan annuel des Tiac déclarées en France est disponible sur le site de Santé publique France : <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Toxi-infections-alimentaires-collectives/Donnees-epidemiologiques>.

En 2014, 1 380 foyers de Tiac ont été déclarés, affectant 12 109 personnes, dont 649 (5 %) ont été hospitalisées et deux sont décédées.

Les Tiac sont survenues principalement suite à des repas en restauration commerciale et collective (respectivement 37 et 30 % des Tiac déclarées). La proportion de Tiac survenues lors de repas familiaux était de 33 % en 2014 (les Tiac familiales ont augmenté de 22 % par rapport à 2013 mais sont similaires aux données 2012).

La part des Tiac où un agent pathogène a été confirmé est relativement

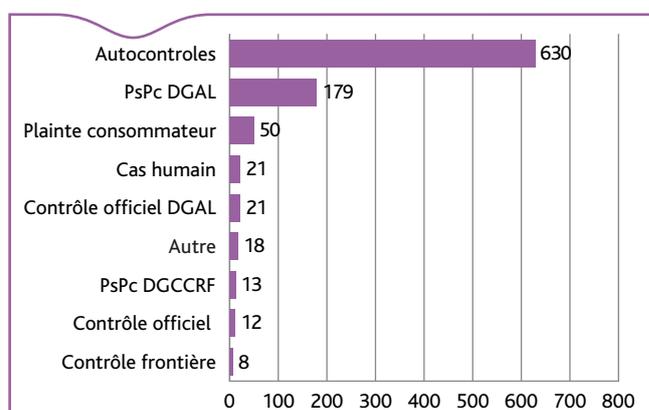


Figure 1. Répartition des alertes nationales selon leur source de détection (2015)

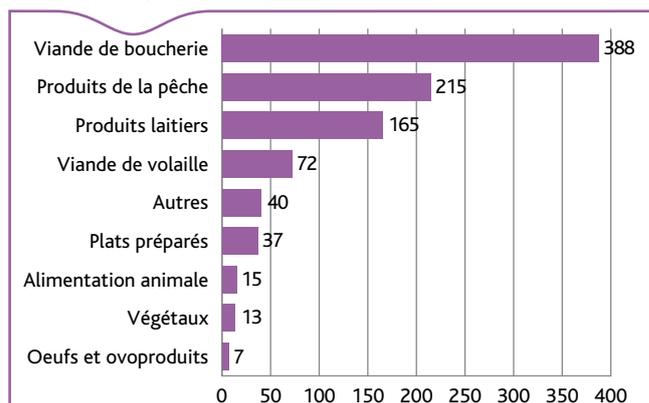


Figure 2. Répartition des alertes nationales par catégorie de produit (2015)

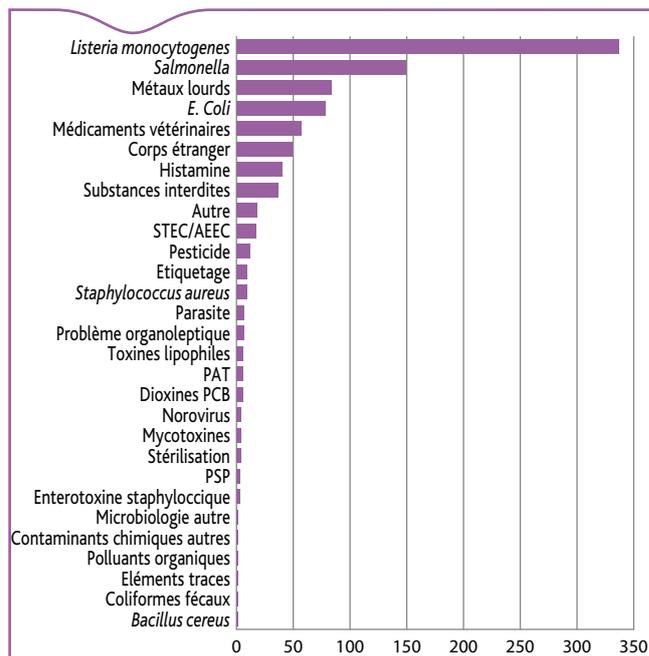


Figure 3. Répartition des alertes nationales par agent responsable (2015)

faible (18 %). Pour les Tiac confirmées, *Salmonella spp.* est l'agent pathogène le plus fréquemment identifié (43 % des Tiac confirmées). Les deux autres agents pathogènes associés aux Tiac, les plus fréquemment confirmés ou suspectés étaient *Staphylococcus aureus* (30 % des foyers) et *Bacillus cereus* (22 %). Aucun agent n'a pu être mis en évidence, ni suspecté, dans 13 % des foyers déclarés.

En restauration commerciale ou collective, les non-conformités les plus fréquemment rencontrées étaient un équipement défectueux ou inadapté, des non-respects des règles d'hygiène, une mauvaise manipulation par le personnel ou une contamination des matières (premières, intermédiaires ou produit fini).

Des mesures correctrices ont été nécessaires pour 490 (53 %) foyers de Tiac en restauration commerciale ou collective. Les mesures les plus fréquemment mises en place étaient une information/formation du personnel, une désinfection de l'établissement, des travaux dans l'établissement ou une fermeture de l'établissement. En 2014, 22 saisies et retraits/rappels de denrées ont été effectués.

## Discussion - conclusion

Les dispositifs de gestion des alertes alimentaires et de surveillance des Tiac présentent l'intérêt d'identifier et d'intervenir rapidement lors de situations de perte de maîtrise sanitaire des processus de fabrication et/ou de distribution des aliments. Ils contribuent également sur le long terme, à mieux connaître l'origine et la prévalence des contaminants véhiculés par les matrices alimentaires les plus fréquemment associées aux Tiac.

Par ailleurs, ces dispositifs permettent de collecter des informations relatives à des matrices ou des contaminants non pris en compte dans la programmation des contrôles officiels (par exemple *Staphylococcus aureus* et ses toxines, les corps étrangers et des défauts d'étiquetage) et, le cas échéant, de participer à la détection de possibles émergences, en relation avec l'analyse des dangers faite par les opérateurs dans le cadre de leurs autocontrôles.

En revanche, ces bilans ne permettent, ni de tirer des conclusions sur la qualité sanitaire des produits mis sur le marché en France, ni de comparer les pays entre eux, car ils ne tiennent pas compte, notamment :

- des différences entre les systèmes de surveillance,
- du volume et des types de production,
- du nombre de prélèvements pour analyse (autocontrôles ou contrôles officiels),
- de la définition, selon les pays, d'une non-conformité donnant lieu à une alerte. Ainsi par exemple, une différence existe entre les États membres concernant la gestion des produits prêts à être consommés, mis sur le marché et contaminés par des taux de *Listeria monocytogenes* inférieurs à 100 UFC/g, conduisant à un nombre d'alertes plus important en France,
- des sous-déclarations pour chacun des dispositifs.

Des solutions d'optimisation de la maîtrise et de la surveillance de la chaîne alimentaire peuvent être envisagées par la mise en perspective des différentes sources d'information (bilans des alertes et des Tiac, résultats des autres dispositifs de surveillance de la chaîne alimentaire). Cette analyse devrait conduire à argumenter des priorités d'action en matière de maîtrise sanitaire par les différents acteurs de la chaîne alimentaire, y compris par le consommateur :

- pertinence des plans d'autocontrôles des opérateurs,
- priorités de programmation des contrôles officiels,
- optimisation du système de déclaration des alertes et des Tiac,
- recommandations sur le respect de la chaîne de température maîtrisée (liaison chaude ou froide),
- recommandations d'hygiène spécifiques pour le consommateur.

## Références bibliographiques

Règlement (CE) n°178/2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire et fixant les procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires (en particulier les articles 14 et 19).

Règlement (CE) n°2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.

Règlement (CE) n°315/93 portant établissement des procédures communautaires relatives aux contaminants dans les denrées alimentaires.

Règlement (CE) n° 1881/2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires.

Code de la santé publique : article R. 11-2, procédure de notification des maladies à déclaration obligatoire.

Note de service DGAL/MUS/N2009-8191 du 09 juillet 2009 sur la gestion des toxi-infections alimentaires collectives – Déclaration, inspection et rapport d'investigation.

Circulaire du 10 février 2003 relative au nouveau dispositif de notification anonymisée des maladies infectieuses à déclaration obligatoire. Bull. Epidémiol. Hebd 2003;12-13:69-76.

Protocole de coordination dans la gestion des crises et alertes signé en 2009 entre les 3 ministères concernés (MAAF, MEF, MASS). Disponible en ligne : [http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/\\_Guide\\_Gestion\\_Alerte\\_Revision\\_2\\_jlt\\_2009\\_COMPLETEE\\_VDef\\_\\_cle09fc34.pdf](http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/_Guide_Gestion_Alerte_Revision_2_jlt_2009_COMPLETEE_VDef__cle09fc34.pdf)

## Note sur rapport. Zoonoses, agents zoonotiques et toxi-infections alimentaires collectives en Europe en 2014

### Report memo. Zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in Europe in 2014

Corinne Danan (corinne.danan@agriculture.gouv.fr) (1), Didier Calavas (2)

(1) Direction générale de l'Alimentation, Sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments, Bureau d'appui à la surveillance de la chaîne alimentaire, Paris, France

(2) Anses, Laboratoire de Lyon, Unité Épidémiologie, France

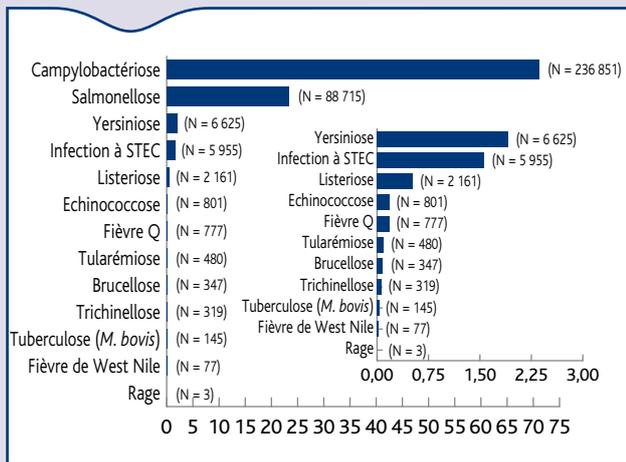
**Mots-clés:** zoonoses, Europe, 2014/**Keywords:** Zoonoses, Europe, 2014

Depuis une dizaine d'années, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (Efsa) et l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) publient chaque année un rapport sur les tendances et les sources de zoonoses, d'agents zoonotiques et de toxi-infections alimentaires collectives (Tiac). Le rapport sur les données de 2014 est présenté de manière plus synthétique par rapport aux précédents (EFSA & ECDC, 2015). Une partie de ce rapport rappelle le contexte de la collecte des données et est limité à la description des informations ou changements les plus marquants observés pour certaines zoonoses ; les annexes permettent d'accéder, par des liens hypertexte, aux données des différents secteurs, humain, vétérinaire et alimentaire, ayant servi à l'élaboration des bilans annuels. De plus, les données transmises par chaque Etat membre (EM) ([http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific\\_output/files/main\\_documents/4329ax1.zip](http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/4329ax1.zip)) et les rapports nationaux (<http://www.efsa.europa.eu/en/biological-hazards-data/reports>) peuvent être consultés sur le site de l'Efsa.

Ce rapport rassemble les données de surveillance de 32 pays (28 EM et 4 pays hors Union européenne). Il apporte une somme d'informations utiles sur la situation épidémiologique en Europe aux niveaux humain et animal, et sur la chaîne alimentaire, de plus de quinze agents zoonotiques et de Tiac, huit réglementés dans le cadre de la directive 2003/99/EC, mais aussi la rage, la toxoplasmose, la fièvre Q, les infections liées au virus West-Nile, la yersiniose, la tularémie, la cysticercose et la sarcocystose.

Comme les années précédentes, six zoonoses transmises par la voie alimentaire (campylobactériose, salmonellose, yersiniose, infections à *Escherichia coli* produisant des shigatoxines, listériose, échinococcose) sont en tête du nombre de cas et de l'incidence<sup>1</sup> des infections zoonotiques chez l'Homme (Figure 1). En incluant la trichinellose et la brucellose, les zoonoses d'origine alimentaire représentent 99,6 % des 343 256 cas humains liés à treize zoonoses rapportées en Europe.

Les campylobactérioses sont la cause principale des cas humains notifiés ; elles représentent à elles seules 69 % des cas en 2014, avec



**Figure 1.** Nombre de cas humains de zoonoses, et incidence pour 100 000 habitants, rapportés en Europe en 2014

236 851 cas confirmés et une incidence<sup>(1)</sup> de 71 pour 100 000 habitants (Figure 1). Cette incidence augmente depuis 2008 avec en 2014, une incidence 9,6 % plus élevée par rapport à 2013.

Les salmonelloses sont la deuxième cause principale des cas humains notifiés avec 26 % des cas, 88 715 cas confirmés et une incidence de 23,4 cas pour 100 000 habitants. Pour cette zoonose, les données de surveillance européenne mettent en évidence une diminution régulière du nombre de cas humains depuis 2008, ce qui a été associé à la politique européenne de lutte contre les salmonelles dans le secteur de l'aviculture. Cependant, l'incidence de 2014 est 15,3 % plus élevée par rapport à 2013.

Parmi les analyses de tendance significatives, il faut également noter l'augmentation des cas de listériose observée de 2008 à 2014, sans qu'aucun lien n'ait pu être fait avec le niveau de contamination des aliments. En 2014, 2 161 cas de listériose ont été rapportés, avec une incidence de 0,52 cas pour 100 000 habitants. Cette incidence est 30 % plus élevée que celle de 2013.

Ces chiffres sont à comparer aux 0,4 % de cas dus à des zoonoses dont la transmission à l'Homme peut relever d'autres voies (fièvre Q, fièvre West-Nile, tularémie, tuberculose due à *M. bovis*, rage).

1. On a fait l'hypothèse qu'il s'agit de cas incidents et d'incidence (respectivement « reported cases » et « notification rate » dans le rapport).

Le taux de létalité des douze premières zoonoses (exceptée la tuberculose à *M. bovis*), parmi les cas confirmés, est en moyenne de 0,1 %, en général en dessous de 1 %, à l'exception de la fièvre West-Nile (3,4 %), de la listériose (15,6 %) et de la rage (100 %).

Un total de 5251 épisodes de Tiac, incluant celles liées à l'eau, a été rapporté en 2014. Les causes, identifiées dans près de deux-tiers des cas, sont majoritairement des virus, suivis des salmonelles, des toxines bactériennes et des *Campylobacter*. Les aliments les plus fréquemment associés aux Tiac sont les œufs et produits à base d'œuf, les aliments composés et les produits de la mer (crustacés, mollusques, coquillage et produits associés).

Il faut toutefois bien considérer les limites de ce genre d'exercice. Les messages d'avertissement sont d'ailleurs bien rappelés tout au long du rapport de l'Efsa, dans la mesure où :

- les données proviennent de systèmes de surveillance de nature et d'efficacité variables entre EM,
- les plans d'échantillonnage ne reposent pas tous sur des protocoles d'échantillonnage standardisés, et les données qui en sont issues ne sont pas nécessairement représentatives d'une prévalence nationale,
- les EM ne fournissent pas tous un rapport complet aux autorités européennes.

Il faut donc être très prudent pour interpréter :

- les tendances d'une année sur l'autre, car les modalités de notification aux autorités européennes peuvent varier et les dénominateurs ne sont pas ajustés sur la structure d'âge des populations, qui de plus évolue avec le temps,
- les relations entre cas de zoonoses chez l'Homme dans un pays donné et situation épidémiologique de l'agent zoonotique correspondant dans le cheptel du même pays, car il est impossible de faire la part des choses entre les infections acquises dans le pays d'origine et celles acquises à l'étranger ou par consommation de produits importés,
- les données d'un pays par rapport aux données européennes, car les définitions des cas ne sont pas toujours identiques au niveau national et européen.

Quoi qu'il en soit, les informations contenues dans ce rapport sont extrêmement utiles pour analyser et suivre la situation épidémiologique des zoonoses et agents zoonotiques en Europe. Elles servent régulièrement de base aux pouvoirs publics dans la définition ou l'évaluation de l'impact de mesures de gestion.

## Références bibliographiques

EFSA & ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2015. The European Union Abstract Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Foodborne Outbreaks in 2014. EFSA Journal 2015;13(12):4329, 191 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4329.

**Directeur de publication:** Roger Genet  
**Directeur associé:** Patrick Dehaumont  
**Comité de rédaction:** Didier Boisseleau, Anne Brisabois, Corinne Danan, Benoît Durand, Françoise Gauchard, Pascal Hendrikx, Paul Martin, Elisabeth Repérant, Sylvain Traynard  
**Rédacteur en chef:** Didier Calavas  
**Rédactrices en chef adjointes:** Anne Bronner, Corinne Danan

**Editeur scientifique:** Julien Cauchard  
**Responsable d'édition:** Fabrice Coutureau  
**Assistante d'édition:** Céline Leterq  
**Webmaster du site du BE:** Julien Vigneron  
**Anses - www.anses.fr**  
 14 rue Pierre et Marie Curie  
 94701 Maisons-Alfort Cedex

**Courriel:** bulletin.epidemi@anses.fr  
**Conception et réalisation:** Parimage  
**Crédits photos :** Anses, Parimage  
**Impression:** Bialec  
 23 Allée des Grands Pâquis - 54180 Heillecourt  
**Tirage:** 3 500 exemplaires  
**Dépôt légal à parution/ISSN 1630-8018**

Numéro coordonné par Corinne Danan (1), Julien Cauchard (2), Marion Bordier (3), Sabine Itié-Hafez (1), Isabelle Berta-Vanrullen (4), François Gauchard (5), Didier Calavas (2)

- (1) Direction générale de l'Alimentation, Bureau d'appui à la surveillance de la chaîne alimentaire, Paris France
- (2) Anses, Laboratoire de Lyon, Unité Épidémiologie, Lyon, France
- (3) Direction générale de l'Alimentation, Bureau du management par la qualité et de la coordination des contrôles, Paris France
- (4) Anses, Direction des laboratoires, Unité d'appui et de coordination de la surveillance, Maisons-Alfort, France
- (5) Anses, Direction de l'évaluation des risques, Maisons-Alfort, France

