

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 8 novembre 2018

AVIS

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

**relatif à une demande de compléments à l'avis de l'Anses du 18 mai 2017 concernant la
détection des *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) en filière viande hachée bovine**

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 27 juin 2018 par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) pour la réalisation de l'expertise suivante : Demande de compléments à l'avis de l'Anses du 18 mai 2017 concernant la détection des *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) en filière viande hachée bovine.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

L'avis de l'Anses du 18 mai 2017 relatif à la saisine n°2016-SA-0121 démontrait l'intérêt de généraliser à toutes les mêlées de viande hachée bovine le prélèvement et l'analyse d'un échantillon de 25 g. Dans l'hypothèse d'un facteur b (caractérisant le degré d'hétérogénéité de la contamination) supérieur ou égal à 1, ce plan d'échantillonnage permet de détecter 95% des mêlées dont la contamination est supérieure ou égale à 1 ufc/g.

Cet avis de l'Anses a été suivi d'une réflexion au sein de la DGAL sur les mesures réglementaires et infra-réglementaires à mettre en œuvre pour améliorer la gestion des risques de contamination. Les échanges avec les professionnels de la filière ont conduit à définir plusieurs scénarios dont la présente saisine demande de comparer les performances.

En accord avec la DGAL, les questions instruites sont les suivantes :

« 1. S'agissant de l'avis de l'Anses du 18 mai 2017 :

- a) la figure 11 page 32 présente la relation entre le risque moyen de SHU et le niveau moyen de contamination des mêlées : quelle est l'équation de cette courbe sur l'intervalle compris entre 10^{-1} et 10^4 ufc/portion (100 g), soit entre 10^{-3} et 10 ufc/g ?
- b) l'évaluation des niveaux de contamination des mêlées encadrantes (point 3.4.4, pp 33 sqq) vous a conduit à simuler la production de 50 000 mêlées : quelle est la répartition de ces mêlées par classes de niveaux de contamination ?

2. En cas d'alerte, le plan d'échantillonnage est renforcé pour atteindre, lorsque cela est possible, n = 30 prélèvements par mûlée. Une thèse de doctorat (Vimont, mars 2007) avait calculé le lien entre le résultat de ces 30 analyses et le niveau de contamination estimé :

Nb d'échantillons positifs	0	1	3	5	7	11	15	19	23	25	27	29	30
Concentration estimée en cellules par gramme	NC	0,001	0,004	0,007	0,011	0,018	0,028	0,040	0,058	0,072	0,092	0,136	NC

NC : non calculable

- Ces données sont-elles cohérentes avec les modèles mathématiques actuels ? A défaut, pouvez-vous les actualiser ?
- Quels niveaux de contamination pourraient être estimés en limitant l'extension des analyses à une échantillothèque regroupant n = 10 prélèvements par mûlée ?
- Même question avec n = 5 par mûlée. »

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisé (CES) « Evaluation des risques biologiques dans les aliments » (BIORISK) lors de la réunion du 17 octobre 2018 sur la base d'un rapport initial rédigé par un rapporteur. L'expertise s'est appuyée sur le modèle développé par l'Anses dans le cadre de la saisine 2016-SA-0121.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES BIORISK

3.1. Rappel de la structure du modèle de l'avis de l'Anses du 18 mai 2017

Le modèle de l'avis de l'Anses du 18 mai 2017 simule les différentes étapes de la fabrication de steaks hachés depuis l'abattage des bovins jusqu'à la sortie d'usine des produits finis puis leur consommation. L'objectif du modèle est d'estimer et de comparer l'efficacité de différents plans d'échantillonnage et des mesures de gestion proposés par la DGAL sur la réduction de la probabilité de survenue de cas de SHU (syndrome hémolytique et urémique) liés à la consommation de steaks hachés de viande de bœuf. L'originalité de ce modèle consiste à tenir compte (i) des différents types de souillures pouvant contaminer les carcasses entrant dans la fabrication de viandes hachées, (ii) de la répartition des unités de viande pour haché (VPH) entre les mûlées (

Figure 1) et (iii) des mûlées dites « encadrantes ».

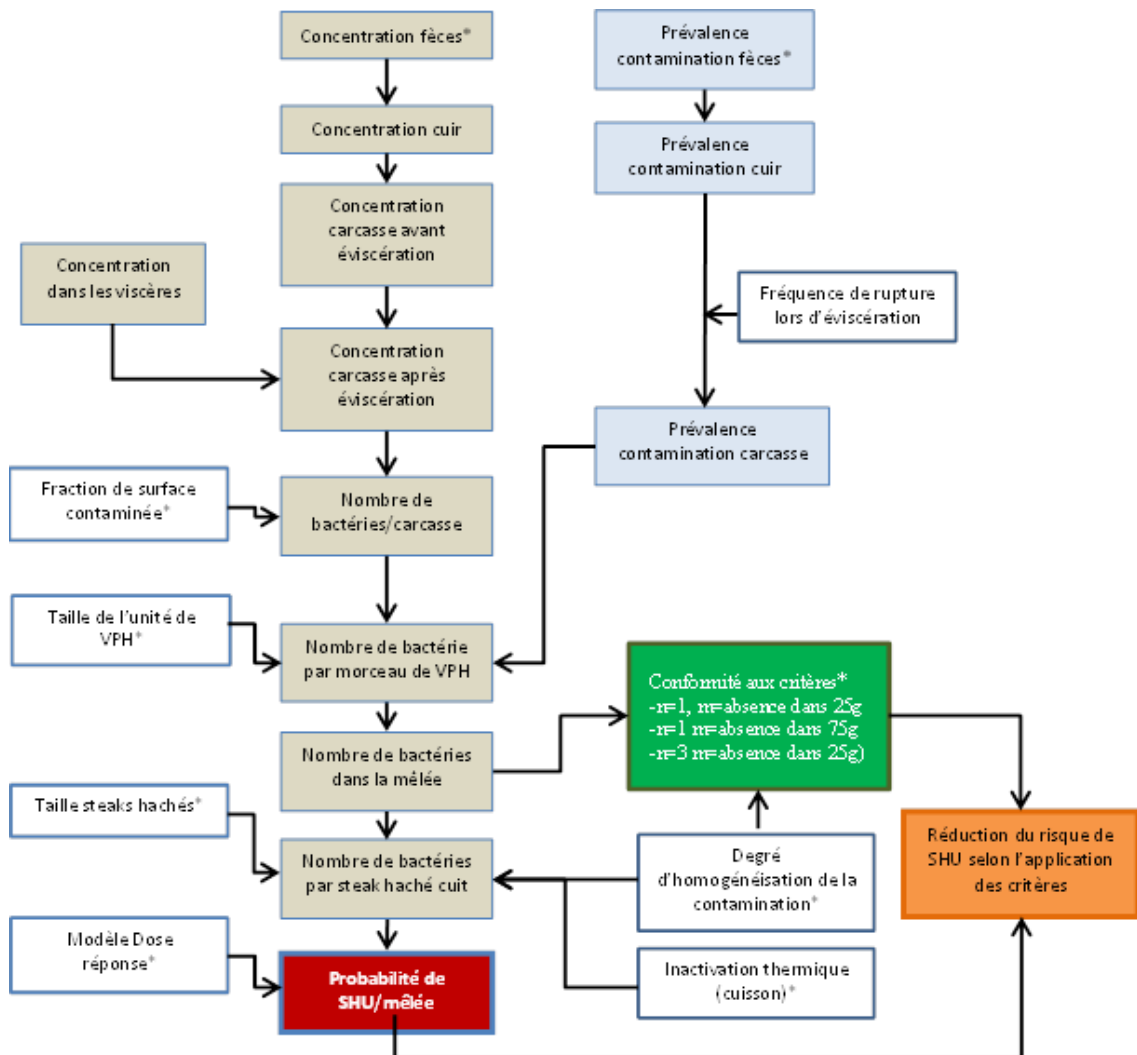


Figure 1. Structure générale du modèle de l'avis de 18 mai 2017 adaptée du modèle de l'avis de l'Anses 2014. Encadrés bleus : prévalence de la contamination en EHEC ; encadrés gris : quantité/concentration de la contamination ; encadrés rouge/vert/orange : sorties du modèle. Les paramètres marqués du symbole * sont modifiés par rapport au modèle de l'avis de 2014

3.2. Compléments à l'avis de l'Anses du 18 mai 2017

3.2.1. Relation entre le niveau de contamination dans les steaks et le risque moyen par portion

Le risque moyen de SHU lié à la consommation de steaks hachés de 100 g a été estimé par simulation en fonction de différents niveaux théoriques de contamination des mâtées. Pour cela, la relation dose-réponse intègre les quantités consommées et les habitudes de cuisson en fonction de l'âge des consommateurs. La relation linéaire entre le \log_{10} du risque et celui du niveau de contamination des mâtées en ufc/100 g est représentée dans la figure 2 (Figure 11 de l'avis de 2017).

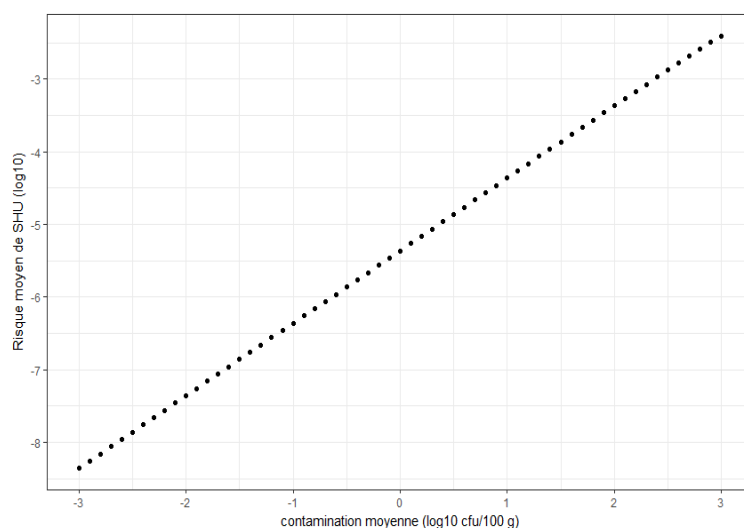


Figure 2. Risque moyen de SHU en fonction du niveau de contamination des mâtées (ufc/100g) (échelles logarithmiques décimales)

Cette figure repose sur des simulations numériques du modèle d'évaluation du risque. Plutôt que de fournir une équation basée sur les points de la figure, l'abaque ci-après (Tableau 1) permet de déterminer la concentration dans les steaks hachés avant cuisson permettant de respecter les niveaux de risque moyen. Ces résultats de niveau de risque sont conditionnels aux pratiques de cuisson considérées dans ce modèle. Cet abaque est indépendant de la valeur de b caractérisant l'hétérogénéité de la contamination dans les mâtées.

Tableau 1. Risque moyen de SHU en fonction du niveau de contamination des mêlées (ufc/100 g)

Contamination moyenne des mêlées (log10 cfu/100 g)	Risque moyen de SHU (log10)
-1	-6,4
-0,9	-6,3
-0,8	-6,2
-0,7	-6,1
-0,6	-6,0
-0,5	-5,9
-0,4	-5,8
-0,3	-5,7
-0,2	-5,6
-0,1	-5,5
0	-5,4
0,1	-5,3
0,2	-5,2
0,3	-5,1
0,4	-5,0
0,5	-4,9
0,6	-4,8
0,7	-4,7
0,8	-4,6
0,9	-4,5
1	-4,4
1,1	-4,3
1,2	-4,2
1,3	-4,1
1,4	-4,0
1,5	-3,9
1,6	-3,8
1,7	-3,7
1,8	-3,6
1,9	-3,5
2	-3,4
2,1	-3,3
2,2	-3,2
2,3	-3,1
2,4	-3,0
2,5	-2,9
2,6	-2,8
2,7	-2,7

Contamination moyenne des mêlées (log10 cfu/100 g)	Risque moyen de SHU (log10)
2,8	-2,6
2,9	-2,5
3	-2,4
3,1	-2,3
3,2	-2,2
3,3	-2,1
3,4	-2,0
3,5	-2,0
3,6	-1,9
3,7	-1,8
3,8	-1,7
3,9	-1,7
4	-1,6

3.2.2. Niveaux de contamination des mêlées encadrantes

Sous l'hypothèse d'une communauté de matière, les niveaux de contamination des mêlées produites à la suite l'une de l'autre ne sont pas indépendantes.

Afin d'évaluer le niveau de risque associé à ces mêlées encadrantes, une modélisation du processus de fabrication de mêlées à partir de plusieurs unités de VPH est proposée dans l'avis de 2017. Ce processus, quoique simplifié, s'inspire des données collectées dans les réponses aux questionnaires d'audition des professionnels. Le scénario de fabrication retenu implique que chaque méele contient entre 3 à 6 unités de VPH différentes et qu'une unité de VPH rentre dans la composition de plusieurs mêlées. 50 000 mêlées produites selon ce scénario ont été simulées à partir d'unités de VPH pour la période de plus forte prévalence chez les bovins.

Les distributions cumulatives des niveaux de contamination pour des mêlées trouvées positives avec un échantillonnage systématique $n=1$, pour les mêlées encadrantes à ces mêlées positives, ainsi que les mêlées éloignées (d'au moins 5 mêlées) a été présentée (Figure 3).

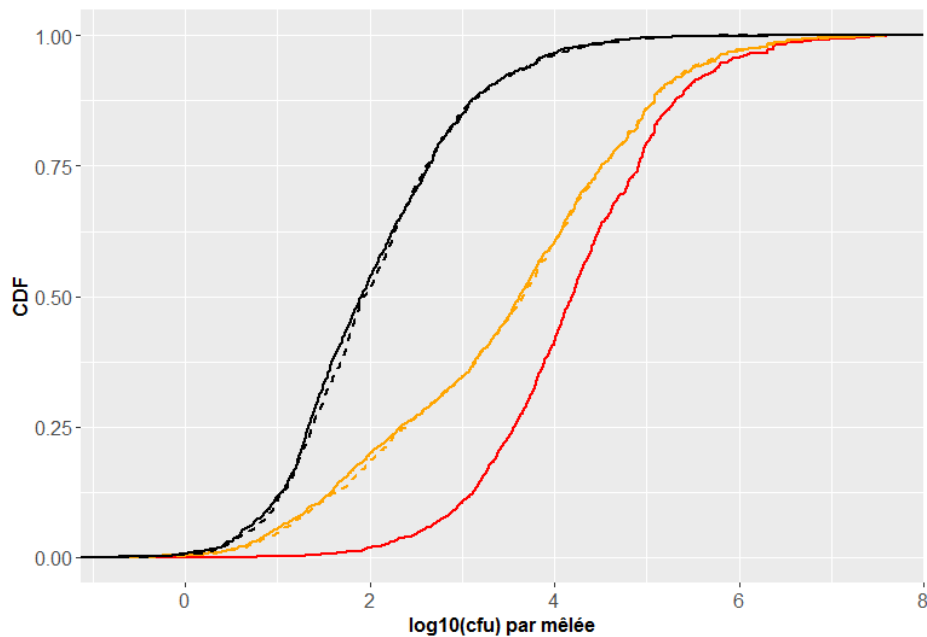


Figure 3. Distributions cumulatives (CDF) des niveaux de contamination de différentes mêlées. Rouge= répartition pour les mêlées positives dans le cadre de l'échantillonnage systématique. Orange= répartition pour les mêlées encadrantes (directement précédent --, ou suivant -). Noir = répartition des mêlées éloignées d'au moins 5 mêlées des mêlées positives dans le cadre de l'échantillonnage systématique.

La répartition des mêlées encadrantes par classe de niveaux (en \log_{10} ufc/méele de 1 tonne) est présentée dans la figure 4. Le 5^{ème} et 95^{ème} percentile de ces mêlées encadrantes sont respectivement de 1,0 et 5,9 \log_{10} ufc/1000 kg.

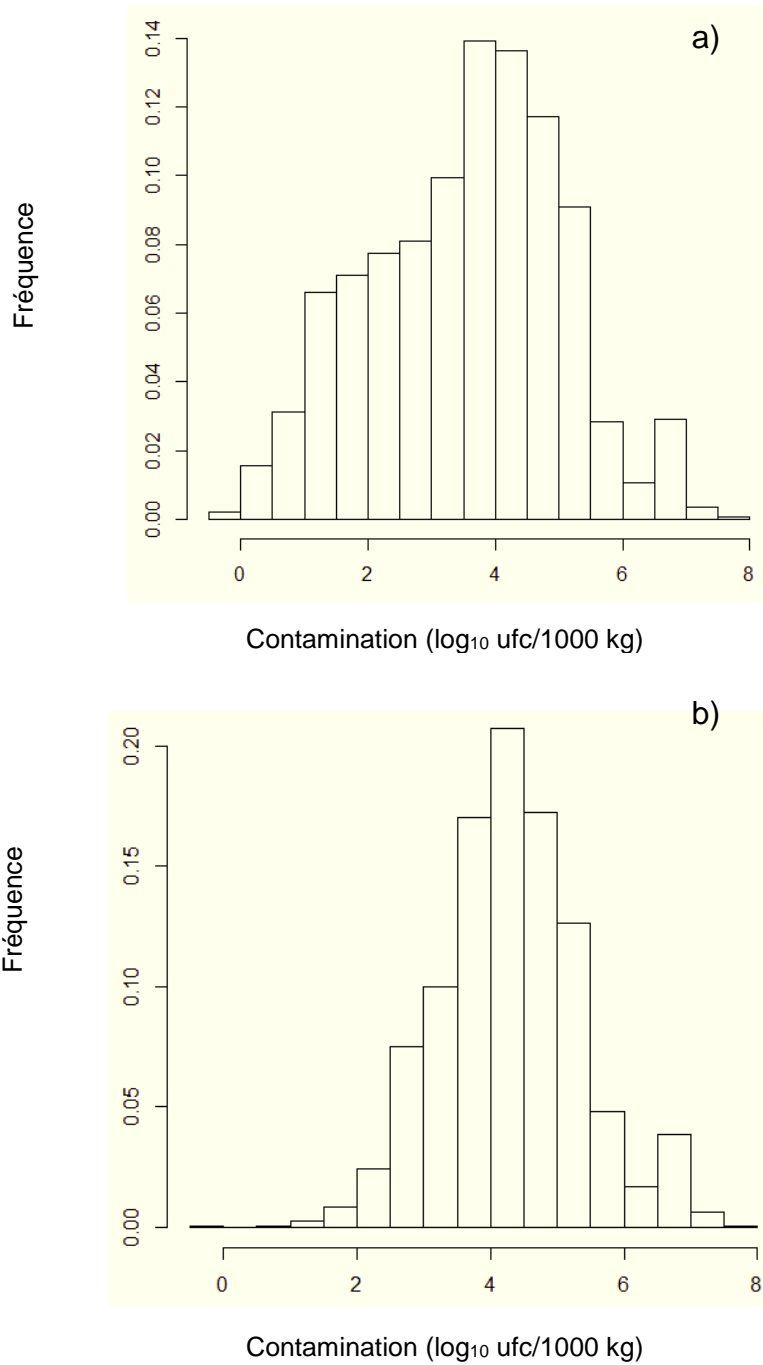


Figure 4. (a) Répartition des niveaux de contamination(en log₁₀ ufc/1000kg) des mêlées encadrantes (n-1 / n+1). **(b)** Répartition des niveaux de contamination(en log₁₀ ufc/1000kg) des mêlées positives dans le cadre de l'échantillonnage systématique.

3.3. Estimation de la concentration en EHEC d'une m le lors d'un échantillonnage renforcé

Le tableau présenté dans les questions de la saisine donnant la concentration estimée en fonction des résultats obtenus pour un échantillonnage n=30 figure également dans une note d'appui scientifique et technique de l'Afssa publiée en 2007 (Afssa, 2007).

Si l'on considère que la répartition est homogène, la concentration de EHEC (C_{EHEC}) peut être déduite du nombre d'échantillons positifs (n_p) de masse m_e parmi le nombre d'échantillons testés (n) (Nauta, 2005) :

$$C_{EHEC} = \frac{\ln\left(1 - \frac{n_p}{n}\right) \cdot \frac{1}{\ln\left(1 - \frac{1}{n}\right)}}{m_e \cdot n}$$

Equation (1)

Sous l'hypothèse d'une contamination hétérogène (avec l'hypothèse que $b=1$), la concentration peut être estimée de la façon suivante (Nauta, 2005) :

$$C_{EHEC} = \frac{\frac{n}{1 - \frac{n_p}{n}} - n + 1}{m_e \cdot n}$$

Equation (2)

Le tableau 2 donne la concentration estimée pour n=30 dans la situation d'une contamination homogène ou hétérogène ($b=1$) d'après ces deux relations. Les données obtenues dans le cas d'une contamination homogène sont en accord avec les données de l'avis de 2007. Le tableau 2 propose une estimation de la contamination dans le cas d'une contamination hétérogène ($b=1$).

Tableau 2. Estimation de la concentration en EHEC en ufc/g d'après le nombre d'échantillons de 25 g positifs observés parmi n=30

n_p	$C_{EHEC} (b=1)$	$C_{EHEC} (homogène) - Afssa 2007$
0	< 0,003	<0,001
1	0,003	0,001
2	0,004	0,003
3	0,006	0,004
4	0,007	0,006
5	0,009	0,007
6	0,011	0,009
7	0,014	0,010
8	0,016	0,012
9	0,018	0,014
10	0,021	0,016
11	0,024	0,018
12	0,028	0,020
13	0,032	0,022

n_p	$C_{EHEC} (b=1)$	$C_{EHEC} (homogène) - Afssa 2007$
14	0,036	0,025
15	0,041	0,027
16	0,047	0,030
17	0,054	0,033
18	0,061	0,036
19	0,070	0,039
20	0,081	0,043
21	0,095	0,047
22	0,111	0,052
23	0,133	0,057
24	0,161	0,063
25	0,201	0,070
26	0,261	0,079
27	0,361	0,091
28	0,561	0,107
29	1,161	0,134
30	>1,161	> 0,134

Tableau 3. Estimation de la concentration en EHEC en ufc/g d'après le nombre d'échantillons de 25 g positifs observés parmi n=10

n_p	$C_{EHEC} (b=1)$	$C_{EHEC} (homogène)$
0	<0,008	<0,004
1	0,008	0,004
2	0,014	0,008
3	0,021	0,014
4	0,031	0,019
5	0,044	0,026
6	0,064	0,035
7	0,097	0,046
8	0,164	0,061
9	0,364	0,087
10	>0,364	> 0,087

Tableau 4. Estimation de la concentration en EHEC en ufc/g d'après le nombre d'échantillons de 25 g positifs observés parmi n=5

n_p	$C_{EHEC} (b=1)$	$C_{EHEC} (homogène)$
0	<0,018	<0,008
1	0,018	0,008
2	0,035	0,018
3	0,068	0,033
4	0,168	0,058
5	>0,168	>0,058

Les valeurs pour un échantillonnage de n=10 et n=5 sont données dans les tableaux 3 et 4. Les limites de concentration pour un échantillon positif parmi n=10 et n=5 sont plus faibles que pour n=30 respectivement de 0,008 ufc et 0,018 ufc/g.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du CES BIORISK.

Dr Roger Genet

MOTS-CLES

Escherichia coli entérohémorragiques (EHEC) ; *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) ; plan d'échantillonnage ; viande hachée bovine ; appréciation quantitative du risque.

Enterohemorrhagic E. coli (EHEC); *Shigatoxin-producing E. coli* (STEC) ; sampling plan ; ground bovine meat; quantitative risk assessment,

BIBLIOGRAPHIE

Afssa. 2007. Appréciation quantitative des risques liés à *Escherichia coli* O157:H7 dans les steaks hachés surgelés consommés en restauration familiale en France par les enfants de moins de 16 ans. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC-Ra-EcoliEnfants.pdf>

Anses, 2017. Avis du 18 mai 2017 relatif à la détection des *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) considérés comme hautement pathogènes en filière viande hachée bovine (saisine 2016-SA-0121). <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2016SA0121.pdf>

Nauta MJ 2005. Microbiological risk assessment models for partitioning and mixing during food handling, Int JFood Microbiol **100**, 311-22.

ANNEXE 1

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

RAPPORTEUR

M. Laurent GUILLIER – Anses, Laboratoire de sécurité des aliments. Modélisation, appréciation quantitative des risques, microbiologie des aliments

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

■ CES « Evaluation des risques biologiques des aliments » (BIORISK)

Président

M. Philippe FRAVALO – Université de Montréal. Hygiène et microbiologie des aliments (filiales avicoles et porcines), méthodes de détection, de quantification et de caractérisation des microorganismes, Ecologie des écosystèmes microbiens en agro-alimentaire

Membres

M. Frédéric AUVRAY – ENVT. Biologie moléculaire, génétique microbienne, bactériologie

M. Frédéric CARLIN – INRA. Bactéries sporulées, produits végétaux, microbiologie prévisionnelle

Mme Catherine CHUBILLEAU – Centre hospitalier de Niort. Epidémiologie, évaluation des risques sanitaires, hygiène

M. Philippe DANTIGNY – LUBEM Brest. Moisissures, mycotoxines, génie des procédés

Mme Florence DUBOIS-BRISSONNET – AgroParisTech. Microbiologie des aliments, biofilms, mécanismes d'adaptation des microorganismes au stress (conservateurs, désinfectants)

M. Steven DURET – Irstea. Modélisation, génie des procédés, transfert thermique

M. Michel FEDERIGHI – ONIRIS. Microbiologie, hygiène et qualité des aliments, analyse des dangers

M. Michel GAUTIER – Agrocampus Ouest. Microbiologie et hygiène des aliments, biologie moléculaire, bactériophages, aliments fermentés

Mme Malika GOUALI – Institut Pasteur. Microbiologie de l'eau et des aliments, méthodes de détection, de quantification et de caractérisation des micro-organismes, validation des méthodes

M. Laurent GUILLIER – Anses, Laboratoire de sécurité des aliments. Modélisation, appréciation quantitative des risques, écologie microbienne, génomique

M. Stéphane GUYOT – AgroSup Dijon. Procédés de destruction des bactéries pathogènes, mécanismes d'adaptation aux stress environnementaux

Mme Nathalie JOURDAN-DA SILVA – Santé publique France. Epidémiologie des maladies entériques et zoonoses

M. Renaud LAILLER – Anses, Laboratoire de sécurité des aliments. Surveillance, *Salmonella*, hygiène des aliments

M. Alexandre LECLERCQ – Institut Pasteur. Microbiologie des aliments (*Listeria monocytogenes*, *Yersinia entéropathogènes*), méthodes phénotypiques et moléculaires

Mme Sandra MARTIN-LATIL – Anses, Laboratoire de sécurité des aliments. Virologie, méthodes de détection

Mme Florence MATHIEU – Toulouse-INP/ENSAT. Moisissures et mycotoxines, microbiologie des aliments

Mme Jeanne-Marie MEMBRE – INRA. Appréciation quantitative du risque microbiologique, statistiques appliquées

M. Eric OSWALD – CHU Toulouse. Infectiologie clinique, écologie microbienne, *E. coli*

Mme Sabine SCHORR-GALINDO – Université Montpellier. Mycologie, écologie microbienne, biotechnologie

Mme Nalini RAMA RAO – INRA. Microbiologie, interaction hôte/pathogène, microbiote intestinal

Mme Régine TALON – INRA. Microbiologie des aliments, écologie microbienne, aliments fermentés d'origine animale

Mme Muriel THOMAS – INRA. Microbiote intestinal et santé humaine, physiologie

Mme Isabelle VILLENA – CHU Reims. Parasitologie, infectiologie

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Pauline KOOH – Chef de projets scientifiques et techniques – Unité d'évaluation des risques liés aux aliments (UERALIM) – Direction de l'évaluation des risques

Mme Nathalie ARNICH - adjointe au chef d'unité - UERALIM - Direction de l'évaluation des risques

Secrétariat administratif

Mme Angélique LAURENT – Anses – Direction de l'Évaluation des Risques