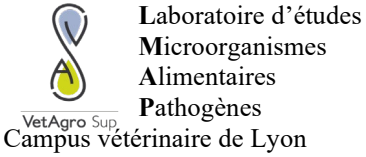

 Laboratoire d'études Microorganismes Alimentaires Pathogènes VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon	Enregistrement	<b>ANA.E.06</b>
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 1/25

## Contenu

<b>Pourquoi une Foire Aux Questions (FAQ) .....</b>	<b>3</b>
<b>Contacts.....</b>	<b>3</b>
1. Quels sont les horaires d'ouverture du LMAP/ LNR <i>E. coli</i> y compris STEC ? .....	3
2. Comment contacter le LMAP/ LNR <i>E. coli</i> y compris STEC?.....	3
3. Le LMAP/LNR <i>E. coli</i> y compris STEC dispose t'il d'un site internet ? .....	3
<b>Démarche qualité .....</b>	<b>4</b>
4. Le LMAP/LNR <i>E. coli</i> y compris est-il engagé dans une démarche Qualité ?.....	4
5. C*. Quelles sont les méthodes accréditées mises en œuvre au laboratoire LMAP/LNR <i>E. coli</i> y compris STEC ?.....	4
6. C*. Peut-on obtenir des rapports d'essais sous couvert de l'accréditation COFRAC par le LMAP/LNR <i>E. coli</i> y compris STEC et quelle est la portée d'accréditation du laboratoire ?.....	4
7. C*. Quelle est la différence entre une analyse sous couvert de l'accréditation COFRAC et une analyse non COFRAC ?.....	5
8. Peut-on faire une réclamation au LMAP/LNR <i>E. coli</i> y compris STEC?.....	6
<b>Analyses.....</b>	<b>7</b>
9. C*. Quelles analyses sont réalisées par le LMAP/ LNR <i>E. coli</i> y compris STEC ? .....	7
10. C*. Sur quelle matrice peut-on faire une recherche de STEC ?.....	7
11. Le LMAP/ LNR <i>E. coli</i> y compris STEC peut-il réaliser l'échantillonnage ou des prélèvements ? .....	7
12. C*. Combien de temps sont conservés les prélèvements au laboratoire ? .....	7
13. C*. Quels sont les délais analytiques du LMAP/ LNR <i>E. coli</i> y compris STEC? .....	7
14. Le LMAP/ LNR <i>E. coli</i> y compris STEC peut-il être impliqué dans la gestion des alertes sanitaires liées au STEC ? .....	8
15. Quels sont les laboratoires capables de faire des analyses de recherche des STEC ?.....	8
16. Quel est le protocole simplifié de détection des souches STEC dans les matrices alimentaires ou l'environnement ? .....	8
17. C* Qu'est ce qu'un protocole de discordance ? .....	9
<b>Envoi d'échantillons.....</b>	<b>10</b>
18. A quelle adresse faut-il envoyer les échantillons ou les courriers ?.....	10
19. C*. Faut-il prévenir le LMAP/ LNR <i>E. coli</i> y compris STEC de l'envoi d'échantillons et comment le faire ? .....	10
20. C*. Quels documents faut-il joindre aux échantillons ?.....	10
21. C*. Dans quels flacons faut-il envoyer les prélèvements au laboratoire ?.....	10
22. C*. Quelle quantité d'échantillon faut-il envoyer au laboratoire ? .....	11
23. Comment étiqueter les échantillons ?.....	11
24. C*. Comment transporter les échantillons jusqu'au laboratoire ?.....	11
25. C*. Quelle est la réglementation pour transporter des STEC ?.....	11
26. Quels sont les jours de réception des échantillons au laboratoire ? .....	12
27. C*. Quels sont les critères d'acceptabilité des échantillons qui arrivent au laboratoire ?.....	12
<b>Rapport d'essai.....</b>	<b>13</b>
28. C*. Que contiennent les conclusions des rapport d'essais ? .....	13
29. C*. Est-il possible de modifier les informations relatives aux échantillons après émission du rapport d'essai ?.....	13
30. C*. Sous quel format et de quelle façon sont édités et envoyés les rapports d'essais?.....	14

	Enregistrement	<b>ANA.E.06</b>
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 2/25

31. Les résultats sont-ils confidentiels ?.....	14
32. C*. Peut-t'on reproduire les rapports d'essais émis par le LMAP/ LNR <i>E. coli</i> y compris STEC ?.....	15
<b>Tarification - facturation.....</b>	<b>16</b>
33. C*. Quels sont les tarifs des analyses ? .....	16
34. Comment sont envoyées les factures ? .....	16
<b>SOUCHOTEQUE .....</b>	<b>16</b>
35. C*. Les souches isolées sont-elles conservées ? .....	16
36. Est-il possible d'effectuer une caractérisation par PFGE de souches ?.....	16
37. Le LMAP/ LNR <i>E. coli</i> y compris STEC peut-il mettre à disposition des souches bactériennes ? .....	17
38. C*. A qui appartiennent les souches isolées au LMAP/ LNR <i>E. coli</i> y compris STEC ?.....	17
39. Quel usage est fait des souches isolées par le LMAP/ LNR <i>E. coli</i> y compris STEC ? .....	17
40. Le LNR est-il associé à un centre de ressources biologiques ? .....	17
<b>Les STEC .....</b>	<b>18</b>
41. Que signifie les acronymes STEC/EHEC ?.....	18
42. Qu'est ce qu'un STEC hautement pathogène (ou EHEC) ?.....	18
43. Qu'est ce qu'une souche AEEC ? .....	19
44. Quelle nuance y a-t-il entre un STEC pathogène et hautement pathogène ? .....	19
45. Quel lien y a-t-il entre toutes ces appellations différentes des souches d' <i>Escherichia coli</i> ? ...	19
46. Quelles sont les principales voies de contamination des STEC ? .....	20
47. Quels sont les symptômes en cas d'ingestion de STEC pathogènes (EHEC) ? .....	21
48. Pourquoi la recherche des STEC pathogènes est un enjeu majeur en santé publique ?.....	21
49. Quels sont les principales épidémies à STEC recensées à travers le monde ? (point au 7/03/19).....	22
50. Qui analyse le danger et le risque « STEC » ? .....	23
51. Quels sont les documents officiels relatifs aux STEC (au 1 <sup>er</sup> juillet 2019) ?.....	23
52. Y a-t-il des critères microbiologiques sur les STEC dans les aliments ? .....	24
53. Quel est le groupe de danger des STEC ? .....	24
54. Comment doit-on manipuler les STEC pathogènes et hautement pathogènes dans les laboratoires ? .....	25

 Laboratoire d'études Microorganismes Alimentaires Pathogènes VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 3/25

## POURQUOI UNE FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)

Cette FAQ est destinée aux clients du LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC. Elle a pour objectif de répondre aux questions qui sont régulièrement posées au personnel du LMAP.

Certaines questions sont signalées par un « **C\*** ». Les réponses apportées à ces questions décrivent les modalités de transport et d'analyse des échantillons. En signant la demande d'analyse (ANA.E.05) jointe aux échantillons, le client reconnaît avoir lu et accepté les informations matérialisées par un **C\*** au début de de cette Foire aux Questions.

## CONTACTS

### 1. Quels sont les horaires d'ouverture du LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC ?

Le secrétariat est ouvert du mardi au vendredi de 8h30 à 12h30 et de 13h30 à 17h.  
 Le laboratoire est ouvert toute l'année du lundi au vendredi de 9h00 à 17h00 (sauf jours fériés et fermetures exceptionnelles communiquées généralement par mail).

### 2. Comment contacter le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC?

✓ **Pour contacter la direction :**

Delphine SERGENTET-THEVENOT: [delphine.sergentet@vetagro-sup.fr](mailto:delphine.sergentet@vetagro-sup.fr); 04 78 87 25 99  
 Christine MAZUY-CRUCHAUDET: [christine.mazuycruchaudet@vetagro-sup.fr](mailto:christine.mazuycruchaudet@vetagro-sup.fr); 04 78 87 25 34

✓ **Pour contacter le pôle analytique :**

Un interlocuteur peut être joint par messagerie électronique à l'adresse : [umap-diagnostic@vetagro-sup.fr](mailto:umap-diagnostic@vetagro-sup.fr)

✓ **Pour contacter le secrétariat**

Le secrétariat peut être contacté à l'adresse [secretariat.umap@vetagro-sup.fr](mailto:secretariat.umap@vetagro-sup.fr) et au 04 78 87 25 51

✓ **Pour les factures**

La demande peut être adressée au secrétariat (voir ci-dessus) mais également à l'agence comptable de VETAGRO SUP à l'adresse : [compta@vetagro-sup.fr](mailto:compta@vetagro-sup.fr)

### 3. Le LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC dispose t'il d'un site internet ?

Oui : <http://www.vetagro-sup.fr/recherche-expertise/laboratoires-analyse/lmap/>

## DEMARCHE QUALITE

### 4. Le LMAP/LNR *E. coli* y compris est-il engagé dans une démarche Qualité ?

Oui, le LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC est engagé depuis 2009 dans une démarche d'assurance qualité selon la norme NF EN ISO/CEI 17025.

Le LMAP/LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC est accrédité par le comité français d'accréditation (COFRAC) depuis le 1<sup>er</sup> juin 2015 selon la norme NF EN ISO/CEI 17025, pour la réalisation de certaines analyses microbiologiques des produits et environnement agro-alimentaires (accréditation 1-5902, portée détaillée disponible sur [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr)).



### 5. C\*. Quelles sont les méthodes accréditées mises en œuvre au laboratoire LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC ?

La détection des *Escherichia coli* producteurs de Shiga Toxines (STEC) et la détermination des sérogroupes O157, O26, O103, O111 et O145 dans les bouillons d'enrichissement sont réalisées selon la méthode LMAP/DGAL/Screening PCR STEC-al.3.

L'isolement et la confirmation des STEC hautement pathogènes (EHEC du top 5) sont réalisés selon la méthode LMAP/DGAL/confirmation isolement STEC-al.2.

Le LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC peut aussi rechercher les STEC O157:H7 via la méthode NF EN ISO 16654 - Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157.

### 6. C\*. Peut-on obtenir des rapports d'essais sous couvert de l'accréditation COFRAC par le LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC et quelle est la portée d'accréditation du laboratoire ?

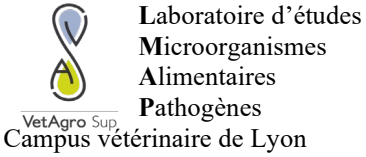
Oui, le tableau ci-dessous synthétise la portée d'accréditation du LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC .

#AGROALIMENTAIRE / DIVERS ALIMENTS / Analyses microbiologiques (Analyses microbiologiques des produits et environnement agro-alimentaires – LAB GTA 59)			
Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode	Référence de la méthode
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Produits carnés : viande</li> <li>• Produits laitiers : lait et fromages au lait cru</li> </ul>	Détection des <i>Escherichia coli</i> producteurs de Shiga Toxines (STEC) et détermination des sérogroupes O157, O26, O103, O111 et O145 des STEC hautement pathogènes	Enrichissement Extraction automatisée d'ADN Amplification par PCR en temps réel : -des gènes <i>stx</i> (sauf <i>stx2f</i> ) et <i>eae</i> (détection) - des gènes <i>rfbE</i> <sub>O157</sub> , <i>wbdI</i> <sub>O111</sub> , <i>wzx</i> <sub>O26</sub> , <i>ihpI</i> <sub>O145</sub> , <i>wzx</i> <sub>O103</sub> (sérogroupes)	LMAP/DGAL/Screening PCR STEC-al.3

#AGROALIMENTAIRE / DIVERS ALIMENTS / Analyses microbiologiques (Analyses microbiologiques des produits et environnement agro-alimentaires – LAB GTA 59)			
Objet	Caractéristique mesurée ou recherchée	Principe de la méthode	Référence de la méthode
		<b>Méthode qualitative</b>	
<b>Produits carnés :</b> Viande	Isolement et confirmation des STEC et des STEC hautement pathogènes	Concentration bactérienne par méthode automatisée VIDAS ESPT et isolement sur gélose Extraction manuelle d'ADN Amplification par PCR en temps réel : -des gènes <i>stx</i> ( <i>sauf stx2f</i> ) et <i>eae</i> des gènes <i>rfbE</i> <sub>O157</sub> , <i>wbdl</i> <sub>O111</sub> , <i>wzx</i> <sub>O26</sub> , <i>ihp1</i> <sub>O145</sub> , <i>wzx</i> <sub>O103</sub>  <b>Méthode qualitative</b>	LMAP/DGAL/confirmation isolement STEC-al.2
<b>Produits laitiers au lait cru :</b> Lait et fromages au lait cru	Isolement et confirmation des STEC et des STEC hautement pathogènes	Concentration bactérienne par immuno- séparation magnétique (IMS) et isolement sur gélose) Extraction manuelle d'ADN Amplification par PCR en temps réel : -des gènes <i>stx</i> ( <i>sauf stx2f</i> ) et <i>eae</i> des gènes <i>rfbE</i> <sub>O157</sub> , <i>wbdl</i> <sub>O111</sub> , <i>wzx</i> <sub>O26</sub> , <i>ihp1</i> <sub>O145</sub> , <i>wzx</i> <sub>O103</sub>  <b>Méthode qualitative</b>	LMAP/DGAL/confirmation isolement STEC-al.2

## 7. **C\***. Quelle est la différence entre une analyse sous couvert de l'accréditation COFRAC et une analyse non COFRAC ?

La différence est basée sur la présence de contrôles analytiques supplémentaires. Ceci est par conséquent, répercuté sur le tarif des analyses (Voir Q32).

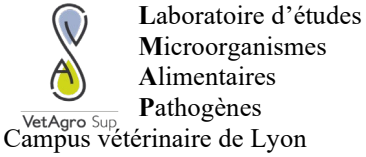
	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 6/25

### 8. Peut-on faire une réclamation au LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC?

Oui, en contactant le LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC (voir Q2). Lors de la réception de la demande par le laboratoire, une « fiche de réclamation » est initiée et le personnel du LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC met tout en œuvre pour la traiter dans les plus brefs délais.

Le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC met à la disposition de ses clients, sur simple demande, sa procédure de traitement des réclamations.

D'autre part, chaque année le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC adresse une enquête de satisfaction à ses clients. Ces derniers peuvent, à cette occasion faire remonter toutes les informations ou remarques qu'ils jugent nécessaires au laboratoire.

	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 7/25

## ANALYSES

### 9. C\*. Quelles analyses sont réalisées par le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC ?

Toutes les analyses réalisées au laboratoire sont décrites dans le document ANA.E.06.A01, disponible sur notre site internet (voir Q3).

Le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC reste à la disposition de ses clients pour tout renseignement ou complément d'informations (voir Q2).

### 10. C\*. Sur quelle matrice peut-on faire une recherche de STEC ?

Le laboratoire peut rechercher des souches STEC dans :

Les aliments d'origine animale (par exemple : viandes, laits et fromages au lait cru)

Les aliments d'origine végétale (y compris graines à germer et graines germées)

Des prélèvements environnementaux (eaux, fèces, filtres de machine à traire, chiffonnettes, pédichiffonnettes...)

Seules les analyses de viande et de produits laitiers à base de lait cru, peuvent faire l'objet de rapports sous couvert d'une accréditation COFRAC. (Voir Q6)

### 11. Le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC peut-il réaliser l'échantillonnage ou des prélèvements ?

NON, le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC ne réalise ni prélèvement ni échantillonnage dans le cadre de ses prestations d'analyse.

### 12. C\*. Combien de temps sont conservés les prélèvements au laboratoire ?


Tous les échantillons réceptionnés au laboratoire sont conservés 7 jours à  $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$  à compter de la date de mise en analyse, sauf indication contraire.

Au-delà des 7 jours, les échantillons sont autoclavés puis éliminés.

Dans le cadre des missions réglementaires de recherche des LNR, les échantillons rendus anonymes peuvent servir dans les projets de recherche développés par le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC. Dans le cas, où le client ne souhaite pas que ces échantillons puissent servir dans un projet de recherche, il doit le signifier au LMAP par écrit.

### 13. C\*. Quels sont les délais analytiques du LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC?

Les délais pour la transmission des résultats, indiqués ci-dessous, sont donnés à titre indicatif et sous réserve :

 <p>Laboratoire d'études Microorganismes Alimentaires Pathogènes VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon</p>	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 8/25

- que le laboratoire ait été averti à l'avance de l'envoi des échantillons par courriel à l'adresse suivante : [umap-diagnostic@vetagro-sup.fr](mailto:umap-diagnostic@vetagro-sup.fr),
- De l'arrivée des échantillons au laboratoire avant 12h du lundi au vendredi,
- De l'acceptabilité des échantillons,
- Du nombre de prestations à réaliser sur l'échantillon,
- De l'obtention de résultats ne nécessitant pas d'analyses complémentaires,
- De l'absence de contexte exceptionnel réduisant la disponibilité des membres de l'équipe (surcroît d'activité lié à une alerte produit, une TIAC, jours fériés ...).

Si l'échantillon est conforme, les analyses sont mises en oeuvre le jour même. Dans le cas contraire, le client est informé du délai supplémentaire nécessaire au traitement de son/ses échantillon (s) par téléphone ou par mail.

Pour la recherche de souches STEC dans un aliment, les résultats définitifs sont disponibles au plus tôt 3 jours ouvrés après la réception des échantillons.

Pour la recherche de souches STEC dans un bouillon d'enrichissement, les résultats définitifs sont disponibles au plus tôt le jour ouvré après la réception des échantillons.

Pour la recherche de souches STEC isolées sur boîtes de Pétri ou de caractérisations de colonies pures, les résultats définitifs sont disponibles au plus tôt le jour de la réception des échantillons, en fin d'après-midi.

Dans l'intérêt du client, la caractérisation des souches isolées, en vue de définir leur pouvoir pathogène, peut nécessiter un délai supplémentaire de 24h.

Pour les analyses à caractère particulier, contacter le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC pour obtenir les délais de transmission des résultats.

#### 14. Le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC peut-il être impliqué dans la gestion des alertes sanitaires liées au STEC ?

Oui, des analyses de détection et confirmation de souches STEC dans des matrices alimentaires suspectes dans le cadre d'alertes sanitaires en lien avec la DGAl et/ou Santé Publique France peuvent être réalisées par le laboratoire.

Contactez le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC pour discuter du protocole à mettre en place pour chaque alerte.

#### 15. Quels sont les laboratoires capables de faire des analyses de recherche des STEC ?

En tant que LNR, le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC ne réalise pas d'analyses de 1<sup>ère</sup> intention.

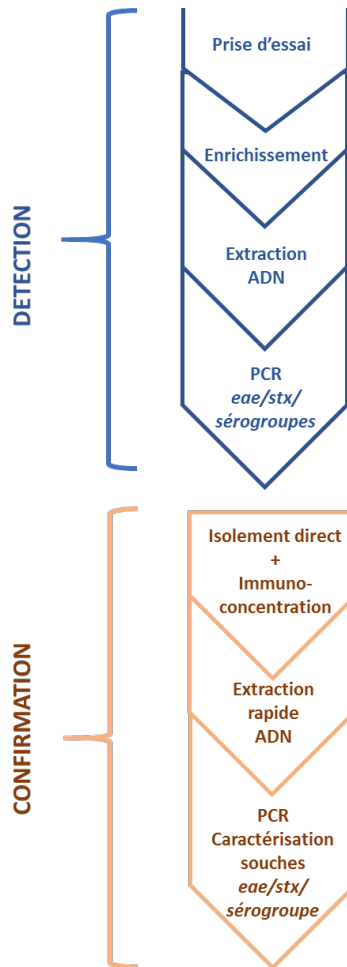
Certains laboratoires privés effectuent la recherche de STEC dans les aliments. Il est important de les contacter directement pour toutes informations.

D'autre part, un réseau de laboratoires agréés pour la recherche des STEC dans les aliments existe en France. La liste est consultable sur <https://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-reconnus-methodes-officielles-en-alimentation>.

#### 16. Quel est le protocole simplifié de détection des souches STEC dans les matrices alimentaires ou l'environnement ?

La recherche des souches STEC dans les matrices alimentaires ou l'environnement se fait selon le protocole suivant :






### 17. C\* Qu'est ce qu'un protocole de discordance ?

Certains fournisseurs de kits commerciaux indiquent, lorsque les bouillons suspects ne sont pas confirmés par un isolement de souches caractéristiques, qu'il est important de s'assurer de la validité du résultat rendu. Pour cela, ils recommandent la mise en place de protocoles de discordance complémentaires tels que l'isolement direct des bouillons sur des géloses ou le transfert du bouillon d'enrichissement initial dans un second bouillon, suivi d'une incubation puis d'une deuxième confirmation.

**Si vous êtes dans ce cas, nous vous demandons de contacter le LMAP afin d'envisager la mise en place d'analyses complémentaires. Un devis vous sera également fourni.**

 Laboratoire d'études <b>Microorganismes</b> <b>Alimentaires</b> <b>Pathogènes</b> VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon	Enregistrement	<b>ANA.E.06</b>
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 10/25

## ENVOI D'ÉCHANTILLONS

### 18. A quelle adresse faut-il envoyer les échantillons ou les courriers ?

VetAgro Sup - Campus vétérinaire de Lyon  
**LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC**  
 Bâtiment Galtier (RDC)  
 1, avenue Bourgelat  
 69280 MARCY L'ÉTOILE

### 19. C\*. Faut-il prévenir le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC de l'envoi d'échantillons et comment le faire ?

Oui, il est indispensable de prévenir le laboratoire de l'envoi d'échantillons, soit par courriel : [umap-diagnostic@vetagro-sup.fr](mailto:umap-diagnostic@vetagro-sup.fr), soit par téléphone 04 78 87 25 51 (voir Q2).

Il est demandé de joindre une copie de la demande d'analyse à l'échantillon.

Dans le cas contraire, un délai supplémentaire peut être nécessaire au traitement des échantillons.

### 20. C\*. Quels documents faut-il joindre aux échantillons ?

Chaque prélèvement doit être accompagné d'une demande d'analyse en cours de validité (voir Q3) ANA.E.05 dûment remplie et signée.

Cette demande d'analyse signée fait office de contrat. Aucun essai n'est mis en œuvre avant réception de cette demande d'analyse.

En signant la demande d'analyse, le client s'engage à faire référence à l'accréditation COFRAC du LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC uniquement sur sa portée d'accréditation (voir Q6).

Attention : veiller à ne pas mettre ce courrier en contact direct avec les échantillons ou les blocs réfrigérants.

### 21. C\*. Dans quels flacons faut-il envoyer les prélèvements au laboratoire ?

Les échantillons doivent être contenus dans des récipients en plastique, correctement et solidement fermés pour assurer l'étanchéité.

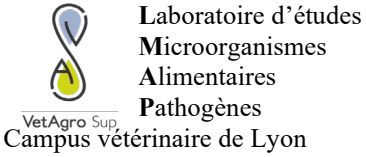
Il est important que ces échantillons soient identifiés de manière unique.

Le Parafilm® est préférable au scotch pour maintenir les bouchons et couvercles de boîtes.

Les tubes utilisés pour l'envoi de bouillon doivent avoir été munis d'un pas de vis externe.

Les sacs de type sac « stomacher », les flaconnages en verre, les tubes à pas de vis interne, ainsi que les bouchons de type « clip » ne sont pas acceptés.

Les récipients utilisés pour les échantillons liquides ne doivent pas être remplis à plus de ¾ de leur capacité afin d'éviter les fuites et de permettre une bonne homogénéisation de l'échantillon au laboratoire.

	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 11/25

## 22. C\*. Quelle quantité d'échantillon faut-il envoyer au laboratoire ?

Les quantités minimales dont le laboratoire a besoin pour réaliser les analyses dans les conditions optimales sont :

- Matrice alimentaire : 100 g ;
- Bouillon d'enrichissement : 10 mL ;
- Colonies pures et isolées. L'envoi de souches non isolées peut nécessiter un nouvel isolement au laboratoire et donc un délai supplémentaire de 24h.

Si les quantités minimales ne peuvent être fournies, contacter le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC (voir Q2).

## 23. Comment étiqueter les échantillons ?

Une étiquette à code barre est la solution la plus adaptée pour numéroter les échantillons. Cette solution permet un gain de temps et réduit les erreurs de numérotation.

Le laboratoire possède une scannette pour l'enregistrement des échantillons. Il est recommandé de coller les étiquettes de façon à ce que le code barre puisse être lu dans son intégralité par la scannette.

Il est préférable d'utiliser des références d'échantillons courtes (idéalement 14 caractères, espaces compris).

## 24. C\*. Comment transporter les échantillons jusqu'au laboratoire ?

L'échantillon envoyé pour analyse doit être représentatif du lot d'origine, c'est-à-dire non endommagé et non modifié lors de son stockage avant envoi et lors de son transport.

L'expéditeur de l'échantillon est responsable du respect des réglementations relatives à l'emballage et au transport des échantillons biologiques envoyés au laboratoire (voir Q24).

Afin d'éviter toute détérioration du contenant pendant le transport, le client doit s'assurer du bon maintien des différents récipients dans la glacière ou le carton (utilisation de matière de rembourrage).

Les tubes doivent être facilement accessibles dans le colis par le personnel du laboratoire.

Le temps de transport doit être le plus court possible, idéalement inférieur à 24h.

## 25. C\*. Quelle est la réglementation pour transporter des STEC ?


Tout transport de matériel biologique, potentiellement infectieux, demeure sous l'entière responsabilité de l'expéditeur.

Les souches STEC sont des microorganismes pathogènes de niveau de sécurité biologique 3.

Les souches (en boîte ou en tube) nécessitent un transport UN2814 (matières infectieuses de catégories A).

Les matrices alimentaires et les bouillons d'enrichissement peuvent être classés comme matières infectieuses de catégorie B, nécessitant un transport UN3373.

Les envois de matières infectieuses sont soumis à la réglementation du transport des matières dangereuses. Cette réglementation impose des obligations en matière d'emballage (triple emballage...), d'étiquetage et

 Laboratoire d'études Microorganismes Alimentaires Pathogènes VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 12/25

de transport. Détails disponibles dans : [WHO/HSE/GCR/2015.12 Guide pratique sur l'application du Règlement relatif au transport des matières infectieuses 2015-2016](#)

## 26. Quels sont les jours de réception des échantillons au laboratoire ?

Les échantillons peuvent être réceptionnés au laboratoire (bâtiment Galtier) du lundi au vendredi de 9h à 17h.

En cas d'absence du personnel au laboratoire, un affichage est mis sur la porte et les livreurs doivent s'adresser à l'accueil de VetAgro Sup, au niveau du bâtiment principal.

La réception des colis le week-end, au poste de garde de VetAgro Sup est possible, mais doit rester exceptionnelle. Dans ce cas, il doit être indiqué très lisiblement sur le colis « A MAINTENIR A 4°C, AU REFRIGERATEUR ».

Le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC prend la responsabilité de l'échantillon uniquement à partir du moment où celui-ci arrive au laboratoire, mais pas avant.

## 27. C\*. Quels sont les critères d'acceptabilité des échantillons qui arrivent au laboratoire ?

### A/ pour les aliments

1/ congelés ou surgelés : ils doivent être transportés sous couvert du froid, à une température inférieure à - 15°C.

2/ réfrigérés : ils doivent être transportés sous couvert du froid, à une température comprise entre 1 et 8°C (sans subir de congélation).

3/ à température ambiante : ils peuvent être transportés de façon classique, sans réfrigération.

### B/ pour les bouillons d'enrichissement

1/ la nature du bouillon d'enrichissement doit avoir été choisie pour favoriser la croissance des STEC. Les bouillons acceptés sont ceux décrits dans les normes NF EN ISO 16654 et XP CEN ISO/TS 13136 et ceux employés dans les kits de détection des STEC validés par tiers partie (AFNOR, AOAC, Microval...) ou dont l'utilisation est justifiée par des publications scientifiques.

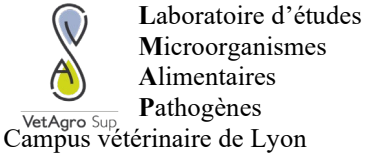
2/ la température d'incubation doit avoir été choisie pour favoriser la croissance des STEC (37°C ou 41,5°C),

3/ le délai entre la date de fin d'enrichissement et la date de réception au laboratoire ne doit pas dépasser 5 jours,

4/ les échantillons doivent être transportés sous couvert du froid, à une température comprise entre 1 et 8°C (sans subir de congélation). La température à réception est prise à l'aide d'un témoin de température joint au colis (voir ci-dessous).

C/ pour les colonies isolées sur gélose : les boîtes de Pétri ne doivent pas être endommagées. La gélose doit être intègre et la condensation doit être limitée au maximum dans la boîte. La température n'est pas mesurée.

Pour l'envoi d'échantillons sous couvert du froid positif, il est nécessaire de disposer des packs de gel eutectiques ou des blocs réfrigérants préalablement congelés, étanches et en quantité suffisante (ne pas utiliser de morceaux de glace) dans le colis afin d'assurer une température à réception des échantillons, conforme à la norme NF EN ISO 7218.

	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 13/25

Pour l'envoi d'échantillons sous couvert du froid, il est nécessaire de joindre systématiquement un flacon d'eau représentatif de la température de l'échantillon envoyé (sous la responsabilité du client), afin de permettre une prise de température fiable à réception des échantillons.

Une réserve sur les résultats est émise sur le rapport d'essais si ces conditions ne sont pas respectées, après information du client.

## RAPPORT D'ESSAI

### 28. C\*. Que contiennent les conclusions des rapport d'essais ?

Les conclusions sur les rapports d'essais sont exprimées de la façon suivante :

- **RESULTAT** : Détection ou non détection de souche d'*E. coli* du séro groupe recherchée dans la prise d'essai analysée.

En cas de détection de souches STEC hautement pathogènes (EHEC selon l'avis de l'ANSES 2016-SA-0121), les principales caractéristiques génétiques de la souche sont indiquées (gènes *stx* et *eae* et sérotypage moléculaire O/H).

En cas d'isolement, par le laboratoire, de souches non pathogènes appartenant au séro groupe suspecté ou de souches d'*E. coli* possédant un des gènes de virulence (*eae* et/ou *stx*), ces informations apparaîtront également dans la conclusion du rapport d'essai.

- **INTERPRETATION** : (cette partie n'est pas couverte par notre portée accréditation).

Détection, ou non détection de souches STEC hautement pathogène, appartenant au sérotype recherché (EHEC top 5) associé à sa définition précise selon les Avis de l'ANSES 2016-SA-0121, 2010-SA-0031 et précisé par l'avis de l'AFSSA du 15 juillet 2008.

- **AVIS** : (cette partie n'est pas couverte par notre portée accréditation)

En cas d'isolement de souches, un avis sur la nécessité de prendre des mesures de maîtrise selon le règlement CE 178/2002, est mentionné à titre indicatif.

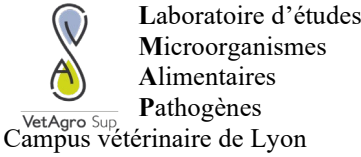
Les conclusions porteront uniquement sur la recherche des sérotypes associés aux sérogroupes mentionnés sur la demande d'analyse ANA.E.05.

Des réserves sur la fiabilité des résultats peuvent être formulées (voir Q26).

### 29. C\*. Est-il possible de modifier les informations relatives aux échantillons après émission du rapport d'essai ?

Il n'est pas possible de modifier les informations relatives aux échantillons (n° d'échantillon, matrice...) après émission du rapport d'essais d'après l'exigence du document COFRAC LAB REF 02 §7.8.8.1 :

"L'identification unique de l'échantillon doit être mentionnée dans le rapport d'essai, associée le cas échéant à la marque du fabricant ou toute référence du produit. La pratique qui consiste pour un laboratoire accrédité à réémettre un rapport d'essais sous accréditation lorsque le nom commercial ou la marque commerciale du produit testé a changé (sans le tester de nouveau) n'est pas permise, même avec une référence claire au rapport initial qu'il remplace. Le produit testé a été clairement identifié à la fois dans la revue de contrat et le rapport d'essai. Le laboratoire ne doit pas assumer la responsabilité de déclarer qu'un

	Enregistrement	<b>ANA.E.06</b>
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 14/25

produit avec un nouveau nom commercial ou une nouvelle marque commerciale est strictement identique à celui qu'il a testé : cette responsabilité appartient au client."

Un amendement sera réalisé seulement en cas d'erreur de la part du LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC.

### 30. C\*. Sous quel format et de quelle façon sont édités et envoyés les rapports d'essais?

Les rapports d'essais sont sous format PDF.

Afin d'assurer la fiabilité des données communiquées, aucun résultat intermédiaire n'est communiqué par téléphone. Les résultats définitifs sont transmis aux clients dès validation, aux adresses mails mentionnées sur la demande d'analyse. (Voir Q19).

Une interface Web permet de télécharger les rapports d'essais. Le client doit contacter le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC pour obtenir son identifiant et son mot de passe, nécessaires à la connexion à l'interface Web.

Il est de la responsabilité du client, de bien définir les personnes ayant accès aux rapports d'essais et de vérifier que leur(s) adresse(s) mail soit bien valide(s) dans l'espace client de l'interface web. De même, il est de leur responsabilité de veiller à ce que les adresses mails des personnes ne faisant plus partie de leurs collaborateurs ayant accès aux rapports, soient supprimées.


Pour toutes questions concernant l'interface Web, le client peut contacter le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC (voir Q2) ou utiliser les liens automatiques disponibles (« Ecrire au webmaster » ou « une question-cliquer ICI ») directement sur l'interface web.

### 31. Les résultats sont-ils confidentiels ?



Oui, le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC s'engage à rendre et à maintenir confidentiels tous les résultats d'analyse obtenus au laboratoire.

Seuls les clients mentionnés sur la demande d'analyse ANA.E.05 « demande d'analyse » ou sur l'interface Web, sont destinataires des rapports d'essais.

Pour les analyses réalisées dans le cadre du plan de surveillance national des STEC, en cas de présence de souches STEC hautement pathogènes (EHEC top 5), la mission des urgences sanitaires (MUS) de la DGAL peut demander au LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC de recevoir une copie des résultats. Dans ce cas, cette transmission de données se fait en copie visible des autres destinataires principaux.

	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 15/25

27/02/2019 Code rural et de la pêche maritime - Article R201-11 | Legifrance

**Chemin :**

**Code rural et de la pêche maritime**

- ▶ Partie réglementaire
  - ▶ Livre II : Alimentation, santé publique, vétérinaire et protection des végétaux
    - ▶ Titre préliminaire : Dispositions communes
      - ▶ Chapitre Ier : Dispositions générales relatives à la prévention, à la surveillance et à la lutte contre les dangers sanitaires concernant les animaux et les végétaux
        - ▶ Section 3 : Rôle des personnes autres que l'Etat dans la surveillance, la prévention et la lutte contre les dangers sanitaires
          - ▶ Sous-section 1 : Information sur les dangers sanitaires de première et de deuxième catégorie

**Article R201-11**

▶ Modifié par Décret n°2012-842 du 30 juin 2012 - art. 3

Les propriétaires et détenteurs d'animaux ou de denrées alimentaires d'origine animale concernés par l'enquête épidémiologique consécutive à une toxi-infection alimentaire, à un cas humain de maladie zoonotique ou à un foyer de maladie réglementée au sens de l'article D. 221-2 tiennent à la disposition de l'autorité administrative mentionnée à l'article R. 201-5, dès qu'ils en sont informés, tout échantillon et résultat d'analyse utile à l'enquête. Ils font parvenir au laboratoire désigné par l'autorité administrative qui en fait la demande les analytes isolés dans le cadre de leurs autocontrôles. Ils veillent à ce que les conditions de conservation des échantillons et analytes ne gênent pas l'interprétation d'analyses de laboratoire ultérieures et en préservent la traçabilité. De plus, ils n'entreprennent aucune mesure susceptible de gêner le déroulement de l'enquête sans l'autorisation de l'autorité administrative.

Les responsables de laboratoires concernés par une enquête épidémiologique mentionnée à l'alinéa précédent tiennent à la disposition de l'autorité administrative, dès qu'ils en sont informés, tout échantillon, analyte isolé et résultat d'analyse utile à l'enquête.

**Liens relatifs à cet article**

Cite:  
Code rural - art. D221-2 (V)  
Code rural - art. R201-5 (V)


Cité par:  
Code rural et de la pêche maritime - art. R201-45 (V)

Codifié par:  
Décret n° 2003-768 du 1 août 2003

D'autre part, en vertu de l'article R. 201-11 du code rural et de la pêche maritime (voir ci-dessus) et de la nouvelle loi EGAlim (30 octobre 2018), le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC peut être amené à communiquer des résultats aux autorités compétentes dans le cas d'enquêtes épidémiologiques ou alertes sanitaires.

### 32. C\*. Peux-t'on reproduire les rapports d'essais émis par le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC ?

Non, le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC n'autorise pas ses clients à faire référence à son accréditation autrement que par la reproduction intégrale des rapports d'essais émis par le laboratoire (Document du COFRAC GEN REF 11).

 <p>Laboratoire d'études Microorganismes Alimentaires Pathogènes VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon</p>	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 16/25

## TARIFICATION - FACTURATION

### 33. C\*. Quels sont les tarifs des analyses ?

Les tarifs sont disponibles sur le site internet du LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC (voir Q3) dans le document [ANA.E.06. A01 « Catalogue des prestations et tarifs »](#). Ces tarifs sont revus régulièrement.

En cas de prestations particulières, le client peut contacter le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC pour l'établissement d'un devis sur mesure (voir Q2).

### 34. Comment sont envoyées les factures ?

Les factures sont réalisées en début de mois pour le mois précédent.

La facture correspondant aux essais réalisés est envoyée par courrier à l'adresse postale indiquée par le client.

Le LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC propose au client dès réception de la facture de payer par virement bancaire, en indiquant le N° de facture dans le libellé, à TP LYON n°10071 69000 00001004323 93, titulaire du compte : VETAGRO SUP agent comptable.

## SOUCHOTEQUE

### 35. C\*. Les souches isolées sont-elles conservées ?

Oui, toutes les souches de STEC pathogènes et hautement pathogènes isolées au laboratoire sont conservées sans limite de durée.

D'autres souches d'intérêt (possession de gènes particuliers, souches atypiques...) sont aussi conservées.

Les souches d'*E. coli* non pathogènes ne sont pas conservées (ex : *E. coli* O26 sans gène de virulence).

### 36. Est-il possible d'effectuer une caractérisation par PFGE de souches ?


Oui. Il peut s'avérer pertinent de comparer des souches bactériennes pour établir leur relation clonale.

Les analyses PFGE (Pulsed Filed Gel Electrophoresis) permettent une comparaison des génomes par l'établissement de profils de macrorestriction par l'enzyme *XbaI*, selon le protocole de Ribot *et al.*, 2006

(Ribot EM, Fair MA, Gautom R, Cameron DN, Hunter SB, Swaminathan B, Barrett TJ. 2006. Standardization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for the subtyping of Escherichia coli O157:H7, Salmonella, and Shigella for PulseNet. Foodborne Pathog Dis 3:59-67).

Le client peut contacter le LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC (voir Q2) pour obtenir plus de renseignements sur la caractérisation par PFGE de souches bactériennes.



 Laboratoire d'études Microorganismes Alimentaires Pathogènes VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 17/25

### 37. Le LMAP/ LNR *E. coli* y compris STEC peut-il mettre à disposition des souches bactériennes ?

Oui, le laboratoire peut mettre à disposition des souches. Il convient de prendre contact avec le LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC (voir Q2) pour en connaître les modalités.

Ces souches peuvent être échangées ou vendues selon le contexte d'étude. Un accord signé de transfert de matériel biologique (MTA) est à prévoir.

Voir aussi Q 52 : Le groupe de danger des STEC et Q53 : Comment manipuler des STEC en laboratoire.

### 38. C\*. A qui appartiennent les souches isolées au LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC ?

Les souches isolées au laboratoire appartiennent au LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC.

Il est cependant possible pour les clients de récupérer des souches isolées d'échantillons qu'ils ont adressés au laboratoire.

Pour cela, prendre contact avec le LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC (voir Q2 et Q36).

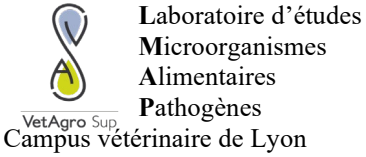
### 39. Quel usage est fait des souches isolées par le LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC ?

Les souches isolées peuvent être utilisées à des fins de santé publique ainsi que dans le cadre des missions régaliennes du LNR, notamment des projets de recherche.

### 40. Le LNR est-il associé à un centre de ressources biologiques ?

Oui, le LMAP/LNR *E. coli* y compris STEC est associé au Centre de Ressources Biologiques Environnement Microbiologie Lyon (CRB-EML). Dans ce cadre-là, certaines souches d'intérêt publiques sont disponibles.

Le site internet est disponible sur le lien suivant : <http://www.eml-brc.org/>

	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 18/25

## LES STEC

### 41. Que signifie les acronymes STEC/EHEC ?

STEC : Shigatoxin producing *Escherichia coli*, en anglais, *Escherichia coli* producteurs de Shigatoxines, en français.

EHEC : *Escherichia coli* entero hémorragiques.

Toutes souches bactériennes d'*Escherichia coli* possédant au moins un gène codant pour une toxine Stx, quels que soient les signes cliniques associés, sont des STEC.

### 42. Qu'est ce qu'un STEC hautement pathogène (ou EHEC) ?

Toutes les définitions et informations sont disponibles dans les Avis de l'ANSES 2016-SA-0121, 2010-SA-0031 et précisé par l'avis de l'AFSSA du 15 juillet 2008 (voir Q50).

A ce jour, l'ANSES définit les STEC hautement pathogènes (ou EHEC) comme des souches d'*Escherichia coli* du TOP5 (O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28) possédant les gènes de virulence *eae* et *stx1/2*.

EHEC O157:H7 = *rfbE*<sub>O157</sub>, *fliC*<sub>H7</sub>, *stx1* et/ou *stx2*, *eae*-gamma, (OI#122).

EHEC O26:H11 = *wzx*<sub>O26</sub>, *fliC*<sub>H11</sub>, *stx1* et/ou *stx2*, *eae*-bêta, (OI#122).

EHEC O145:H28 = *ihp1*<sub>O145</sub>, *fliC*<sub>H28</sub>, *stx1* et/ou *stx2*, *eae*-gamma, (OI#122).

EHEC O103:H2 = *wzx*<sub>O103</sub>, *fliC*<sub>H2</sub>, *stx1* et/ou *stx2*, *eae*-epsilon, (OI#122).

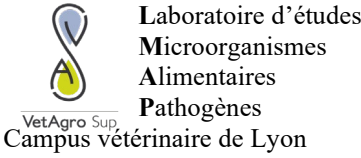
EHEC O111:H8 = *wbd1*<sub>O111</sub>, *fliC*<sub>H8</sub>, *stx1* et/ou *stx2*, *eae*-thêta, (OI#122).

L'analyse des données épidémiologiques mondiales montre que les souches d'*E. coli* appartenant aux sérotypes O157:H7, O26:H11, O111:H8, O103:H2 et O145:H28 (et leurs dérivés non mobiles) sont les souches les plus souvent associées à des signes cliniques graves (SHU) et aux épidémies. Ces souches sont dites souches STEC hautement pathogènes (ou EHEC selon la saisine ANSES 2017).

Les souches STEC dites hautement pathogènes (EHEC Top 5) sont responsables de plus de 70% des cas de SHU recensés chaque année dans le monde (données épidémiologiques mondiales analysées sur une période de 15 ans).

Néanmoins, d'autres souches STEC moins fréquentes et possédant d'autres caractéristiques (appartenant à d'autres sérogroupes comme O45 ou O121 ou ne possédant pas le gène *eae* par exemple) peuvent être responsables de cas humains. Aussi, même si toutes les souches STEC ne sont pas pathogènes chez l'Homme, toute souche STEC isolée dans un aliment et hors contexte clinique peut être potentiellement pathogène, principalement en fonction de l'état de santé du consommateur et du type d'aliment consommé (aliments prêts à consommer vs aliments destinés à être consommés après un traitement technologique tel que la pasteurisation, la cuisson... réduisant la quantité voire éliminant toutes bactéries éventuellement présentes).

De plus, étant donné la grande plasticité génomique des *E. coli*, de nouveaux réarrangements génétiques (notamment par l'acquisition de gènes *stx*) peuvent être l'origine de l'émergence de nouvelles souches pathogènes comme la souche STEC entéro-aggrégative O104:H4, à l'origine des épidémies allemandes et françaises de mai/juin 2011.

	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 19/25

### 43. Qu'est ce qu'une souche AEEC ?

Toutes les souches possédant le gène *eae* (et ne possédant pas le gène *stx*), quels que soient les signes cliniques associés, appartiennent au groupe des *E. coli* attachants et effaçants AEEC ou EPEC.

### 44. Quelle nuance y a-t-il entre un STEC pathogène et hautement pathogène ?

Lors de l'isolement d'une souche STEC, hors d'un contexte clinique, notamment dans les aliments ou l'environnement, il convient de considérer que cette souche peut être :

- « Pathogène » lorsqu'elle possède les gènes de virulence *stx1* et/ou *stx2* et *eae*.
- « Hautement pathogène » lorsqu'elle possède les gènes de virulence *stx1* et/ou *stx2* et *eae* et qu'elle appartient à l'un des 5 sérotypes suivants ou dérivés non mobiles : O157:H7, O26:H11, O145:H28, O103:H2 et O111:H8.

### 45. Quel lien y a-t-il entre toutes ces appellations différentes des souches d'*Escherichia coli* ?

Le diagramme de Venn illustre le système de classification actuel des EPEC/EHEC/STEC/AEEC à partir des signes cliniques et des facteurs de virulence associés aux souches d'*E. coli* (saisines 2008-SA-0122 et 2010-SA-0031).

Liste des abbreviations:

AEEC: « Attaching and effacing *E. coli* »

EHEC : « Enterohaemorrhagic *E. coli* »

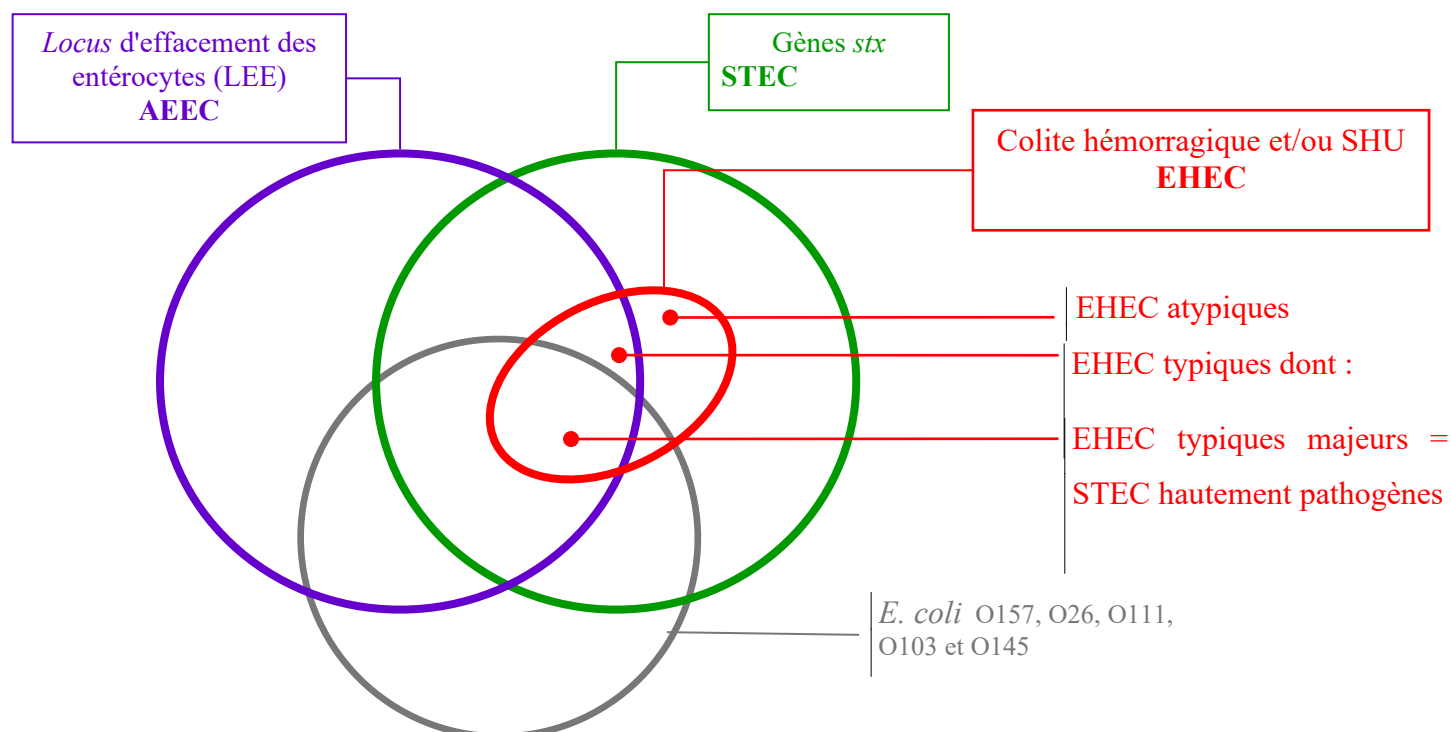
LEE : « Locus of enterocyte effacement »

SHU : syndrome hémolytique et urémique

STEC: « Shiga toxin-producing *E. coli* »

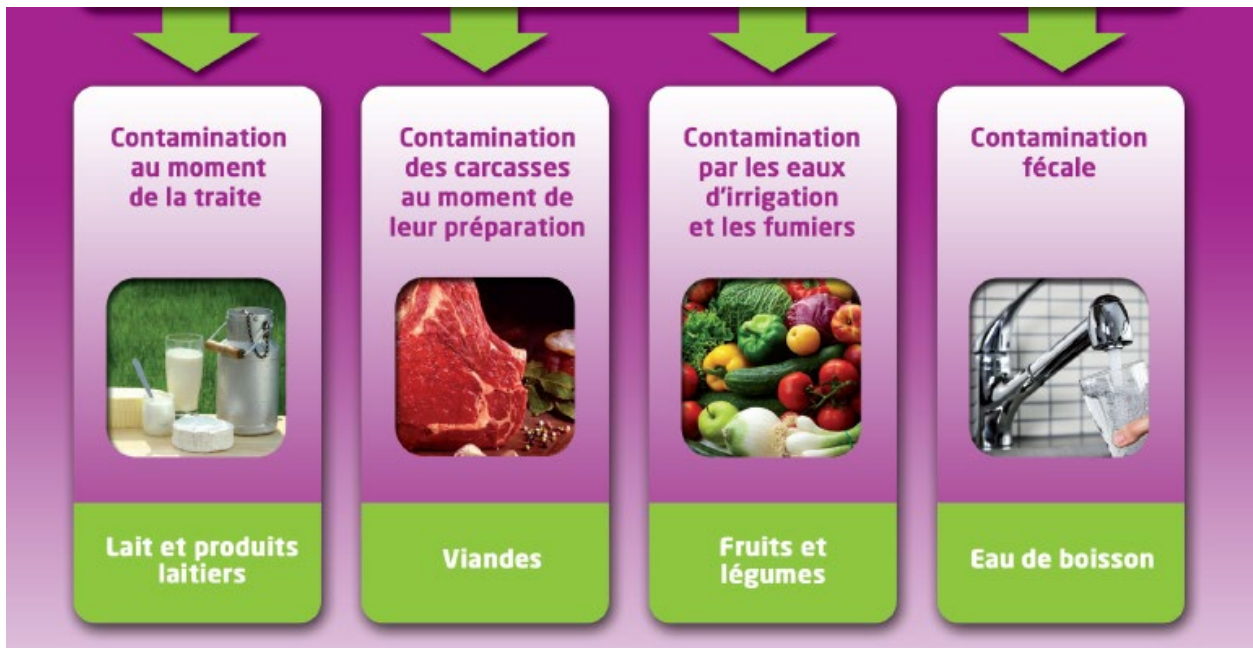
*Stx* : Gènes codant pour les Shiga-toxines

Les surfaces des disques et intersections ne sont pas proportionnelles à la prévalence des différents types d'*E. coli*.



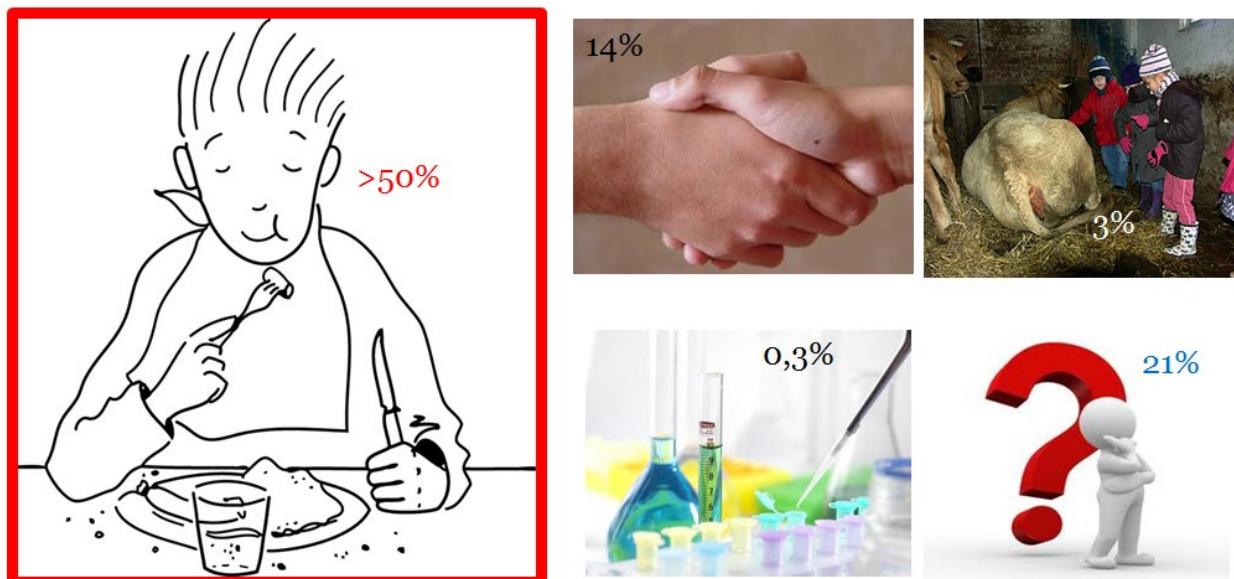
### 46. Quelles sont les principales voies de contamination des STEC ?

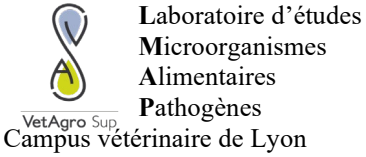
Le tube digestif des ruminants est le principal réservoir de STEC. Les ruminants sont dits « porteurs sains ». La contamination des aliments et de l'environnement peut se faire de diverses façons (voir dessins ci-dessous).



(Source CNIV 2012)

La principale source de contamination des STEC reste la consommation d'aliments crus ou mal cuits. Mais l'Homme peut se contaminer de différentes façons (voir dessins ci-dessous).



	Enregistrement	<b>ANA.E.06</b>
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 21/25

#### 47. Quels sont les symptômes en cas d'ingestion de STEC pathogènes (EHEC) ?

Les principaux symptômes lors d'ingestion de STEC pathogènes (EHEC) sont :

- Des diarrhées aqueuses pouvant évoluer vers des colites hémorragiques chez des sujets généralement apyrétiques ou subfébriles,
- Le Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU), caractérisé par une insuffisance rénale aigüe, une anémie hémolytique et une diminution du nombre de plaquettes sanguines (thrombopénie),
- Le purpura thrombotique thrombocytopénique (PPT) caractérisé par l'apparition de signes neurologiques sous la forme d'anémies hémolytiques micro-angiopathiques et thrombotiques associées à une apparition de fièvre et des dysfonctionnements rénaux. Le PTT reste néanmoins rare suite à une infection à STEC.

#### 48. Pourquoi la recherche des STEC pathogènes est un enjeu majeur en santé publique ?


Chaque année, en moyenne 100 cas de SHU sont recensés par les centres hospitaliers en France. Les SHU sont responsables de graves séquelles chez les malades et entraînent parfois la mort.

Le Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella* de l'Institut Pasteur rédige chaque année un bilan sur les souches STEC pathogènes isolées dans les cas humains, disponible au lien suivant : <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/escherichia-coli-shigella-salmonella/rapports-d-activite>.

## 49. Quels sont les principales épidémies à STEC recensées à travers le monde ? (point au 7/03/19)

Année	Pays	Sérogroupe de STEC	Nb de malades (SHU et décès)	Aliments suspectés ou confirmés	Référence
1982	USA	O157:H7	46	Viande hachée de bœuf	(Riley et al., 1983)
1984	USA	O157:H7	34 (4 décès)	Hamburger	(Ryan et al., 1986)
1991	Canada	O157:H7	152 (22 SHU et 2 décès)	Viande de caribou et bœuf haché	(Orr et al., 1994)
1992-93	USA	O157:H7	501 (45 SHU et 3 décès)	Hamburger	(Bell et al., 1994)
1994	USA	O157:H7	23 (2 SHU)	Salami sec	(Tilden et al., 1996)
1994	Angleterre	O157:H7	70 (9 SHU et 1 PTT)	Lait pasteurisé	(Upton and Coia, 1994)
1995	USA	O157:H7	>70 (1 SHU)	Laitue	(Ackers et al., 1998)
1995	Australie	O111:H-	23 SHU (1 décès)	Saucisse sèche fermentée	(Paton et al., 1996)
1995	Angleterre	O157	14 (2 SHU)	Plats préparés à base de viande crue (bœuf et porc)	(Stevenson and Hanson, 1996)
1996	Japon	O157:H7	9451 (12 décès)	Radis blanc	(Michino et al., 1999)
1996	Canada	O157:H7	70 (14 SHU et 1 décès)	Jus de pomme non pasteurisé	(Cody et al., 1999)
1996	USA	O157:H7	14 (3 SHU)	Jus de pomme frais non pasteurisé	(Hilborn et al., 2000)
1996	Ecosse	O157:H7	512 (34 SHU et 17 décès)	Viande de bœuf	(Cowden et al., 2001)
1997	Ecosse	O157:H-	37	Gâteau à la crème	(O'Brien et al., 2001)
1997	USA	O157:H7	108 (4 SHU)	Germe de luzerne	(Breuer et al.)
1998	USA	O157:H7	55	Fromage frais caillé	(CDC, 2001)
2000	Canada	O157:H7	2300 (7 décès)	Eau de boisson	(Hrudey et al., 2003)
2000	Angleterre	O157	6 (1 SHU)	Lait non pasteurisé	(Baylis, 2009)
2001	Canada	O157:H7	5 (2 SHU)	Lait de chèvre non pasteurisé	(McIntyre et al., 2002)
2002	France	O148:H8	11 (2 SHU)	Viande de mouton	(Espici et al., 2006a)
2005	France	O157:H7	70 (17 SHU)	Viande de bœuf	(King et al., 2009)
2005	France	O26	6 SHU	Camembert	(Espici et al., 2008)
2005	France	O157	2 (1 SHU)	Fromage au lait cru de chèvre	(Espici et al., 2006b)
2005	Suède	O157:H7	120 (7 SHU)	Laitue	(Söderström et al., 2005)
2006	Norvège	O103:H25	17 (10 SHU et 1 décès)	Saucisse fermentée	(Sekse et al., 2009)
2006	USA	O157:H7	199 (31 SHU et 3 décès)	Epinards	(CDC, 2006)
2009	France	O123:H-	2 (1 SHU)	Hamburger	(L. A. King et al., 2010)
2010	USA	O145	19	Laitue	(CDC, 2010)
2011	Allemagne	O104:H4	3816 (845 SHU et 54 décès)	Graines germées de Fenugrec	(Beutin and Martin, 2012)
2011	France	O104:H4	15 (9 SHU)	Graines germées de Fenugrec	(Grad et al., 2012)
2011	France	O157:H7	19 SHU	Viande hachée de bœuf	(InVS, 2011)
2011	Japon	O111:H8	181 (34 SHU, 5 décès)	Viande de bœuf	(Watahiki et al., 2014)
2012	France	O157:H7	4 SHU	Viande hachée de bœuf	(InVS, 2012)
2013	Suède	O157:H7	28 (1 SHU)	Salade	(Edelstein et al., 2014)
2014	USA	O157:H7	4 (1 décès)	Viande de bœuf	(CDC, 2016)

Liste non exhaustive.

 Laboratoire d'études Microorganismes Alimentaires Pathogènes VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 23/25

## 50. Qui analyse le danger et le risque « STEC » ?

- L'analyse du risque, c'est à dire la définition du danger (le type de souches à rechercher dans un aliment), est de la responsabilité du gestionnaire du risque (les institutions), qui doit donc le définir en amont de la demande d'analyse.
- L'analyse du danger est réalisée par les professionnels qui fabriquent et vendent le produit.

Bien sûr, le LMAP en tant que LNR *E. coli* LNR *E. coli* y compris STEC peut apporter une expertise scientifique pour aider les gestionnaires du risque et/ou les professionnels qui le souhaitent. Néanmoins, ces analyses demeurent bien de leur responsabilité.

## 51. Quels sont les documents officiels relatifs aux STEC (au 1<sup>er</sup> juillet 2019) ?

### ✓ Le rapport de l'ANSES :

Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) – AFSSA - Avril 2003 (pdf) : <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC-Ra-STEC.pdf>

### ✓ Les avis de l'ANSES :

7 novembre 2006 : **Saisine 2006-SA-0282** -Note AFSSA relative à l'évaluation de la contamination par *Escherichia coli* O157:H7 dans la filière de production des viandes hachées.

15 juillet 2008 : **Saisine 2008-SA-0122** - Avis AFSSA relatif à la détection des STEC considérés comme hautement pathogènes pour l'homme.

1 décembre 2008 : **Saisine 2008-SA-0122**- Avis AFSSA relatif aux méthodes disponibles pour détecter les STEC considérés comme hautement pathogènes pour l'homme selon l'avis de l'afssa du 15 juillet 2008.

27 mai 2010 : **Saisine 2010-SA-0031** - Avis AFSSA relatif à la pertinence d'une révision de la définition des STEC pathogènes, précisée par l'avis Afssa du 15 juillet 2008.

11 janvier 2011 : **Saisine 2010-SA-0031** - Avis ANSES relatif à la révision de la définition des *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC) majeurs typiques, à l'appréciation quantitative des risques liés à ces bactéries à différentes étapes de la chaîne alimentaire, selon les différents modes de consommation des steaks hachés, et à la prise en compte du danger lié aux *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC) dans les aliments.

6 mai 2014 : **Saisine 2013-SA-0223** - Avis ANSES relatif à la définition d'un plan d'échantillonnage pour la détection des *E. coli* O157:H7 dans le cadre des autocontrôles en filière hachée bovine.

18 mai 2017 : **Saisine 2016-SA-0121** - Avis ANSES relatif à la détection des STEC considérés comme hautement pathogènes en filière viande hachée bovine

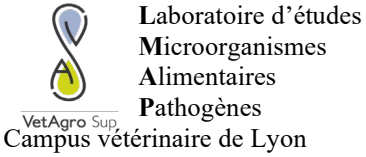
### ✓ Les notes de service/Instruction technique de la DGAI :

4 mars 2008 : **Note de service -DGAI/SDSSA/N2012-8181** – Production de viandes hachée et préparations de viande dans les établissements agréés ou dérogatoires à l'agrément.

7 juillet 2009 : **Note de service - DGAL/MUS/N2009-8188** - Révision et publication du Guide de gestion des alertes d'origine alimentaire entre les exploitants de la chaîne alimentaire et l'administration lorsqu'un produit ou un lot de produits est identifié. Annexe XI : Fiche technique *Escherichia coli* STEC et AECC.

23 décembre 2015 : **Instruction technique - DGAL/MUS/2015-888** - Mesures de gestion relatives aux viandes hachées dans lesquelles des souches de STEC considérées comme hautement pathogènes ont été détectées.

22 août 2018 : **Instruction technique - DGAL/SDASEI/2018-626** - Dispositif de certification sanitaire des produits laitiers à l'exportation vers le Canada, ainsi que les conditions particulières pour exporter vers ce pays certains fromages au lait non pasteurisé affinés moins de 60 jours.

	Enregistrement	ANA.E.06
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 24/25

2 mai 2019 : **Instruction technique - DGAL/SDSSA/2019-365** - Instruction portant un message de prévention visant à éviter la consommation de fromages au lait cru par les enfants de moins de 5 ans.

8 juillet 2019 : **Instruction technique - DGAL/MUS/2019-509** : Guide d'aide à la gestion des alertes d'origine alimentaire (version révisée du 2 juillet 2019 avec modification de l'annexe XI) - Allègement concernant la gestion des AEEC dans la filière lait et viande hachée.

✓ **Les plans de surveillance nationaux STEC programmés par la DGAI :**

La liste est mise à jour sur le site de la DGAI : <https://agriculture.gouv.fr/mots-cles/dgal>

✓ **Les normes ou spécifications techniques :**

Méthode pour rechercher les *E. coli* O157 dans les aliments : NF EN ISO 16654 (juillet 2001) - Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157

Méthode pour rechercher les STEC dans les aliments : XP CEN ISO/TS 13136 (décembre 2012) - Microbiologie des aliments - Méthode basée sur la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) en temps réel pour la détection des micro-organismes pathogènes dans les aliments Méthode horizontale pour la détection des *Escherichia coli* producteurs de Shigatoxines (STEC) et la détermination des sérogroupes O157, O111, O26, O103 et O145.

✓ **Les méthodes reconnues par la DGAI dans le cadre des analyses officielles :**

Méthode LMAP\_DGAL\_Screening PCR STEC\_al\_2

LMAP/DGAL/confirmationisolementSTEC-al.1

Liste disponible sur le lien : <https://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-reconnus-methodes-officielles-en-alimentation>

✓ **Les méthodes du laboratoire national de référence européen (LRUE) :**

EURL-VTEC\_Method\_11\_Rev0 - Identification of the STEC serogroups mainly associated with human infections by Real-Time PCR amplification of O-associated genes

Liste des méthodes disponibles sur <http://old.iss.it/vtec/index.php?lang=2&anno=2019&tipo=3>

## 52. Y a-t-il des critères microbiologiques sur les STEC dans les aliments ?

Il n'existe pas de critères microbiologiques (critère de sécurité) relatifs aux STEC dans les matrices alimentaires RÈGLEMENT (CE) No 2073/2005 DE LA COMMISSION exceptés dans les graines et les graines germées COMMISSION REGULATION (EU) No 209/2013 (mars 2013).


## 53. Quel est le groupe de danger des STEC ?

Les STEC sont des microorganismes pathogènes de niveau de sécurité biologique 3, T(\*) (liste fixée selon arrêté du 18 juillet 1994, modifié par arrêtés du 17 avril 1997 et du 30 juin 1998, modifiées par directives européennes du 30 juin 1995, 7 octobre et 26 novembre 1997 et 18 septembre 2000).

T= Agent biologique susceptible de produire des toxines, (\*) = risque d'infection limité car normalement pas infectieux par l'air.

Les agents biologiques du groupe 3 peuvent provoquer une maladie grave chez l'Homme et constituent un danger sérieux pour les travailleurs. Le risque de leur propagation dans la collectivité est élevé. Il n'existe généralement ni prophylaxie ni traitement efficace (directive 2000/54/CE, code du travail R. 4421-3). C'est le cas des STEC, où l'utilisation d'antibiotique est controversée.



 <b>Laboratoire d'études Microorganismes Alimentaires Pathogènes</b> VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon	Enregistrement	<b>ANA.E.06</b>
	FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ)	Version 15 Page 25/25

#### **54. Comment doit-on manipuler les STEC pathogènes et hautement pathogènes dans les laboratoires ?**

Il appartient à chaque laboratoire manipulant des STEC de faire sa propre analyse de risque quant à la manipulation de ce pathogène.

Le bilan de l'AFSSA relatif aux STEC de 2003, indique que dans l'arrêté du 30 juin 1998, les souches de *E. coli* cytotoxiques, sont classées en niveau de confinement ou niveau de sécurité biologique 3 (agent biologique pouvant provoquer une maladie grave chez l'homme / danger sérieux pour les travailleurs / propagation possible dans la collectivité / prophylaxie ou traitements efficaces existants) impliquant des exigences importantes en terme d'aménagement de laboratoire. Toutefois, la note 8 de l'annexe III de la directive 2000/54/CE indique que ces souches d'*E. coli* cytotoxiques présentent un risque d'infection limité puisqu'ils ne sont normalement pas infectieux par l'air.

Ainsi, dans le but de déterminer si, dans des conditions particulières il peut être renoncé à certaines de ces mesures, les Etats-membres doivent évaluer les mesures de confinement à appliquer à ces agents biologiques compte-tenu de la nature des activités spécifiques en question et de la quantité de l'agent biologique concerné. Sous cette condition d'avoir identifié, évalué les risques associés à cet agent biologique et mis en place des mesures de prévention adaptées, les Etats-membres ont donc la possibilité d'assouplir certaines mesures applicables au niveau de confinement 3 pour la recherche des STEC. Ce niveau est appelé 3\* (arrêté du 30 juin 1998) ou 3\*\* (directive 2000/54/CE).