



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 6 mai 2014

## **AVIS**

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

**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 »**

---

*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 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 rendus publics.*

---

L'Anses a été saisie le 09 décembre 2013 par la Direction Générale de l'Alimentation (DGAI) pour la réalisation de l'expertise suivante : « Demande d'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.

#### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

La DGAI souhaite rendre obligatoire les autocontrôles analytiques pour *E. coli* O157:H7 (selon la méthode EN ISO 16654), pour les viandes hachées produites et mises sur le marché en France. Pour cela, les plans d'échantillonnages envisagés sont les suivants :

- soit sur mée de viande hachée :  $m= 1$  UFC/ 25 g,  $n=1$ ,  $c=0$
- soit sur minerai :  $m=1$  UFC/ 75 g,  $n=4$ ,  $c=0$

avec  $m$  la limite de non conformité,  $n$  le nombre d'échantillon et  $c$  le nombre maximal d'échantillons non conformes.

Pour le cas des mées de viande hachée, il a été tenu compte de l'avis de l'ANSES en date du 11 janvier 2011 (Saisine 2010-SA-0031).

Concernant plus particulièrement le cas des minerais, la DGAI s'est appuyée sur l'expérience acquise depuis plusieurs années dans le cadre des plans de surveillance mis en place par les autorités compétentes dans le cadre de la directive 2003/99/CE et du règlement (CE) n°882/2004.

En 2009 et 2013, après concertation avec le LNR STEC, les analyses officielles pour la détection des STEC ont été réalisées à partir d'un échantillon, prélevé par excision superficielle, composé de 4 unités de 75 g chacune. La méthode d'analyse utilisée est celle du LNR adaptée de l'ISO/TS 13136.

Il convient néanmoins de prendre en compte certains biais, identifiés dans le cadre de la mise en place d'autocontrôles par les professionnels : prélèvement incorrectement réalisé par l'opérateur (difficulté de réalisation d'excision superficielle, notamment sur les minerais congelés), forte hétérogénéité des bacs de minerais de viandes hachées, etc.

L'Anses est saisie des questions suivantes :

- les plans d'échantillonnage proposés pour la détection d'*E. coli* O157:H7 dans le cadre d'autocontrôles systématiques en filière viande hachée de bœuf permettront-ils de répondre à l'objectif de réduire la survenue de cas épidémiques (au moins deux cas liés) de syndrome hémolytique et urémique (SHU) liés à la consommation de viande hachée de bœuf ?
- si le protocole envisagé peut être optimisé, quelles sont les caractéristiques du protocole à modifier : fréquence d'échantillonnage, stade du prélèvement, sélection des échantillons, nature des échantillons, plan d'échantillonnage, masse de la prise d'essais, méthodes d'analyse, etc. ?

## **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 relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé (CES) « Évaluation des risques biologiques liés aux aliments ». L'Anses a confié l'expertise à des rapporteurs externes au CES et à l'unité « Mission Méthodologie et appréciation quantitative du risque ». Les travaux ont été présentés au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques le 18 mars 2014. Ils ont été adoptés par le CES « Évaluation des risques biologiques liés aux aliments » le 18 avril 2014.

Une audition des fédérations de professionnels de la viande hachée bovine (SNIV-SNCP et FNICGV) a été réalisée le 24 février 2014.

Afin de répondre aux questions de la saisine, un modèle tenant compte des connaissances actuelles sur le sujet a été développé par l'Anses, puis vérifié par les rapporteurs. Ce modèle a pour objectif d'estimer (i) la contamination des carcasses, du minerais et des mêlées (ii) le risque de cas groupés suite à la consommation de viande hachée bovine, et (iii) la probabilité de détecter, selon les plans d'échantillonnage proposés, la présence des cinq sérotypes majeurs des STEC potentiellement hautement pathogènes (STEC-PHP : O157:H7, O103:H2, O26:H11, O145:H28 et O11:H8).

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 rendues publiques *via* le site internet de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

## **3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES**

### **3.1. Description du procédé de fabrication des viandes hachées**

Après l'abattage des animaux, les carcasses entières ou demi-carcasses sont scindées en quartiers. Les quartiers sont expédiés ou dirigés vers les ateliers de découpe. L'étape de découpe

consiste à désosser les quartiers et découper la viande en morceaux. Les différents morceaux obtenus sont triés en fonction de leurs caractéristiques et de leur destination.

Les morceaux de viande destinés à la fabrication des viandes hachées constituent les minerais. Le terme « minerai » désigne tout type de matières premières, issues de la découpe ou parage du muscle, utilisées pour la fabrication de viandes hachées. Un minerai est constitué de morceaux de viande choisis dont la composition dépend du taux de matière grasse souhaité (5%, 15% ou 20%). Les morceaux peuvent provenir de plusieurs carcasses. Le nombre de carcasses mis en œuvre par minerai est très variable. Selon l'audition des professionnels de la filière viande hachée bovine, une unité de minerai peut servir à la fabrication de plusieurs mêlées.

Les délais maximum de conservation des viandes après abattage pour la fabrication des viandes hachées bovines sont de six jours pour les viandes réfrigérées et 15 jours pour les viandes désossées et emballées sous vide (Règlement (CE) n°853/2004). Pour les viandes hachées réfrigérées, les minerais issus du désossage et de la découpe sont conservés dans des chambres froides (entre 0 et 1°C) durant un à deux jours avant d'être broyés, mélangés, hachés et formés. Les viandes hachées surgelées peuvent être fabriquées à partir de minerais réfrigérés ou congelés avec un ratio réfrigéré/congelé variable selon la disponibilité des viandes et la cadence des fabrications.

Une mêlée de viande hachée est définie ici comme un ensemble de produits microbiologiquement similaires représentant le contenu d'un ou plusieurs mélangeurs pendant une période définie de production ; ce ou ces mélangeurs peuvent contenir des matières issues d'un ou plusieurs broyeurs. La mêlée ainsi définie sert de base, dans le plan de maîtrise sanitaire des entreprises, pour la gestion des non-conformités microbiologiques.

Il est considéré dans cet avis qu'à une unité de mêlée correspond une seule unité de minerai de même masse. Bien que les deux unités aient la même charge microbienne celle-ci est répartie d'une façon plus homogène dans les mêlées. Dans ce sens, les plans d'échantillonnage évalués dans cet avis consistent soit à analyser pour chaque unité de minerai quatre échantillons de 75g, soit à analyser pour chaque unité de mêlée un échantillon de 25g. Pour ces deux plans d'échantillonnage, l'absence de détection de STEC-PHP dans l'ensemble des échantillons analysés autorise à commercialiser la viande hachée produite à partir de l'unité de minerai ou de mêlée analysée.

Les deux critères microbiologiques (sur minerai et mêlée) concernent les viandes hachées produites et mises sur le marché en France. Un tiers environ des viandes hachées consommées en France sont produites en dehors du territoire national (Institut de l'élevage, 2011). L'évaluation de l'impact de ces critères sur la survenue de cas épidémiques ne concerne donc que les deux tiers de la consommation française.

### **3.2. Modélisation de la contamination des minerais et des mêlées de viandes hachées**

Le modèle développé dans cet avis est basé sur différents modèles publiés (Cassin et *al.*, 1998 ; Cummins et *al.*, 2008 ; Smith et *al.*, 2013). Son originalité consiste à tenir compte dans les calculs du risque de la variabilité de la contamination inter et intra unités de minerai/mêlée. L'objectif du modèle est d'estimer la probabilité de conformité des unités de minerai et de mêlée de viande hachée bovine à l'un des deux plans d'échantillonnage proposés par la DGAI et l'impact de l'application de ces deux critères sur la réduction de la probabilité de la survenue de cas épidémiques de syndrome hémolytique et urémique (SHU) liés à la consommation de viande hachée de bœuf (Figure 1).

Pour cela il est important de caractériser les niveaux de contamination des minerais et des mêlées. Les unités de minerais présentent des niveaux de contamination variables. Or il n'existe pas, à l'heure actuelle, de données permettant de caractériser la distribution de ces niveaux de contamination en France. Dans cet avis, les niveaux de contamination des minerais et mêlées sont

simulés à l'aide d'un modèle mathématique à partir des niveaux de contamination des fèces de bovins. Les paramètres d'entrée du modèle sont présentés en Annexe 1.

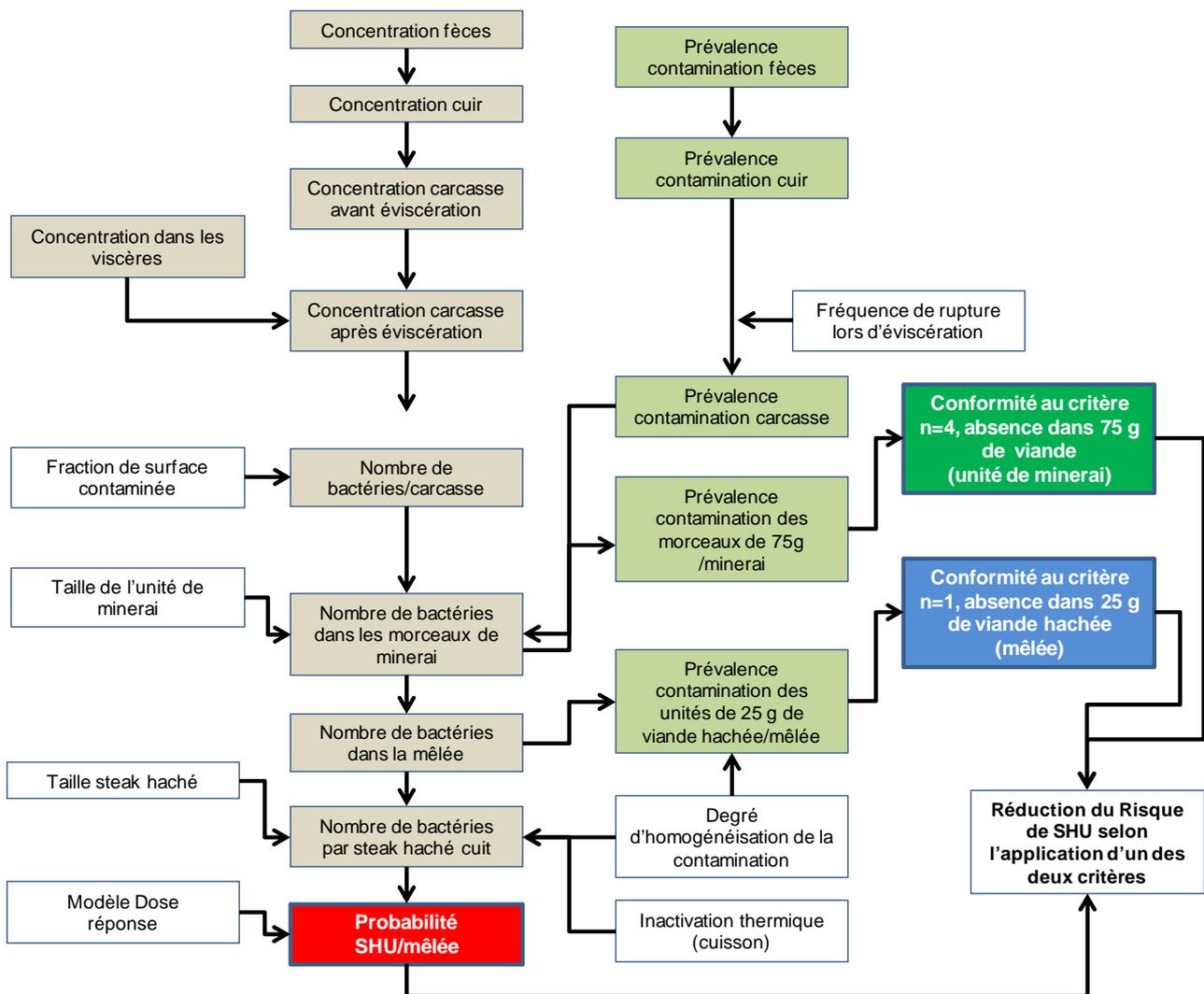


Figure 1 : Structure générale du modèle ; adaptée de Smith et al. (2013)

Encadrés verts clairs : prévalence de la contamination en *E. coli* productrices de shigatoxines potentiellement hautement pathogènes (STEC-PHP) ; encadrés gris : quantité/concentration de la contamination ; encadrés verts/bleu/rouges : sorties du modèle.

### 3.2.1. Contamination des carcasses

Les *E. coli* productrices de shigatoxines (STEC), y compris le sérotype O157:H7, se retrouvent généralement dans le tube digestif des bovins et sur leur cuir. Chez les bovins l'excrétion des STEC est intermittente. La contamination des carcasses se produit essentiellement au cours des étapes de préparation des carcasses, de dépouille, d'éviscération et de fente. Par exemple, les carcasses peuvent être contaminées (i) lors d'un contact de la face externe du cuir avec les tissus sous-cutanés au cours des opérations d'incision et de dégagement du cuir sur les cuisses, l'abdomen, et éventuellement la poitrine et les pattes antérieures ou (ii) lors d'un contact du contenu des viscères digestifs avec les tissus sous-cutanés au cours de l'éviscération. Lors des opérations d'abattage, la majorité des contaminations concernent la surface des carcasses.

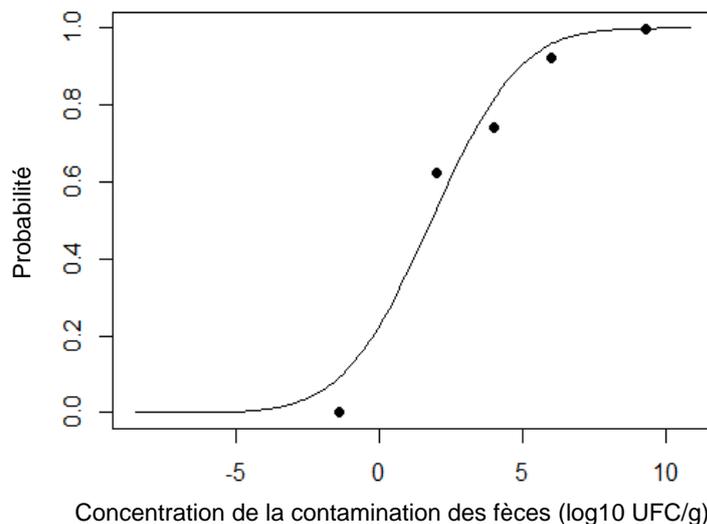
### 3.2.1.1. Prévalence des animaux excréteurs (contamination des fèces)

La prévalence d'animaux excréteurs a été estimée grâce à une étude conduite dans six abattoirs en France entre octobre 2010 et juin 2011 (Bibbal et al., 2012). Au total, 1318 animaux ont été prélevés dans six abattoirs différents. Parmi ces animaux, 2,5% ([1,8% ; 3,5%] ; intervalle de confiance à 95%) excrètent l'un des cinq sérotypes majeurs des STEC potentiellement hautement pathogènes (O157:H7, O103:H2, O26:H11, O145:H28 et O11:H8). Environ 50% des sérotypes isolés sont O157:H7. En regroupant les analyses en deux périodes distinctes, octobre à février, et mars à juin, la prévalence observée au printemps était 3,3 fois plus élevée que celle observée en hiver ([1,5 ; 7,3] ; intervalle de confiance à 95%).

Étant donnée l'absence de démonstration d'une éventuelle différence de virulence entre les cinq sérotypes majeurs, le modèle développé dans cet avis utilise la prévalence de ces cinq sérotypes (nommés STEC-PHP dans la suite de l'avis) pour l'évaluation des risques. De plus, seule la période de forte excrétion (printanière) sera considérée. Ainsi, dans le modèle, la prévalence de la contamination des fèces, notée  $P_f$ , est de 3,9% et correspond à la prévalence de la période printanière.

### 3.2.1.2. Concentration dans les fèces

Comme pour la prévalence, le niveau de contamination des fèces varie en fonction de la période de prélèvement (Stephens et al., 2009). Le modèle utilisé dans cet avis considère uniquement la période de forte excrétion. De plus, il est supposé que la variabilité de la contamination en STEC-PHP dans les fèces ( $C_f$ ) est la même pour l'ensemble des cinq sérotypes majeurs. Selon les données relatives au sérotype O157:H7 (Stephens et al., 2009), la loi de distribution utilisée pour la contamination des fèces suit une loi normale de moyenne 1,82  $\log_{10}$  UFC/g et d'écart type 2,43 (figure2).



**Figure 2 : Distribution des concentrations des STEC-PHP dans les fèces en période de forte excrétion ; ajustement des données de Stephens et al. (2009)**

### 3.2.1.3. Prévalence de la contamination des cuirs

Comme dans le modèle de Smith et al. (2013), la relation entre la prévalence des animaux excréteurs et la prévalence des animaux ayant des cuirs contaminés est décrite grâce au ratio de transfert, estimé à partir des données de Barkocy-Gallagher et al. (2003) :

$$P_{\text{cuir}} = \frac{P_f \times RT_{\text{fcuir}}}{(1 - P_f + P_f \times RT_{\text{fcuir}})} \quad \text{Équation 1}$$

Avec  $P_{cuir}$  la prévalence des animaux ayant des cuirs contaminés,  
 $P_f$  la prévalence des animaux excréteurs,  
 et  $RT_{fcuir}$  le ratio de transfert des fèces aux cuirs.

Le ratio  $RT_{fcuir}$  est variable et suit une loi log normale de moyenne 3,193 et d'écart-type 0,106 (paramètre statistique du  $\log_{10}$  de la variable). La variabilité de  $RT_{fcuir}$  reproduit la variabilité du niveau de propreté des animaux et des conditions de transport et du stationnement des animaux avant abattage.

#### 3.2.1.4. Concentration sur les cuirs

La concentration sur les cuirs est calculée grâce au facteur de transfert estimé par Smith et *al.* (2013) :

$$C_{cuir} = C_f + FT_{fcuir} \quad \text{Équation 2}$$

Avec  $C_{cuir}$  la concentration en STEC-PHP sur le cuir ( $\log_{10}$  UFC/100  $\text{cm}^2$ ),  
 $C_f$  la concentration en STEC-PHP dans les fèces ( $\log_{10}$  UFC/g),  
 et  $FT_{fcuir}$  la fraction de transfert des bactéries vers le cuir ( $\log_{10}$  g/100  $\text{cm}^2$ ). Cette fraction est variable selon une loi log-logistique décalée (-3,77 ; 2,29 ; 10,3) comme déterminée par Smith et *al.* (2013).

#### 3.2.1.5. Prévalence de contamination des carcasses par les cuirs

Lors du dépouillement, la contamination des carcasses peut se produire par un contact direct avec le cuir ou indirectement par les poussières échappées du cuir, les mains ou les ustensiles utilisés. Les données de Barkocy-Gallagher et *al.* (2003) ont permis d'estimer un ratio de transfert des cuirs vers la surface des carcasses ( $RT_{cuirC}$ ). La prévalence de contamination des carcasses est obtenue à l'aide de la formule suivante :

$$P_C = \frac{P_{cuir} \times RT_{cuirC}}{(1 - P_{cuir} + P_{cuir} \times RT_{cuirC})} \quad \text{Équation 3}$$

Avec  $RT_{cuirC}$  le ratio de transfert des cuirs vers la surface des carcasses. Celui-ci est variable selon une loi normale de moyenne 0,237 et d'écart-type 0,009. La variabilité de  $RT_{cuirC}$  est due à la variabilité des conditions de contamination.

#### 3.2.1.6. Concentration sur les carcasses avant éviscération

En utilisant la même approche que pour la fraction de transfert des bactéries des fèces au cuir, Smith et *al.* (2013) ont estimé le taux de transfert des bactéries du cuir vers la surface des carcasses. La fraction de transfert des bactéries du cuir vers la surface des carcasses ( $FT_{cuirC}$ ) suit une loi logistique de paramètre -1,97 et 0,457. La concentration sur la surface d'une carcasse est calculée comme suit :

$$C_C = C_{cuir} + FT_{cuirC} - 2 \quad \text{Équation 4}$$

Avec  $C_C$  la concentration en STEC-PHP à la surface d'une carcasse ( $\log_{10}$  UFC/ $\text{cm}^2$ ),  
 $C_{cuir}$  la concentration en STEC-PHP sur le cuir ( $\log_{10}$  UFC/100  $\text{cm}^2$ ),  
 et  $FT_{cuirC}$  la fraction de transfert du cuir vers la surface de la carcasse.

#### 3.2.1.7. Contamination des carcasses suite à un incident d'éviscération

Les carcasses peuvent être souillées au moment du retrait des viscères digestifs. Si l'appareil digestif d'un animal héberge les STEC-PHP et s'il est rompu par inadvertance durant l'éviscération, alors une contamination de la carcasse peut se produire en raison du déversement du contenu

intestinal et/ou des fèces sur cette dernière. La probabilité de rupture des viscères ( $Ex$ ) est supposée variable entre 0,1% et 1% (Cummins et al., 2008).

La survenue de la contamination des carcasses par le contenu des viscères dépend de la probabilité de rupture des viscères et de la probabilité que le contenu des viscères soit contaminé. Lorsqu'une carcasse est contaminée durant l'éviscération, la contamination visible est normalement éliminée par parage ou aspiration à la vapeur. De plus, en France, les professionnels préconisent l'identification des carcasses souillées pour ne pas les utiliser pour la fabrication des steaks hachés.

En cas d'incident d'éviscération, la quantité du contenu des viscères digestive restante après élimination des contaminations visibles et lavage des carcasses ( $q$ ) est supposée variable entre 1 et 50 grammes par carcasse, selon une loi uniforme (Smith et al., 2013).

Par manque de données bibliographiques, la prévalence de contamination des contenus des viscères ( $P_v$ ) et la concentration dans les viscères sont approchées par celles observés sur les fèces (Anses, 2010a).

### 3.2.1.8. Prévalence de contamination des carcasses à l'issue de l'abattage

La prévalence des carcasses contaminées à l'issue de l'abattage ( $P_{CA}$ ) est la somme des prévalences de carcasses (i) contaminées uniquement par les cuirs ( $P_{Cc}$ ), (ii) contaminées uniquement par les viscères ( $P_{Cv}$ ) et (iii) contaminées par les cuirs et les viscères ( $P_{Ccv}$ ). Ces prévalences sont calculées comme suit :

$$P_{Cc} = P_C - P_{Ccv}$$

$$P_{Cv} = Ex \times P_v - P_{Ccv}$$

$$P_{Ccv} = P_C \times Ex \times P_v$$

Avec  $Ex$  la probabilité de rupture des viscères

et  $P_v$  la prévalence de contamination des carcasses par les viscères (comme indiqué ci-dessus en paragraphe 5.2.1.7,  $P_v$  est supposée égale à  $P_f$ ).

### 3.2.1.9. Concentration sur les carcasses à l'issue de l'abattage

La contamination de la surface d'une carcasse par les STEC-PHP provenant des cuirs ou des viscères ne concerne qu'une fraction de celle-ci. La surface contaminée de la carcasse ( $a$ ) peut varier entre 30 et 3 000 cm<sup>2</sup> (Cummins et al., 2008 ; Smith et al., 2013). La surface totale d'une carcasse standard ( $TSA$ ) est supposée égale à 32 000 cm<sup>2</sup>.

La quantité de bactéries par carcasse contaminée ( $O_c$ ) résultant d'une contamination par les cuirs et/ou par les viscères est alors égale à :

$$O_c = \begin{cases} a \times 10^{C_c} \\ ou \\ q \times 10^{C_f} \\ ou \\ a \times 10^{C_c} + q \times 10^{C_f} \end{cases} \quad \text{Équation 5}$$

Avec  $C_c$  la concentration en STEC-PHP à la surface d'une carcasse (log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup>),

$a$  la surface contaminée de la carcasse (cm<sup>2</sup>), supposée suivre une loi triangulaire (minimum=log<sub>10</sub>(30), mode=log<sub>10</sub>(300), maximum=log<sub>10</sub>(3 000)),

$C_f$  la concentration en STEC-PHP dans les fèces (log<sub>10</sub> UFC/g),

et  $q$  la quantité du contenu des viscères souillant la carcasse (g).

### 3.2.2. Contamination des minerais et des mêlées

Selon l'audition des professionnels de la filière viande hachée bovine :

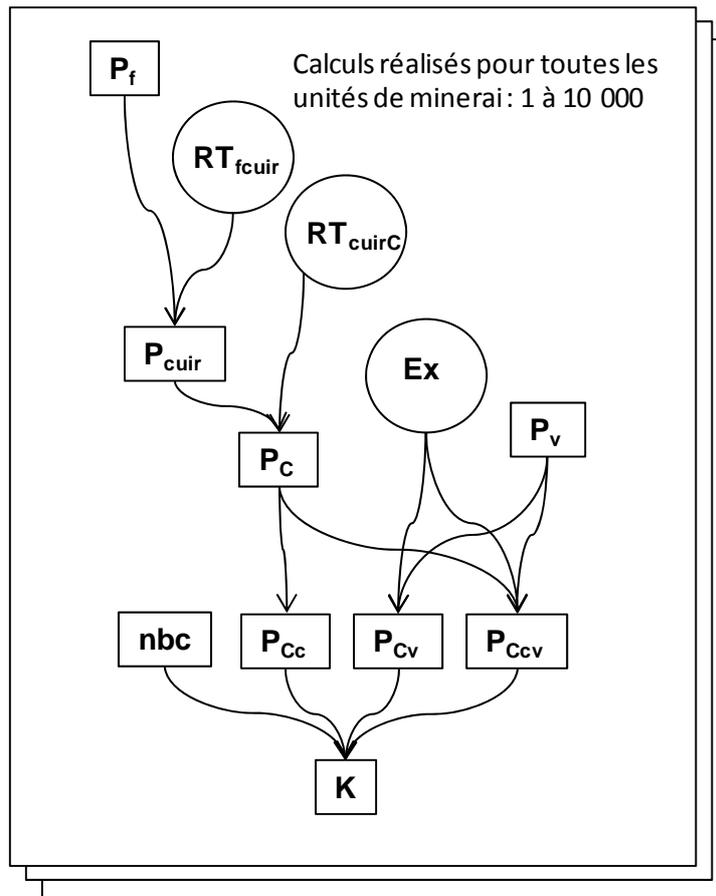
- les morceaux de viande constituant une unité de minerai peuvent provenir de plusieurs carcasses,
- le nombre de carcasses par unité de minerai est très variable,
- une unité de minerai peut servir à la fabrication de plusieurs unités de mêlées,
- la taille d'une unité de mêlée varie entre 50 et 2 000 kg,
- et plus du tiers des sites de productions de viandes hachées réfrigérées utilisent des unités de mêlées de taille comprise entre 400 et 600 kg.

Vu les données actuellement disponibles et la contrainte du délai de réponse à cette saisine, il est supposé, dans cet avis, qu'une unité de mêlée (de X kg) est fabriquée à partir d'une même masse d'unité de minerai (de X kg) et que le plan d'échantillonnage « minerai » ( $n=4$ ) s'applique à l'unité de minerai. De plus, il n'a pas été possible de générer une distribution des tailles de mêlées fabriquées en France. Suite à l'audition des professionnels de la filière viande hachée bovine, trois scénarios de mêlées jugés représentatifs des pratiques actuelles ont été choisis :

1. Une unité de minerai / mêlée de 50 kg constituée de morceaux de viandes provenant de 5 carcasses différentes,
2. Une unité de minerai / mêlée de 500 kg constituée de morceaux de viandes provenant de 60 carcasses différentes,
3. Une unité de minerai / mêlée de 1 000 kg constituée de morceaux de viandes provenant de 120 carcasses différentes.

#### 3.2.2.1. Nombre de carcasses contaminées par unité de minerai

Afin de simuler la contamination des morceaux de viande constituant une unité de minerai, le modèle suppose que les morceaux de cette unité proviennent de *nbc* carcasses différentes (selon les trois scénarios choisis ci-dessus : *nbc* correspond à 5, 60 ou 120 animaux respectivement). Lors des opérations d'abattage, pour chaque carcasse entrant dans la constitution d'une unité de minerai, les ratios de transfert des fèces vers le cuir puis des cuirs vers les carcasses et la probabilité de contamination lors de l'éviscération sont tirés au sort dans les distributions décrites précédemment (voir Annexe 1). La figure 3 montre les différentes étapes de calculs permettant l'obtention du nombre de carcasses contaminées par unité de minerai selon l'origine de la contamination : les cuirs, les viscères ou les deux à la fois.



**Figure 3 : Simulation des nombres de carcasses contaminées par unité de minerai**

Notation : Les cercles représentent des tirages au sort d'une distribution de probabilité, les rectangles représentent soit des valeurs fixes soit des calculs à partir des variables connectées.  $P_f$  : prévalence de contamination par les fèces ;  $RT_{f\text{cuir}}$  : ratio de transfert des fèces vers le cuir ;  $P_{\text{cuir}}$  : Prévalence des animaux ayant des cuirs contaminés ;  $RT_{\text{cuir}C}$  : ratio de transfert du cuir vers les carcasses ;  $P_C$  : prévalence de contamination des carcasses par le cuir ;  $Ex$  : probabilité de rupture des viscères ;  $P_v$  : prévalence de la contamination des viscères ;  $P_{Cc}$  : prévalence, à l'issue de l'abattage, des carcasses contaminées uniquement par le cuir ;  $P_{Cv}$  : prévalence, à l'issue de l'abattage, des carcasses contaminées uniquement par les viscères,  $P_{Ccv}$  : prévalence, à l'issue de l'abattage, des carcasses contaminées par les cuirs et les viscères ;  $nbc$  : nombre de carcasses par unité de minerai ;  $k_{Cc}$  : nombre de carcasses contaminées uniquement par les cuirs par unité de minerai ;  $k_{Cv}$  : nombre de carcasses contaminées uniquement par les viscères par unité de minerai ;  $k_{Ccv}$  : nombre de carcasses contaminées par les cuirs et les viscères par unité de minerai (voir Annexe 1).

Le nombre de carcasses contaminées par unité de minerai ( $K$ ) correspond au nombre de carcasses contaminées (i) uniquement par le cuir ( $k_{Cc}$ ), (ii) uniquement par les viscères ( $k_{Cv}$ ) et (iii) par le cuir et les viscères ( $k_{Ccv}$ ) par unité de minerai :

$$K = k_{Cc} + k_{Cv} + k_{Ccv}$$

Avec  $k_{Cc} \sim \text{Binomiale}(nbc, P_{Cc})$

$k_{Cv} \sim \text{Binomiale}(nbc, P_{Cv})$

$k_{Ccv} \sim \text{Binomiale}(nbc, P_{Ccv})$

Et  $nbc$  le nombre de carcasses par unité de minerai,

$P_{Cc}$  la prévalence, à l'issue de l'abatage, des carcasses contaminées uniquement par les cuirs,

$P_{Cv}$  la prévalence, à l'issue de l'abatage, des carcasses contaminées uniquement par les viscères,

$P_{Ccv}$  la prévalence, à l'issue de l'abatage, des carcasses contaminées par les cuirs et les viscères.

### 3.2.2.2. Concentration de la contamination des morceaux de viande par unité de minerai

Pour chacune des  $K$  carcasses contaminées, une série de calculs est déroulée pour arriver à déterminer le nombre de bactéries STEC-PHP par morceaux et par carcasse (figure 4).

Le nombre de bactérie par carcasse contaminée ( $O_c$ ) est déterminé selon l'équation 5 après avoir tiré au sort, pour chacune des carcasses, les valeurs de la concentration dans les fèces ( $C_i$ ), les fractions de transferts des bactéries des fèces vers le cuir et du cuir vers la surface de la carcasse ( $FT_{f\text{cuir}}$  et  $FT_{cuirC}$ ), la surface de la carcasse concernée par cette contamination ( $a$ ) et la quantité du contenu des viscères souillant la carcasse ( $q$ ).

Pour chaque carcasse  $i$ , les caractéristiques ( $M_{ij}$ ,  $S_{ij}$ ,  $O_{ij}$  et  $N_i$ ) des morceaux entrant dans la composition d'une unité de minerai sont déterminées de la façon suivante :

- La masse de chaque morceau ( $M_{ij}$ ) est tirée au sort à partir de la loi triangulaire (minimum 50 g, mode 500 g et maximum 1 000 g), selon les contraintes de la masse de l'unité de minerai considérée ( $T$  : 50kg, 500 kg ou 1 000 kg pour les scénarios 1, 2, et 3 respectivement) et du nombre de carcasses entrant dans la composition d'une unité de minerai ( $nbc$  : 5 carcasses, 60 carcasses ou 120 carcasses pour les scénarios 1, 2, et 3 respectivement).
- La surface de chaque morceau ( $S_{ij}$ ) est estimée à partir de sa masse ( $M_{ij}$ ) en supposant qu'un gramme de viande correspond à une surface variant uniformément entre 0,1 et 0,5 cm<sup>2</sup> (Smith et al., 2013).
- Le nombre de bactéries par morceau ( $O_{ij}$ ) est supposé proportionnel au rapport de sa surface ( $S_{ij}$ ) par la surface totale de la carcasse ( $TSA$ ) :

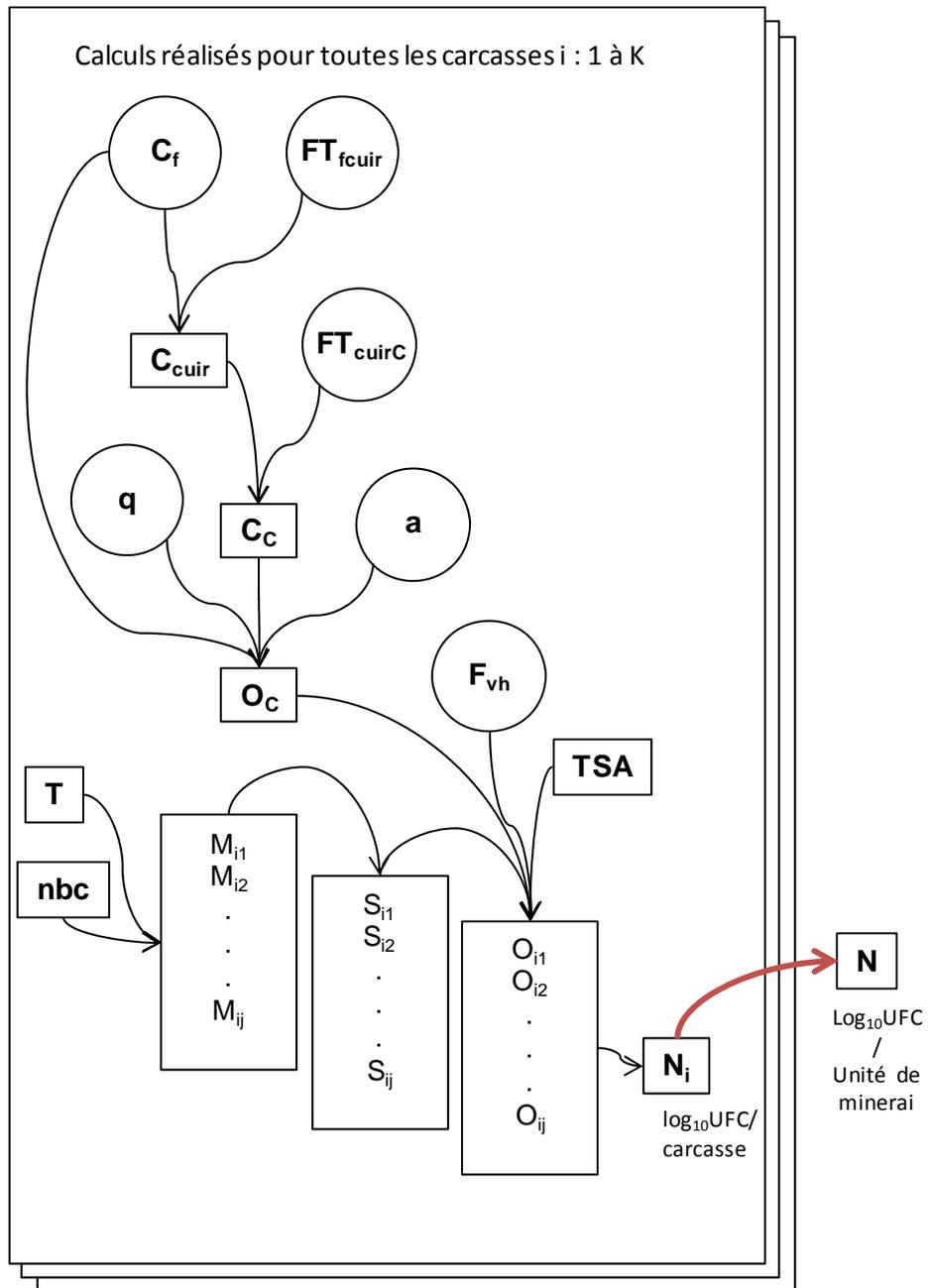
$$O_{ij} = \frac{O_c \times F_{vhi} \times S_{ij}}{TSA} \quad \text{Équation 6}$$

Avec  $O_c$  le nombre de bactéries par carcasse contaminée, calculée à partir de l'équation 5.

et  $F_{vhi}$  est la fraction des bactéries se trouvant dans les morceaux destinés à la fabrication des viandes hachées (supposée suivre une loi uniforme entre 0,75 et 0,90).

- Le nombre total de bactéries apportées par une carcasse ( $N_i$ ) est obtenue par la somme des nombres de bactéries par morceau ( $O_{ij}$ ).

Le processus décrit dans la figure 4 est répété autant de fois qu'il y a de carcasses contaminées dans l'unité de minerai (soit  $K$  fois) pour obtenir une quantité de bactéries ( $N_i$ ) pour chaque carcasse contaminée  $i$  constituant l'unité de minerai. La somme de ces  $K$  valeurs de  $N_i$  permet d'obtenir la charge totale d'une unité de minerai en bactéries ( $N$ ).



**Figure 4 : Simulation de la contamination des différents morceaux entrant dans la composition d'une unité de minéral**

*Notation : Les cercles représentent des variables aléatoires, les rectangles représentent soit des valeurs fixes soit des variables issues de calculs.  $C_f$  : la concentration dans les fèces ;  $FT_{fcuir}$  : la fraction de transfert des fèces vers le cuir ;  $C_{cuir}$  : la concentration sur le cuir ;  $FT_{cuirC}$  : la fraction de transfert du cuir vers la carcasse ;  $C_c$  : la concentration à la surface de la carcasse ;  $q$  : la quantité du contenu des viscères souillant la carcasse ;  $a$  : la surface contaminée sur la carcasse ;  $O_c$  : la quantité de bactérie par carcasse contaminée ;  $F_{vh}$  la fraction des bactéries dans les morceaux destinés à la fabrication des viandes hachées ;  $TSA$  : la surface totale de la carcasse ;  $T$  : la masse de l'unité de minéral ;  $nbc$  : le nombre de carcasses par unité de minéral ;  $M_{ij}$  : la masse du morceau  $j$  issu de la carcasse  $i$  ;  $S_{ij}$  : la surface du morceau  $j$  issu de la carcasse  $i$  ;  $O_{ij}$  : le nombre de bactéries du morceau  $j$  de la carcasse  $i$  ;  $N_i$  : le nombre de bactérie par carcasse contaminée ;  $N$  : le nombre total de bactérie dans l'unité de minéral (voir Annexe 1).*

### 3.2.2.3. Distribution de la contamination des steaks hachés issus d'une unité de mēlée

La taille d'une unité de mēlée est supposée égale à celle de l'unité de minerai.

Les opérations de broyage et de hachage ne permettent pas une distribution totalement homogène des bactéries présentes sur la viande de l'unité de minerai utilisé. Le degré d'homogénéisation atteint suite aux différentes opérations dépend de la proportion des morceaux de minerai contaminés et leur répartition dans l'unité de minerai. A l'heure actuelle, aucune étude n'a été conduite pour évaluer ce degré d'homogénéisation. Si le hachage conduisait à une unité de mēlée parfaitement homogène, alors tous les steaks hachés présenteraient le même niveau moyen de contamination ( $\lambda$ , nombre de bactéries par unité de minerai divisé par la masse de l'unité de mēlée :  $\lambda=N/T$ ). Cependant, le hachage ne conduit pas à une homogénéité parfaite dans la viande hachée. La distribution de la contamination peut être décrite à l'aide d'une loi de probabilité Gamma-Poisson. Selon cette distribution, le nombre de bactéries par gramme de steak haché suit une loi de Poisson de paramètre  $\lambda$  et ce paramètre ( $\lambda$ ) suit une loi Gamma (Nauta, 2005). La probabilité d'avoir  $x$  bactéries dans un steak haché de 125 g est calculée à partir de la formule suivante :

$$P(x) = \frac{\Gamma(b+x)}{x!\Gamma(b)} \times \frac{b^b \lambda^x}{(\lambda+b)^{b+x}} \quad \text{Équation 7}$$

Avec  $b$  le coefficient mesurant l'hétérogénéité (quand  $b$  tend vers l'infini, le modèle est équivalent à une loi de Poisson),

et  $\lambda$  la concentration moyenne dans 125 g de viande hachée prélevé aléatoirement dans une unité de mēlée.

Comme dans l'avis Anses (2010b), trois valeurs d'hétérogénéité des mēlées ( $b$ ) ont été appliquées aux trois scénarios de mēlées définies dans la partie 5.2.2 :

- $b=1\ 000$ , pour une distribution homogène des bactéries dans la mēlée,
- $b=1$ , pour une distribution moyennement homogène des bactéries dans la mēlée,
- $b=0,1$ , pour une distribution hétérogène des bactéries dans la mēlée.

### 3.2.3. Calcul des probabilités de détection avec les critères « minerai » et « mēlée »

#### 3.2.3.1. Probabilité de détection avec le critère microbiologique relatif au minerai

La probabilité de détection, avec le critère « minerai », de la présence de STEC-PHP dans une unité de minerai utilisée pour une mēlée  $l$ , sachant la probabilité qu'un enfant de moins de 15 ans développe un SHU suite à la consommation d'un steak haché de cette mēlée  $P(D_{\text{minerai}})_l$ , est calculée à partir de la répartition du nombre de bactéries par morceau de viande (noté  $O_{ij}$  dans la figure 4), de la masse des échantillons analysés ( $m$ ) et de la proportion des morceaux provenant de carcasses contaminées ( $P_{mc}$ ) :

$$P(D_{\text{minerai}})_l = 1 - (1 - P)^n \quad \text{Équation 8}$$

avec

$$P = P_{mc} \times \text{moyenne} \left( 1 - \exp \left( \frac{-O_{ij}}{M_{ij}} \times m \right) \right)$$

Où la moyenne est calculée sur tous les morceaux de viande provenant des carcasses contaminées,

Avec  $n$  le nombre d'échantillon analysé,

$m$  la masse de chaque échantillon analysé,

$O_{ij}$  le nombre de bactérie par morceau de viande,

$M_{ij}$  la masse du morceau de viande,

et  $P_{mc}$  la proportion de morceaux provenant de carcasses contaminées (nombre de morceaux provenant des carcasses contaminées divisé par le nombre total des morceaux constituant l'unité de minerais (figure 4)).

### 3.2.3.2. Probabilité de détection avec le critère microbiologique relatif à une mûlée

La probabilité de détection de la présence de STEC-PHP dans une mûlée  $l$  avec le critère « mûlées »,  $P(D_{mûlée})_l$ , est obtenue par :

$$P(D_{mûlée})_l = 1 - \left( \frac{b}{\lambda' + b} \right)^b \quad \text{Équation 9}$$

Avec  $\lambda'$  la concentration moyenne dans 25 g de viande hachée prélevée aléatoirement dans une mûlée.

### 3.2.4. Estimation des risques

La figure 5 décrit le processus de calcul relatif à la réduction du risque de cas groupés de SHU pour les enfants de moins de 15 ans selon l'application ou non des deux critères proposés par la DGAI.

#### 3.2.4.1. Risque pour le consommateur de viande hachée

Les paramètres de survie des STEC-PHP au traitement thermique sont extraits des données issues d'une étude réalisée au laboratoire LSA de l'Anses (Bergis et al., 2009). Ces données ont été combinées avec des scénarios de cuisson à la poêle à 180°C pour obtenir le nombre de réductions décimales attendues en fin de cuisson (Tableau 1). La répartition des temps de cuisson a été obtenue grâce aux données de l'enquête INCA 2 (Anses, 2009) et aux données d'investigation des cas groupés (Delignette-Muller et Cornu, 2008).

La relation dose-réponse utilisée ici est celle publiée par Strachan et al. (2005) et correspond à un modèle exponentiel. Le risque, pour un enfant de moins de 15 ans, de développer un syndrome hémolytique urémique suite à la consommation d'un steak haché ( $R_c$ ; risque conditionnel) est obtenu comme suit :

$$R_c = P_e \times P_{Dose} \times P_{SHU|Inf} \quad \text{Équation 10}$$

$$P_{Dose} = 1 - \exp(-x \times r \times 10^{-RD})$$

Avec  $P_e$  la proportion de steaks hachés consommés par les enfants de moins de 15 ans ( $P_e=0,10$ ) (Anses, 2010b),

$P_{Dose}$  la probabilité d'entraîner une infection sachant la dose ingérée

$P_{SHU|Inf}$  la probabilité de développer un syndrome hémolytique urémique (SHU) sachant l'infection ( $P_{SHU|Inf}=0,10$ ) (Strachan et al., 2005),

$x$  le nombre de bactéries dans 125 g de viande hachée,

$r$  le paramètre de la relation dose réponse exponentielle ( $r = 1,13 \times 10^{-3}$ ) (Strachan et al., 2005),

$RD$  le nombre de réduction décimale en fin de cuisson (Tableau 1 ; Bergis et al., 2009).

**Tableau 1 : Répartition des pratiques des consommateurs vis-à-vis du temps de cuisson de steaks hachés frais et du nombre de réductions décimales attendues en fin de cuisson**

Temps de cuisson	Nombre de réduction décimale ( <i>RD</i> )	Proportion des consommateurs
7,5 min	0,30	0,03
7,75 min	0,88	0,10
8 min	2,22	0,28
8,25 min	5,25	0,33
8,5 min	11,34	0,24
8,75 min	20,64	0,03

Comme les valeurs prises par  $x$  et  $RD$  (Tableau 1) de l'équation 10 sont aléatoires, le risque qu'un enfant de moins de 15 ans développe un SHU suite à la consommation d'un steak haché ( $R_c$ ) est lui même une variable aléatoire. La probabilité qu'un enfant de moins de 15 ans développe un SHU suite à la consommation d'un steak haché tiré au sort parmi l'ensemble des steaks hachés provenant d'une même mêlée  $i$  ( $MR_c$ ) est calculée par l'espérance de  $R_c$  (moyenne pondérée de  $R_c$  dans une mêlée). Puis, le nombre, par mêlée, de cas de SHU chez les enfants de moins de 15 ans ( $E_i$ ) est estimé en multipliant  $MR_c$  par le nombre de steaks hachés par mêlée ( $nbs$ ).

Compte tenu du fait que chaque mêlée a ses propres caractéristiques de contamination, le modèle simule ces calculs pour plusieurs mêlées. De la même façon que pour les calculs d'une mêlée, le nombre de cas de SHU chez les enfants de moins de 15 ans pour un ensemble de mêlées ( $E_L$ ) peut être obtenu à partir des  $MR_c$  et  $nbs$  des  $L$  mêlées considérées.

#### 3.2.4.2. Risque de cas groupés

La probabilité d'observer, par mêlée, des cas groupés (deux cas de SHU ou plus) chez des enfants de moins de 15 ans, suite à la consommation de steaks hachés ( $R_{gl}$ ) est calculée comme suit :

$$R_{gl} = P(\text{cas} > 1) = 1 - CDF(\text{Poisson}, 1, E_i) \quad \text{Équation 11}$$

Avec  $CDF$  la fonction de probabilité cumulative appliquée à une loi de Poisson de paramètre  $E_i$ ,

Et  $E_i$  le nombre de cas de SHU chez les enfants de moins de 15 ans par mêlée.

Ici également, la probabilité d'observer, pour un ensemble de mêlées ( $L$ ), des cas groupés chez des enfants de moins de 15 ans ( $R_{gL}$ ) est estimée par l'espérance mathématique des probabilités d'observer deux cas ou plus par mêlée ( $R_{gl}$ ).

#### 3.2.4.3. Probabilité d'observer des cas groupés de SHU après application d'un des deux critères microbiologiques

La probabilité d'observer, pour une mêlée  $i$ , des cas groupés chez les enfants de moins de 15 ans après application de l'un des deux critères microbiologiques ( $R'_{gl}$ ) est calculé grâce à la formule suivante :

$$R'_{gl} = \begin{cases} \frac{R_{gl} \times [1 - P(D_{\text{minerai}})_l]}{1 - P(D)} \\ \text{ou} \\ \frac{R_{gl} \times [1 - P(D_{\text{mêlée}})_l]}{1 - P(D)} \end{cases} \quad \text{Équation 12}$$

Avec  $P(D_{\text{minerai}})_l$  la probabilité de détection des STEC-PHP dans l'unité de minerai utilisée pour une mêlée  $l$ , sachant la probabilité qu'un enfant de moins de 15 ans développe un SHU suite à la consommation d'un steak haché de cette mêlée, après l'application du critère microbiologique « minerai »,

$P(D_{\text{mêlée}})_l$  la probabilité de détection des STEC-PHP dans une mêlée  $l$ , sachant la probabilité qu'un enfant de moins de 15 ans développe un SHU suite à la consommation d'un steak haché de cette mêlée, après l'application du critère microbiologique « mêlée »,

et  $P(D)$  la probabilité de détection des STEC-PHP pour un ensemble de  $L$  mêlées.

La détection des STEC-PHP, selon l'application d'un des deux critères "minerai" ou "mêlée", sous-tend dans cet avis que l'unité est jugée non conforme, puisque ne répondant pas aux critères microbiologiques fixés, pour la fabrication de viande hachée bovine.

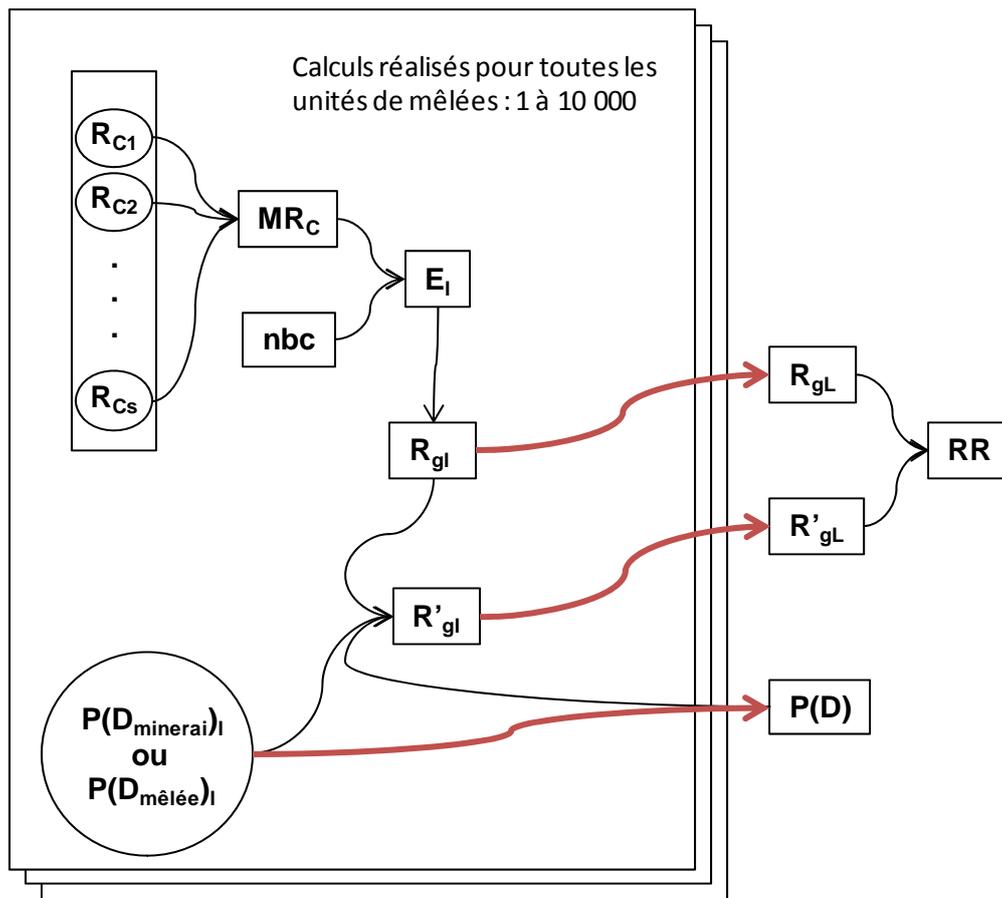
La probabilité d'observer, pour un ensemble de  $L$  mêlées, des cas groupés (deux cas de SHU ou plus) chez des enfants de moins de 15 ans, suite à la consommation de steaks hachés et après application de l'un des deux critères ( $R'_{gL}$ ) est estimée par l'espérance mathématique des probabilités d'observer, pour chaque mêlée  $l$ , des cas groupés chez les enfants de moins de 15 ans après application de l'un des deux critères ( $R'_{gl}$ ).

Enfin, la réduction du risque de SHU chez les enfants de moins de 15 ans suite à l'application d'un des deux critères microbiologiques ( $RR$ ) est calculée comme suit :

$$RR = 1 - \frac{R'_{gL}}{R_{gL}} \quad \text{Équation 13}$$

Avec  $R_{gL}$  la probabilité d'observer, pour un ensemble de  $L$  mêlées, des cas groupés (deux cas de SHU ou plus) chez des enfants de moins de 15 ans, suite à la consommation de steaks hachés et sans application de l'un des deux critères microbiologiques,

et  $R'_{gL}$  la même probabilité, après application d'un des deux critères microbiologiques.



**Figure 5 : Simulation de la réduction du risque de cas groupés de SHU pour des enfants de moins de 15 ans ayant consommés un steak haché**

*Notation : Les cercles représentent des variables aléatoires, les rectangles représentent soit des valeurs fixes soit des variables issues de calculs.  $R_{Cs}$  : le risque qu'un enfant de moins de 15 ans développe un SHU suite à la consommation d'un steak haché ; ;  $MR_C$  : la probabilité qu'un enfant de moins de 15 ans développe un SHU suite à la consommation d'un steak haché tiré au sort parmi l'ensemble des steaks hachés provenant d'une mûlée  $I$  ;  $nbc$  : le nombre de steaks hachés par mûlée ;  $E_I$  : le nombre, par mûlée, de cas de SHU chez les enfants de moins de 15 ans ;  $R_{gI}$  : la probabilité d'observer, par mûlée, des cas groupés (deux cas de SHU ou plus) chez des enfants de moins de 15 ans, suite à la consommation de steaks hachés ;  $R'_{gI}$  : la probabilité d'observer, pour une mûlée  $I$ , des cas groupés chez les enfants de moins de 15 ans après application de l'un des deux critères microbiologiques ;  $P(D_{mineral})_I$  : la probabilité de détection des STEC-PHP dans l'unité de mineral utilisée pour une mûlée  $I$ , sachant la probabilité qu'un enfant de moins de 15 ans développe un SHU suite à la consommation d'un steak haché de cette mûlée, après l'application du critère microbiologique « mineral » ;  $P(D_{mêlée})_I$  : la probabilité de détection des STEC-PHP dans une mûlée  $I$ , sachant la probabilité qu'un enfant de moins de 15 ans développe un SHU suite à la consommation d'un steak haché de cette mûlée, après l'application du critère microbiologique « mûlée » ;  $P(D)$  : la probabilité de détection des STEC-PHP pour un ensemble de mûlées ;  $R_{gL}$  : la probabilité d'observer, pour un ensemble de mûlées, des cas groupés (deux cas de SHU ou plus) chez des enfants de moins de 15 ans, suite à la consommation de steaks hachés et sans application de l'un des deux critères microbiologiques ;  $R'_{gL}$  : la même probabilité que  $R_{gL}$ , après application d'un des deux critères microbiologiques ;  $RR$  : la réduction du risque de SHU chez les enfants de moins de 15 ans suite à l'application d'un des deux critères microbiologiques.*

### 3.3. Résultat du modèle

#### 3.3.1. Niveau de contamination des unités de minerais

Afin d'apprécier la variabilité du niveau de contamination des unités de minerais, dix mille itérations par type de production ont été réalisées.

Pour les unités incorporant un petit nombre de carcasses (5 carcasses), la contamination est faible (figure 6, courbe A) et la proportion de morceaux contaminés est également très faible (figure 7A). Pour les unités de taille plus conséquentes (60 à 120 carcasses), le niveau de contamination est le plus fréquemment compris entre 2 et 4  $\log_{10}$  UFC/unité (figure, courbes B et C) du fait de la plus grande proportion des morceaux contaminés (figure 7B et 7C).

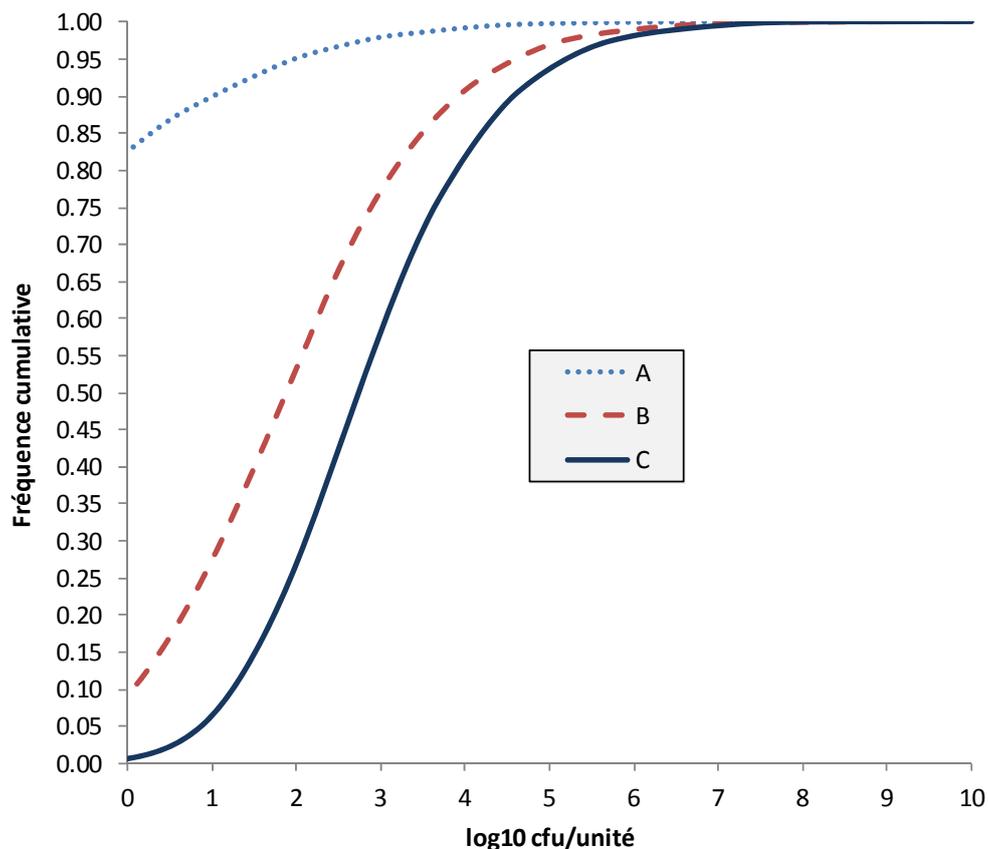
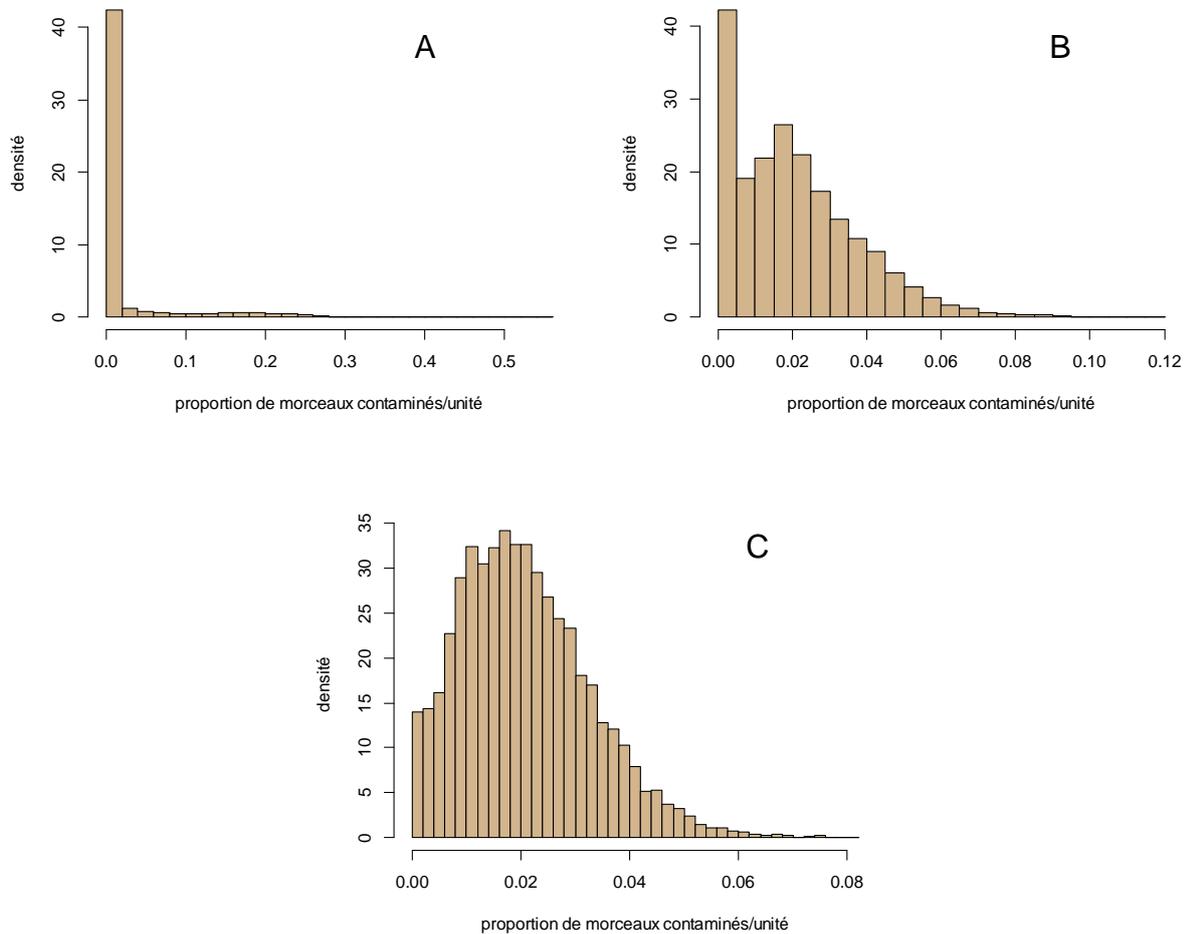


Figure 6 : Fréquence cumulative des niveaux de contamination en STEC-PHP simulée pour 10 000 unités de minerais (*N*) en fonction de la taille des unités de minerais (A : 5 carcasses/50 kg ; B : 60 carcasses/500 kg ; C : 120 carcasses/1 000 kg) - voir la figure 4 pour les étapes de calculs.



**Figure 7 : Proportion de morceaux de viande contaminés pour 10 000 unités de minerai simulées (A : 5 carcasses/50 kg ; B : 60 carcasses/500 kg ; C : 120 carcasses/1 000 kg).**

### 3.3.2. Probabilité de non-conformité des unités de minerai et de mêlées contaminées

Le tableau 2 présente le pourcentage estimé des minerais et mêlées non conformes. Il est important de rappeler que le modèle simule seulement la période de forte excrétion des STEC-PHP et tient compte de la prévalence des cinq sérotypes pathogènes majeurs. La comparaison avec les résultats des plans de surveillance de la DGAI, qui couvrent une année entière et seulement le sérotype O157:H7, ne peut donc pas se faire directement.

En moyenne, 3,8% à 4,7% des unités de minerais seront considérées non conformes selon le critère microbiologique « minerai » proposé. Ce niveau de détection est expliqué d'une part par la faible proportion de morceaux contaminés par unité de minerai et d'autre part, parce que chacune des prises d'essai est faite sur un seul morceau (figure 7).

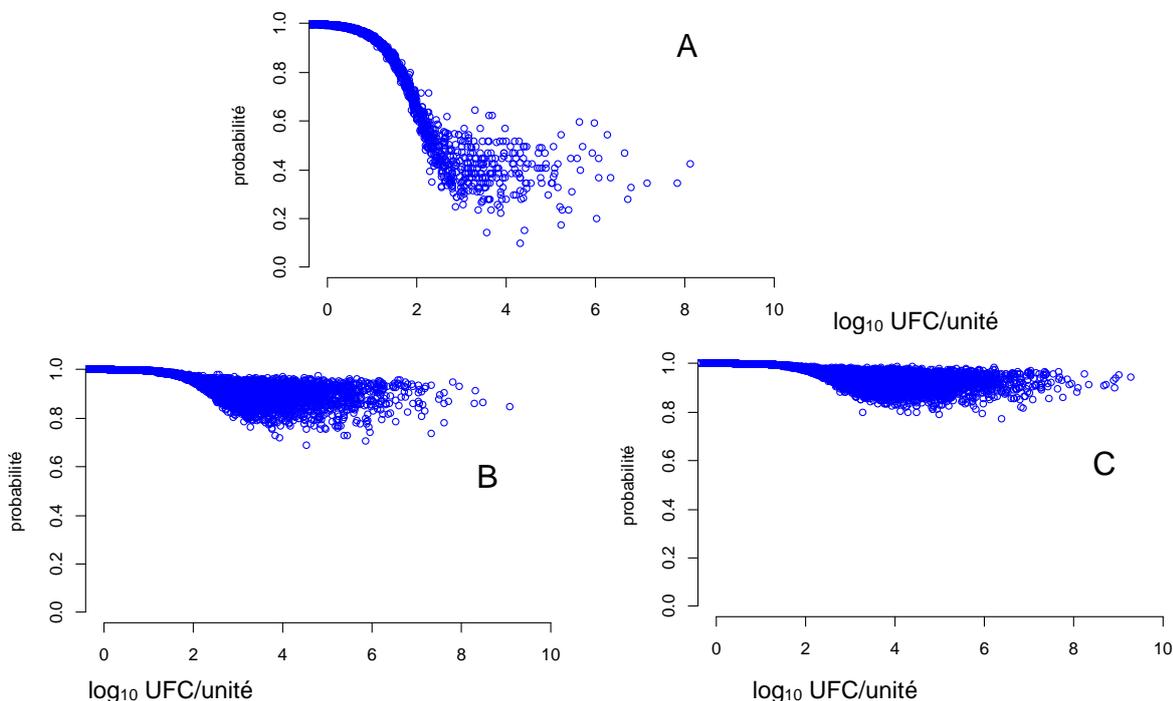
Pour les petites unités de minerai, bien que la pression d'échantillonnage soit plus grande (4 x 75 g pour 50 kg), le pourcentage d'unités non conformes est faible du fait de la forte proportion d'unités non contaminées (figure 6A).

En ce qui concerne l'application du critère microbiologique sur les unités de mêlées, le pourcentage de non conformités, varie entre 1,3% et 18,2% selon le type de production et

l'hypothèse d'homogénéité de la distribution des bactéries dans les unités de mêlées. Sous l'hypothèse d'une distribution hétérogène, le pourcentage de non-conformité est de 1,3% pour les mêlées de petite taille et de 5,5 et 7,8% pour les mêlées respectivement de taille moyennes et grandes.

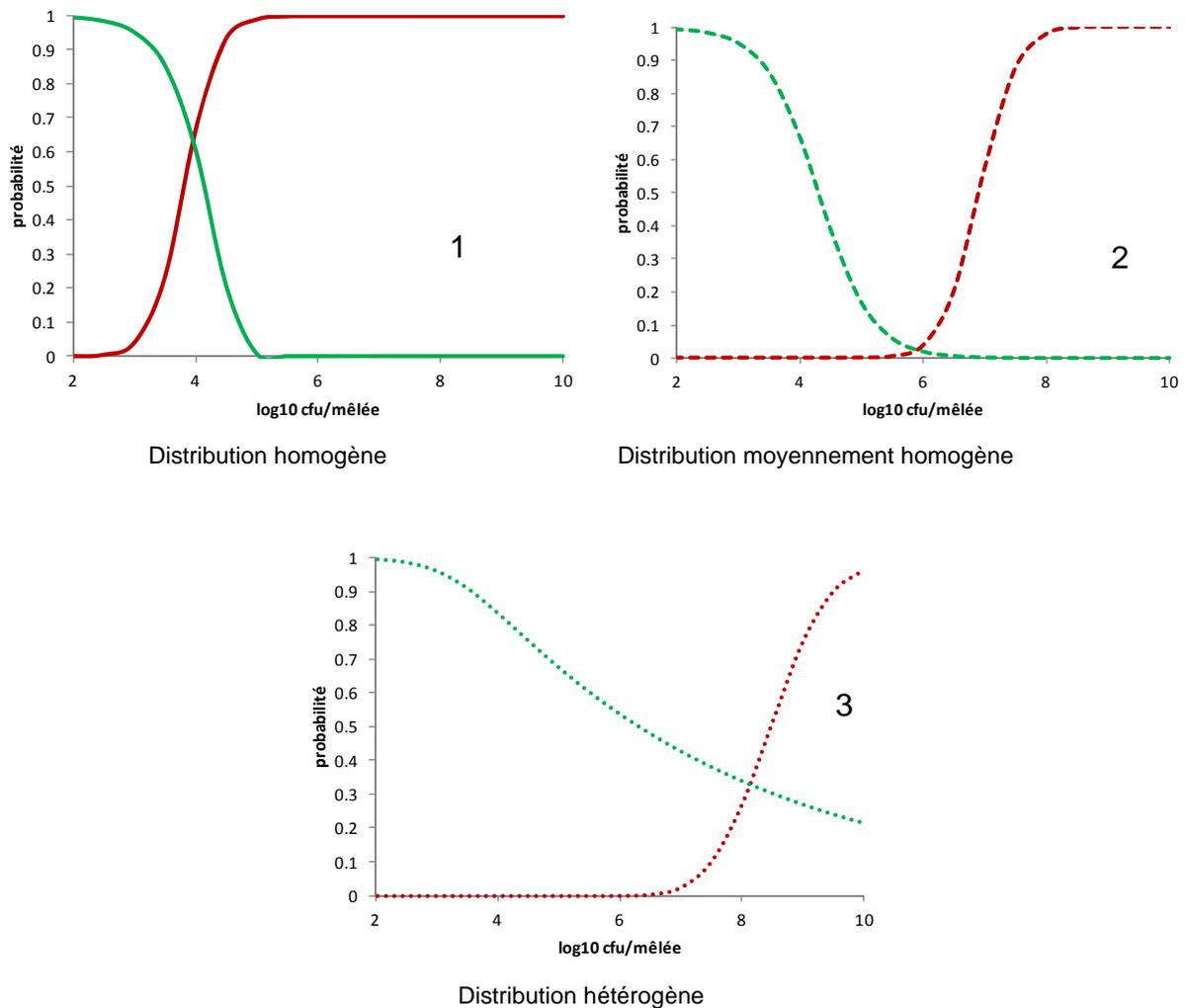
**Tableau 2. Pourcentage de non-conformité en fonction du type de production, du critère microbiologique (mineraï :  $n=4$ ,  $m$ =absence dans 75 g et  $c=0$ , ou mêlée :  $n=1$ ,  $m$ =absence dans 25 g et  $c=0$ ) et du niveau d'homogénéité de la distribution des bactéries dans les mêlées suites aux opérations de fabrication des steaks hachés**

Taille des unités de mineraï/mêlée	Pourcentage de non-conformité			
	Critère "mineraï"	Critère "mêlée"		
		Homogène ( $b=1\ 000$ )	Moyennement homogène ( $b=1$ )	Hétérogène ( $b=0,1$ )
50 kg - 5 carcasses	3,8%	2,9%	2,5%	1,3%
500 kg - 60 carcasses	4,5%	12,6%	11,1%	5,5%
1 000 kg - 120 carcasses	4,7%	18,2%	15,9%	7,8%



**Figure 8 : Probabilité de conformité de 10 000 unités de mineraï simulées, selon le critère  $n=4$ ,  $m$ =absence dans 75 g,  $c=0$ , en fonction du niveau de contamination de l'unité (A : 5 carcasses/50 kg ; B : 60 carcasses/500 kg ; C : 120 carcasses/1 000 kg).**

La variation de la probabilité de conformité des unités de minerais (absence de détection de STEC-PHP selon l'application du critère microbiologique "mineral" :  $n=4$ ,  $m$ =absence dans 75g,  $c=0$ ) en fonction du niveau de contamination est présentée dans la figure 8. Mises à part les petites unités de minerai, la probabilité de conformité des unités reste élevée même pour les unités fortement contaminées (supérieures à  $5 \log_{10}$  UFC/unité). Pour les unités fortement contaminées, la probabilité de conformité pour un niveau de contamination donné varie entre les unités. Cette variation s'explique par le fait qu'un même nombre de bactéries par unité peut être obtenu avec un nombre variable de morceaux contaminés. Plus le nombre de morceaux contaminés est grand plus la probabilité de tirer au sort un morceau contaminé est grande.



**Figure 9 : Probabilité de conformité d'une môle (selon le critère « môle »  $n=1$ ,  $m$ =absence dans 25 g et  $c=0$  ; courbes vertes), et de survenue de cas épidémiques de SHU (courbes rouges) en fonction du niveau de contamination de l'unité de môle (60 carcasses/500 kg) ; 1 : distribution homogène ( $b=1000$ ) ; 2 : distribution moyennement homogène ( $b=1$ ) ; 3 : distribution hétérogène ( $b=0,1$ ).**

La figure 9 montre que la probabilité de conformité des unités de môle (au critère microbiologique  $n=1$ ,  $m$ = absence dans 25 g et  $c=0$ ) diminue en fonction de leurs niveaux de contamination pour des unités de taille moyenne (60 carcasses/500 kg). Dans le cas d'une distribution homogène ou moyennement homogène (figures 9.1 et 9.2), la probabilité de conformité

est proche de zéro lorsque la contamination dépasse  $6 \log_{10}$  UFC/mêlée. Cependant, dans le cas d'une distribution hétérogène (figure 9.3), la probabilité de conformité est de l'ordre de 50% lorsque la contamination avoisine  $6 \log_{10}$  UFC/mêlée.

Pour les unités fortement contaminées, les probabilités de conformité au critère « mêlée » (figure 9) sont toujours supérieures à celles au critère « minerai » (figure 8).

La probabilité de survenue de cas épidémiques de SHU en fonction des niveaux de contamination des mêlées croît plus rapidement lorsque la distribution des bactéries dans les mêlées est homogène (figure 9), parce qu'une plus grande quantité de steaks hachés est contaminée. Les simulations effectuées pour des unités de mêlées de 60 carcasses/500 kg avec une distribution homogène des bactéries montre que pour un niveau de contamination de l'ordre de  $4 \log_{10}$  UFC/mêlée, la probabilité de survenue de cas épidémiques est proche de 60%.

Les probabilités de conformité évoluent dans le sens inverse des probabilités de survenue de cas épidémiques. La figure 9 montre le croisement des courbes des probabilités de conformité et de survenue des cas épidémiques en fonction du niveau de contamination des mêlées et du degré d'homogénéité de la distribution des bactéries dans la mêlée. Un critère microbiologique est d'autant plus efficace, en terme de protection des consommateurs, lorsque les deux courbes se croisent au niveau des valeurs les plus basses de l'axe des ordonnées. Ainsi, le critère est plus efficace dans la situation d'une distribution moyennement homogène des bactéries et moins efficace dans le cas d'une distribution homogène (figure 9).

### **3.4. Conclusions**

Faute de données suffisantes ou suffisamment précises à certaines étapes critiques de la modélisation, le modèle d'appréciation quantitative du risque présente des limites. Il se base notamment sur les hypothèses suivantes :

- Une unité de minerai équivaut à une unité de mêlée, alors que selon l'audition des professionnels de la filière des viandes hachées bovines, une unité de minerai peut servir à la fabrication de plusieurs mêlées,
- trois scénarios de mise en œuvre de mêlées (5, 60 et 120 carcasses) sont définis, or le nombre de carcasses mises en œuvre dans la fabrication du minerai est très variable,
- Trois degrés d'homogénéité sont définis mais dont la pertinence devrait être vérifiée par des études,
- La prévalence des STEC-PHP est considérée sur la période de plus forte excrétion pour maximiser l'exposition du consommateur mais n'est représentatif que 6 mois de l'année,
- Les étapes intermédiaires du modèle, comme par exemple les taux de transfert de contamination, reposent sur une seule étude et n'ont pas fait l'objet de validation ultérieure.

Les résultats de ce modèle doivent donc être interprétés comme un ordre de grandeur des réductions des risques. De plus, par manque de temps, il n'a pas été possible d'inclure les incertitudes sur les paramètres clés du modèle car cela aurait nécessité l'obtention de données complémentaires. Une analyse plus complète nécessitera le recours à la collecte de nouvelles données pour caractériser ces limites et leurs impacts sur la réduction du risque.

### 3.4.1. Réduction de la survenue de cas épidémiques de SHU liés à la consommation de viande hachée de bœuf

Le tableau 3 présente la réduction de la probabilité de survenue de cas groupés (épidémiques) de SHU liés à la consommation de viande hachée de bœuf. Les calculs :

- supposent l'application d'une méthode analytique parfaite détectant les cinq sérotypes majeurs des STEC pathogènes. Dans la mesure où le projet de critère cible uniquement le sérotype O157:H7, la réduction du risque attendue devrait être revue à la baisse.
- considèrent uniquement la survenue de cas groupés (2 cas de SHU au moins).

Concernant l'application du critère microbiologique sur les minerais ( $n=4$ ,  $m$ =absence dans 75g,  $c=0$ ), la réduction du risque épidémique est autour de 57% pour les mêlées de petites tailles (50 kg constituées de 5 carcasses), de 6% pour les mêlées de tailles moyennes (500 kg constituées de 60 carcasses) et de 3% pour les mêlées de grandes tailles (1 000 kg constituées de 120 carcasses).

La réduction du risque épidémique est plus élevée selon l'application du critère microbiologique sur les mêlées que sur les minerais. Compte tenu de l'incertitude sur le niveau d'homogénéité de la distribution des bactéries dans les mêlées, la réduction du risque attendue pourrait être comprise entre 44,66 et 99,87%.

**Tableau 3. Réduction de la probabilité de survenue de cas épidémiques de syndrome hémolytique et urémique (SHU) en fonction du type de production, du critère microbiologique (minerai :  $n=4$ ,  $m$ =absence dans 75 g et  $c=0$ , ou mêlée :  $n=1$ ,  $m$ =absence dans 25 g et  $c=0$ ) et du niveau d'homogénéité de la distribution des bactéries dans les mêlées suites aux opérations de fabrication des steaks hachés en période de forte excrétion**

Taille des unités de minerai/mêlée	Réduction de la probabilité de survenue de cas épidémique de SHU					
	Mêlée homogène ( $b=1$ 000)		Mêlée moyennement homogène ( $b=1$ )		Mêlée hétérogène ( $b=0,1$ )	
	Critère "minerai" <sup>1</sup>	Critère "mêlée"	Critère "minerai" <sup>1</sup>	Critère "mêlée"	Critère "minerai" <sup>1</sup>	Critère "mêlée"
50 kg - 5 carcasses	57,83%	92,73%	57,03%	99,87%	56,39%	65,13%
500 kg - 60 carcasses	6,37%	63,00%	6,00%	99,50%	4,84%	65,52%
1 000 kg - 120 carcasses	3,04%	44,66%	3,65%	99,07%	4,63%	59,40%

<sup>1</sup> : Le caractère plus ou moins homogène des mêlées doit être pris en compte pour les minerais non conformes qui échappent à la détection.

La réduction du risque estimée ici concerne la période de forte excrétion et ne doit pas être extrapolée à toute autre situation (période de faible excrétion).

Le plan d'échantillonnage proposé pour les mêlées réduira la survenue de cas épidémiques. Le plan d'échantillonnage proposé pour les minerais n'aura qu'un effet très faible sur la réduction de ce risque (voir tableau 3).

La réduction du risque est plus faible pour les mêlées de grandes tailles quel que soit le critère appliqué car la taille de l'échantillon est fixe et indépendante de la taille de la mêlée.

L'efficacité du critère microbiologique dépend du niveau d'homogénéité de la distribution des bactéries STEC dans la viande hachée pour lequel des études et des observations sont

nécessaires. Le critère est plus efficace dans la situation d'une distribution moyennement homogène des bactéries et moins efficace dans le cas d'une distribution homogène.

### **3.4.2. Voies d'amélioration des protocoles d'échantillonnage**

Plusieurs voies d'amélioration sont possibles :

- La taille de l'échantillon analysé selon le critère microbiologique « minerais » pourrait être augmentée. Toutefois, cette voie d'amélioration n'est pas très efficace car pour atteindre des niveaux de réduction comparables à ceux estimés selon le critère microbiologique « mûlée » il faudrait un nombre très élevé d'échantillons. Par exemple, pour une mûlée de 500 kg et 20 échantillons de 75 g analysés par unité de minerais, la réduction du risque épidémique est inférieure à 30%.
- Pour atteindre les niveaux de performances calculés, le critère microbiologique doit inclure l'ensemble des cinq sérotypes des STEC potentiellement hautement pathogènes. Si le critère microbiologique cible uniquement les STEC O157:H7, la réduction du risque épidémique est à diviser par environ un facteur 2 dans la mesure où ce sérotype représente la moitié des STEC-PHP isolés chez les bovins avant leur abattage. A l'heure actuelle, la méthode de détection utilisée permet uniquement de détecter la souche O157:H7. Or quatre autres sérotypes potentiellement hautement pathogènes non détectables par cette méthode (O103:H2, O26:H11, O145:H28 et O111:H8) peuvent être excrétés par les bovins. Il semble nécessaire, pour réduire le nombre de cas épidémiques de SHU, de mettre au point une méthode de détection efficace pour l'ensemble des cinq sérotypes de STEC potentiellement hautement pathogènes.
- Le critère microbiologique pourrait être appliqué à l'ensemble des viandes hachées consommées en France, pas seulement aux viandes hachées produites en France. Un tiers environ des viandes hachées consommées en France sont produites en dehors du territoire national. Une application du critère microbiologique à l'ensemble des viandes hachées consommées permettrait d'augmenter la réduction du risque épidémique.

Le modèle construit pour répondre à la saisine a nécessité certaines simplifications et hypothèses. Il ne peut donc refléter toute la complexité de l'organisation commerciale d'une filière qui, partant de carcasses de bovins, passe par une étape de découpe et par la constitution de ce qu'on nomme "minerais", pour aboutir à une mûlée de viande hachée. Des données chiffrées et validées manquent pour réduire l'incertitude.

L'objectif du modèle n'était pas d'estimer le risque, mais de construire une situation de référence permettant de comparer l'efficacité de deux plans d'échantillonnage pour prévenir les épidémies. Cette situation de référence est basée sur une période de forte excrétion et ne prend pas en compte les cas sporadiques. Les résultats du modèle sont susceptibles d'évoluer si de nouvelles données viennent l'alimenter.

En tout état de cause, la mise en œuvre des mesures d'hygiène prises par les filières et du plan d'échantillonnage sur les mûlées contribuera à la réduction de la survenue des cas épidémiques.

## **4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE**

L'agence endosse les conclusions du CES BIORISK relatives 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 ».

Entre 1996 et 2012, 1685 cas de syndrome hémolytique et urémique (SHU) ont été notifiés, parmi ceux-ci, seuls 2,5% sont de nature épidémique (au moins 2 cas groupés) et imputables à la

consommation de viandes hachées ; les autres étant des cas sporadiques d'origine alimentaire ou non<sup>1</sup>. Les épidémies de SHU liées à la viande hachée sont donc relativement rares mais peuvent entraîner des décès et des séquelles rénales graves chez de jeunes enfants. Trois épidémies entre 2004 et 2014 ont entraîné 42 cas sur les 1034 notifiés sur cette période<sup>2</sup>.

En 2011, l'Anses avait indiqué que la mise en place d'analyses microbiologiques était de nature à réduire le risque de survenue de cas groupés de SHU, sans pouvoir faute de données suffisantes quantifier cette réduction.

La question posée concerne la comparaison d'efficacité entre deux protocoles d'échantillonnage l'un sur minerai, l'autre sur mûlée pour prévenir les SHU épidémiques liés à la consommation de steaks hachés. Les réductions d'impact calculées dans le cadre de cet avis portent sur les seuls cas de nature épidémique.

La modélisation effectuée, quoique sophistiquée compte tenu de la multiplicité des étapes à prendre en compte a néanmoins du fixer certains paramètres maximisant l'exposition du consommateur :

- sélection de la seule période de forte excrétion chez les bovins ;
- détection de tous les sérotypes de STEC-PHP avec la méthode utilisée, alors que la méthode actuelle ne permet de détecter que le O157:H7 ;
- intégration des carcasses souillées après parage alors que les professionnels préconisent de ne pas les utiliser pour la fabrication de steaks hachés ;
- application des mesures évaluées sur l'ensemble des steaks hachés consommés en France (scénario réaliste uniquement dans le cadre de l'adoption de ces mesures à un niveau supranational, puisqu'une part non négligeable des steaks hachés consommés en France sont aujourd'hui produits à l'étranger).

Dans le temps imparti, il n'a été possible ni d'analyser la sensibilité du modèle à ses différents paramètres d'entrée, ni d'élargir la question posée afin de prendre en compte l'ensemble des cas de SHU (épidémiques et sporadiques) liés à la consommation de steaks hachés.

L'application du protocole d'échantillonnage dans les mûlées montre une efficacité supérieure à celui proposé sur les minerais. La réduction de la probabilité de survenue des cas épidémiques calculé par le modèle, compte tenu de ses limites et des choix conservateurs effectués, est à interpréter comme un ordre de grandeur ; celui-ci est compris entre 44 et 99% dans le cas du protocole sur les mûlées. Ce niveau de réduction ne peut être extrapolé aux cas sporadiques ; une telle estimation nécessiterait une adaptation importante du modèle.

Par ailleurs, l'Agence rappelle ses recommandations appelant les jeunes enfants, les femmes enceintes et les personnes immunodéprimées à consommer la viande hachée bien cuite à cœur.

**Marc MORTUREUX**

<sup>1</sup> Pour les cas sporadiques il est très difficile d'estimer la part imputable à l'alimentation.

<sup>2</sup> Données épidémiologiques du SHU chez l'enfant âgé de moins de 15 ans en France, <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Syndrome-hemolytique-et-uremique/Donnees-epidemiologiques-du-SHU-chez-l-enfant-age-de-moins-de-15-ans-en-France>, (source au 28/04/14).

## MOTS-CLES

Critère microbiologique, *E. coli* O157:H7, STEC, viande hachée, bœuf, minerais

## BIBLIOGRAPHIE

- Anses (2009). Rapport d'étude individuelle nationale des consommations alimentaires 2 (INCA2) 2006-2007.
- Anses (2010a). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail du 10 décembre 2010 relatif aux contaminations microbiologiques des viandes à l'abattoir (Saisine n°2008-SA-0308).
- Anses (2010b). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail du 11 janvier 2011 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 leur prise en compte du danger lié aux *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC) dans les aliments (Saisine n°2010-SA-0031).
- Bibbal, D., Auvray, F., Kérourédan, M., Peytavin, C., Ferre, F., Cartier, P., Oswald, E., Gay, E., Loukiadis, E. and Brugère, H. (2012). Fecal carriage of shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes O157:H7, O26:H11, O103:H2, O145:H28 and O111:H8 in French cattle. *Zoonoses and Public Health*, 59 (S1), 12.
- Barkocy-Gallagher, G. A., Arthur, T. M., Rivera-Betancourt, M., Nou, X., Shackelford, S. D., Wheeler, T. L. and Koochmaraie, M. (2003). Seasonal prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli*, including O157:H7 and non-O157 serotypes, and *Salmonella* in commercial beef processing plants. *Journal of Food Protection*, 66 (11), 1978-1986.
- Bergis, H., Cornu, M., Zuliani, V., Albert, I and Denis, J.-B. (2009). Impact des pratiques de cuisson sur les risques microbiens alimentaires. Rapport AFSSA/IFIP/INRA (60 pages).
- Cassin, M. H., Lammerding, A. M., Todd, E. C. D., Ross, W. and McColl, R. S. (1998). Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef hamburgers. *International Journal of Food Microbiology*, 41 (1), 21-44.
- Cummins, E., Nally, P., Butler, F., Duffy, G. and O'Brien, S. (2008). Development and validation of a probabilistic second-order exposure assessment model for *Escherichia coli* O157:H7 contamination of beef trimmings from Irish meat plants. *Meat Science*, 79 (1), 139-154.
- Delignette-Muller, M. L. and Cornu, M. (2008). Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in frozen ground beef patties consumed by young children in French households. *International Journal of Food Microbiology*, 128 (1), 158-164.
- Institut de l'élevage (2011). Ou va le bœuf ? Quel produit pour quel marché ? *Le dossier Economie de l'élevage*, n°417.
- Nauta, M. J. (2005). Microbiological risk assessment models for partitioning and mixing during food handling. *International Journal of Food Microbiology*, 100 (1-3), 311-322.
- Smith, B. A., Fazil, A. and Lammerding, A. M. (2013). A risk assessment model for *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef and beef cuts in Canada: Evaluating the effects of interventions. *Food Control*, 29(2), 364-381.
- Stephens, T. P., McAllister, T. A. and Stanford, K. (2009). Perineal swabs reveal effect of super shedders on the transmission of *Escherichia coli* O157:H7 in commercial feedlots. *Journal of Animal Science*, 87 (12), 4151-4160.
- Strachan, N. J. C., Doyle, M. P., Kasuga, F., Rotariu, O. and Ogden, I. D. (2005). Dose response modeling of *Escherichia coli* O157 incorporating data from foodborne and environmental outbreaks. *International Journal of Food Microbiology*, 103 (1), 35-47.

## ANNEXE(S)

### Annexe 1 : Récapitulatif des paramètres d'entrée du modèle

Paramètres	Nature	Symbole	Unité	Valeur	Référence
Prévalence de la contamination des fèces	F	$P_f$	%	3,9%	Auvray et <i>al.</i> , 2012
Ratio de transfert des fèces aux cuirs	V	$RT_{f_{cuir}}$	/	~log-Normale(3,193 ; 0,106)	Barkocy-Gallagher et <i>al.</i> , 2003
Concentration en STEC-PHP dans les fèces	V	$C_f$	$\log_{10}$ UFC/g	~Normale(1,82 ; 2,43)	Stephens et <i>al.</i> , 2009
Fraction de transfert des bactéries vers le cuir	V	$FT_{f_{cuir}}$	/	~Log-logistique(-3,77 ; 2,29 ; 10,3)	Smith et <i>al.</i> , 2013
Ratio de transfert des cuirs vers la surface des carcasses	V	$RT_{cuirC}$	/	~Normale(0,237 ; 0,009)	Barkocy-Gallagher et <i>al.</i> , 2003
Fraction de transfert des bactéries du cuir vers la surface des carcasses	V	$FT_{cuirC}$	/	~Logistique(-1,97 ; 0,457)	Smith et <i>al.</i> , 2013
Probabilité de rupture des viscères	V	$Ex$	%	Variable entre 0,1% et 1%	Cummins et <i>al.</i> , 2008
Quantité du contenu des viscères souillant la carcasse	V	$q$	g	~Uniforme (1 ; 50)	Smith et <i>al.</i> , 2013
Surface contaminée sur la carcasse	V	$a$	cm <sup>2</sup>	~Triangulaire ( $\log_{10}(30)$ ; $\log_{10}(300)$ ; $\log_{10}(3\ 000)$ )	Cummins et <i>al.</i> , 2008 ; Smith et <i>al.</i> , 2013
Surface totale de la carcasse	F	$TSA$	cm <sup>2</sup>	32 000	Smith et <i>al.</i> , 2013
Nombre de carcasses par unité de minerai	F	$nbc$		Scénario 1 : 5 ; Scénario 2 : 60 ; Scénario 3 : 120	
Masse d'une unité de minerai/mêlée	F	$T$	kg	Scénario 1 : 50 ; Scénario 2 : 500 ; Scénario 3 : 1 000	
Masse d'un morceau $j$ d'une carcasse $i$	V	$M_{ji}$	g	~Triangulaire(50,500,1 000)	Smith et <i>al.</i> , 2013
Fraction des bactéries se trouvant dans les morceaux destinés à la fabrication des viandes hachées	V	$F_{vhi}$		~Uniforme (0,75 ; 0,90)	Smith et <i>al.</i> , 2013
Coefficient d'hétérogénéité de l'unité de mêlée	F	$b$		Homogène : 1 000 ; Moyennement homogène : 1 ; Hétérogène : 0,1	Anses, 2010b
Proportion de steaks hachés consommés par des enfants de moins de 15 ans	F	$Pe$		0,10	Anses, 2010b
Probabilité de développement d'un SHU sachant l'infection	F	$P_{SHU Inf}$		0,10	Strachan et <i>al.</i> , 2005
Paramètre de la relation dose réponse exponentielle	F	$r$		$1,13 \cdot 10^{-3}$	Strachan et <i>al.</i> , 2005
Nombre de réduction décimale en fin de cuisson	V	$RD$		Voir tableau 1	Bergis et <i>al.</i> , 2009