



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 7 novembre 2016

NOTE

d'appui scientifique et technique

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,

de l'environnement et du travail

relatif à l'évaluation des protocoles d'échantillonnage des laits et fromages morbier et mont d'or en vue de réduire le risque épidémique de salmonellose

L'Anses a été saisie le 28 juillet 2016 par la Direction générale de l'alimentation pour la réalisation de l'appui scientifique et technique suivant : demande d'appui pour l'évaluation des protocoles d'échantillonnage des laits et fromages morbier et mont d'or en vue de réduire le risque épidémique de salmonellose.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA DEMANDE

En région Franche-Comté, les données de surveillance des salmonelles en filière bovine indiquent une contamination régulière des laits et de certains fromages au lait cru par *Salmonella* Dublin. Malgré la vigilance de la filière vis-à-vis de cette contamination, une épidémie ayant touché principalement des personnes âgées ou fragilisées et responsable de 92 malades et 10 décès, a été attribuée à la consommation de morbier et mont d'or contaminés par *Salmonella* Dublin, au cours de la période de novembre 2015 à avril 2016. Les protocoles d'autocontrôle sur les fromages ont été renforcés à partir de février 2016. Depuis août 2016, les protocoles d'autocontrôle sur le lait ont eux aussi été renforcés.

Malgré cette vigilance, le contrôle d'un lot réalisé après la mise sur le marché, mi-juillet 2016, a révélé la présence de *Salmonella* Dublin dans un établissement, entraînant des mesures correctives.

Dans ce contexte épidémique, la question de l'efficacité des contrôles du lait et des fromages pour les périodes considérées normales et les périodes à risque se pose.

Après échanges avec la DGAI, la demande reformulée porte sur les points suivants :

1. Evaluer qualitativement le protocole d'échantillonnage, sa cohérence, ses limites.
2. Formuler des recommandations pour le recueil de données nécessaires à une future évaluation quantitative du risque.
3. Evaluer quantitativement le risque épidémique de salmonellose associé au protocole du syndicat.

Les questions 1 et 2 seront traitées dans un premier temps sous la forme d'un rendu intermédiaire (objet de la présente note d'appui scientifique et technique).

La question 3 sera traitée dans un second temps, dans le cadre d'un avis de l'Anses.

2. ORGANISATION DES TRAVAUX

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) ».

Comme décrit précédemment, les travaux se divisent en deux sous-parties, séparées dans le temps :

- 1^{ère} partie : Evaluation qualitative du protocole d'échantillonnage, de sa cohérence, de ses limites et formulation de recommandations pour le recueil de données, sous la forme d'un appui scientifique et technique.
- 2^{nde} partie : Evaluation quantitative du risque de salmonellose lié à la consommation de morbier et mont d'or. Cette évaluation sera rendue sous forme d'avis.

Cette note d'appui scientifique concerne donc la 1^{ère} partie des travaux.

Cet appui scientifique et technique a été effectué sur la base d'un rapport initial réalisé par trois experts rapporteurs, et la méthodologie a été présentée pour commentaires au Comité d'experts spécialisé « Evaluation des risques biologiques liés aux aliments » (CES Biorisk) le 18 octobre 2016 et le 08 novembre 2016.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts 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).

La méthodologie retenue a été de recueillir dans un premier temps, auprès des syndicats interprofessionnels AOP morbier – mont d'or – bleu de Gex Haut-Jura, les données les plus à jour possible concernant les protocoles (initiaux et renforcés) d'autocontrôles microbiologiques des laits et fromages en filière mont d'or et morbier.

Les experts rapporteurs ont alors procédé à l'analyse critique des modalités d'autocontrôles tels qu'ils ont été réalisés au cours de l'année (protocoles initiaux puis renforcés). Cette lecture critique s'est accompagnée d'une réflexion sur la spécificité du sérotype *Salmonella* Dublin, basé sur des éléments bibliographiques. Enfin, pour compléter leur analyse critique, les rapporteurs ont formulé des recommandations sur le protocole et sur les modalités de recueil des données.

En l'absence des résultats individuels d'analyses microbiologiques et au regard du temps imparti pour la présente analyse, les résultats sont rendus sous forme qualitative, comme expliqué précédemment ; une analyse quantitative suivra sous forme d'un avis de l'Anses courant 2017.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS

3.1 Description de la spécificité du sérotype *Salmonella* Dublin

Salmonella enterica sous espèce *enterica* présente une grande variabilité antigénique permettant d'identifier plus de 1500 sérotypes différents. Parmi ceux-ci, certains sérotypes présentent une pathogénicité particulière pour l'Homme (à l'instar des sérotypes Typhi et Paratyphi ou Sendai), d'autres sont pathogènes pour certaines espèces animales.

C'est, par exemple, le cas de *S. Choleraesuis* chez le porc, de *S. Gallinarum* et *Pullorum* chez *Gallus gallus* et *Salmonella* Dublin chez le bovin. Les formules antigéniques de ces sérotypes présentent un antigène somatique différentiel : O9, correspondant à leur appartenance au séro groupe D. Il convient de rappeler ici que d'un point de vue taxonomique, la différence entre les sérotypes Dublin et Typhimurium (séro groupe B) porte sur les formules antigéniques et se situe donc à un niveau inférieur de celui de la sous-espèce. De plus, au sein d'un sérotype donné, il peut exister différents sous-types et pathotypes.

Des travaux ont confirmé par ailleurs que les supports de pathogénicité ou de virulence retrouvés chez *Salmonella* ne sont pas liés aux déterminants du sérotype : l'antigène O du LPS et la partie variable des gènes *fliC* et *fliB* (codant pour les flagellines). Cependant, la présence de l'antigène capsulaire polysaccharidique Vi présent chez les sérotypes Typhi, Paratyphi C et Dublin signe une pathogénicité accrue.

Dublin est un sérotype notoirement associé à la filière bovine qui a un impact économique important sur les troupeaux infectés présentant des signes cliniques. Ces derniers sont souvent observés chez

les veaux sous forme de septicémies, de mortalités subites et de pneumonies. Mais les adultes peuvent également être affectés et présenter des diarrhées et des avortements.

La persistance dans l'environnement de *S. Dublin* n'apparaît pas très différente de celle d'autres sérotypes (Kirchner, McLaren et al. 2012, Olsen, Hoegh-Andersen et al. 2012).

Les prélèvements composites d'environnement de la ferme sont recommandés pour y confirmer la présence de *Salmonella* Dublin (Warnick, Kaneene et al. 2003, Cummings, Warnick et al. 2010), mais ils restent à ce jour à optimiser en termes de sites et de nombres à prélever. Ainsi, la taille de l'échantillon et la diversité des sites prélevés restent déterminantes pour améliorer le seuil de détection de la technique.

La capacité de détection de l'approche bactériologique est réputée faible (Nielsen 2013), mais une optimisation spécifique du protocole de détection est clairement possible, en associant par exemple un enrichissement à une PCR spécifique (Krascenicsova, Kaclikova et al. 2006, Zhai, Kong et al. 2014) ou en associant une étape préalable de revivification. En effet, il est possible que les cellules bactériennes, selon la nature du prélèvement et les traitements appliqués, se trouvent dans un état viable mais non cultivable nécessitant ainsi des étapes de revivification avant d'appliquer une méthode de détection de *Salmonella*.

3.2 Description des protocoles d'échantillonnage morbier et mont d'or (protocoles initiaux et modalités du renforcement)

Les syndicats interprofessionnels du morbier et du mont d'or ont mis en place un protocole d'autocontrôles microbiologiques des laits et des fromages applicables à tous les ateliers de fabrication morbier et mont d'or.

La version de la saison 2014/2015 de ce protocole est désignée ci-après par le terme de « protocole de référence ».

Suite à une hausse inhabituelle de la prévalence de contamination des laits par *Salmonella* Dublin et d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) sur la période novembre 2015 à avril 2016, des protocoles dits « renforcés » ont été mis en place au cours de l'année 2016 sur les fromages (février 2016 avec modification en juin 2016) et les laits (août-septembre 2016) (Figure 1). Ces protocoles sont applicables jusqu'à la fin de l'année civile 2016.

Enfin, depuis le mois d'octobre 2016, il a été décidé par l'Union régionale des fromages d'appellation comtois de rendre obligatoire, pour tous les producteurs Appellation d'Origine Protégée (AOP) touchés par une alerte lait ou santé animale, l'analyse individuelle des laits 3 fois par mois pendant un an.

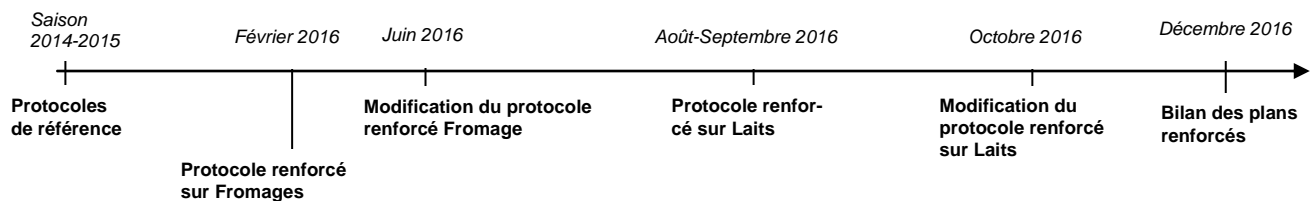


Figure 1. Schéma de l'historique des versions de protocoles d'autocontrôles sur laits et fromages

3.2.1 Analyses d'autocontrôles de *Salmonella* spp. selon le protocole de référence des syndicats interprofessionnels de morbier et mont d'or

3.2.1.1 Autocontrôles des laits

Le protocole de référence (appliqué lors de la saison 2014-2015 et jusqu'à février 2016) pour les autocontrôles concernant *Salmonella* spp. dans les laits est commun aux filières morbier et mont d'or.

Il est décrit par le schéma de la figure 2 : les laits des producteurs sont analysés au minimum trois fois par mois pour la recherche de *Salmonella* spp. Celle-ci est effectuée sur un échantillon de 25 ml de lait représentant un pool de producteurs (maximum 4 producteurs par pool). Le volume de lait prélevé chez chaque producteur est donc au minimum de 6,25 mL par producteur (en cas de pool de 4) et d'un maximum de 25 mL pour un seul producteur (absence de pool). Le mélange des laits individuels est effectué par le laboratoire et des échantillons des laits individuels sont conservés afin d'être analysés séparément en cas de résultat non-conforme du pool.

Un certain nombre d'ateliers analysent quotidiennement les laits de mélange mis en œuvre (analyse du lait ou du filtre à lait).

En cas de résultat non conforme, le lait poolé correspondant à un groupe de producteurs est écarté de la fabrication. En parallèle, les échantillons de lait correspondant à chacun des producteurs du pool sont analysés individuellement afin de retrouver le ou les producteurs en cause.

A la suite des analyses individuelles, plusieurs actions sont engagées :

- les laits conformes sont remis en production,
- le ou les producteurs identifiés non conformes sont écartés de la collecte,
- une intervention en ferme est réalisée par un technicien pour rechercher l'origine de la contamination et mettre en place des actions correctives,
- le lait du ou des producteurs identifiés non conformes continue à être analysé trois fois par mois.

La remise en fabrication du lait du ou des producteurs écartés peut être faite dès le premier résultat conforme, bien qu'il soit recommandé par le syndicat d'attendre trois résultats conformes.

D'autre part, les fabrications réalisées à partir du pool de lait contaminé doivent être identifiées :

- pour la fabrication de fromages morbier, des analyses doivent être effectuées selon un protocole renforcé par rapport au protocole de référence d'autocontrôles sur fromages,
- pour la fabrication de mont d'or, des analyses supplémentaires peuvent éventuellement être réalisées sur ces fabrications.

Les modalités de ces analyses renforcées ou supplémentaires sur les fabrications issues de lait contaminé ne sont pas précisées dans les documents transmis à l'Anses.

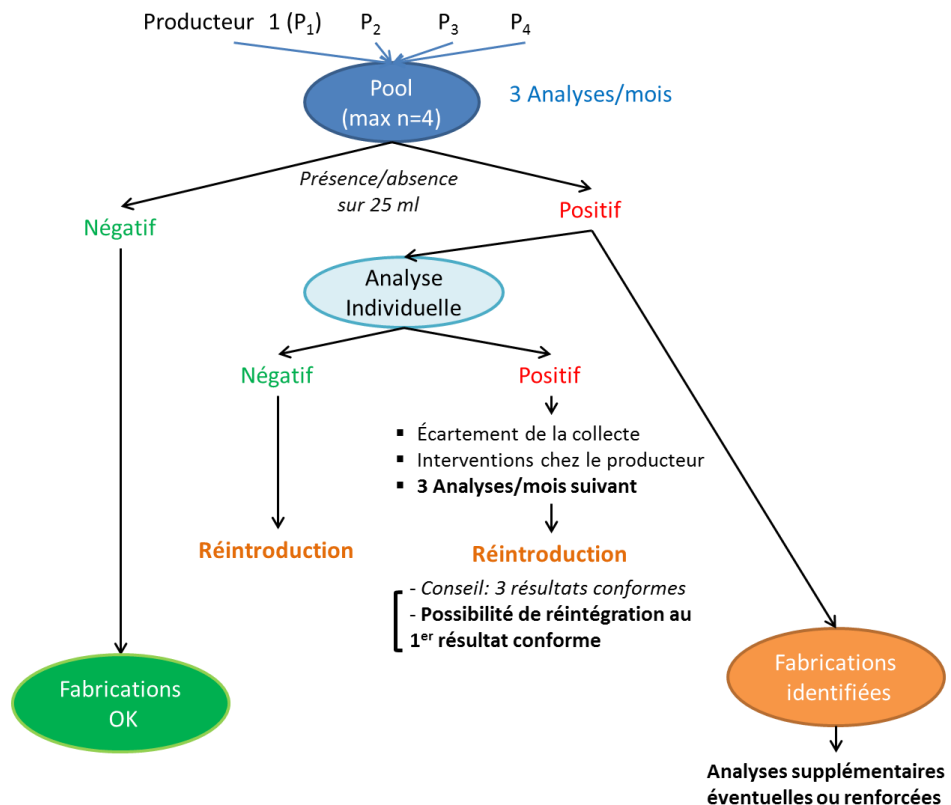


Figure 2. Descriptif du protocole de référence d'autocontrôles des laits servant à la fabrication de morbier et mont d'or vis-à-vis de *Salmonella* spp.

3.2.1.2 Autocontrôles des fromages

Les autocontrôles sur les fromages sont réalisés suivant un protocole différent pour la filière morbier et mont d'or. Ils sont donc présentés séparément.

Le morbier

Le protocole d'autocontrôles microbiologiques est basé sur la définition d'un lot de fromages. En filière morbier, un lot est défini par un ensemble homogène de matière première mis en œuvre c'est-à-dire les « mêmes producteurs mis en fabrication chaque jour », et ne peut pas excéder cinq jours de fabrication sur une semaine et 400 meules. Autrement dit, un lot regroupe les fromages fabriqués à partir de laits issus d'un même groupe de producteurs sur 5 journées de fabrication maximum dans une semaine dans la limite de 400 meules. Il est à noter qu'une journée de fabrication ne doit pas être affectée à deux lots différents. Dans le cas d'une production fermière, en raison du faible volume fabriqué, un lot est défini par la fabrication d'un mois maximum.

Tous les lots doivent être analysés pour la recherche de *Salmonella* spp. au stade affinage à partir de J+25.

Les prélèvements sont effectués sur :

- un fromage pour les lots de petite taille (≤ 40 fromages),
- cinq fromages pour les lots de plus de 40 fromages,
- deux fromages pour les lots de productions fermières.

Lorsqu'un lot regroupe plusieurs journées de fabrication, les prélèvements doivent être effectués sur des fromages de chaque journée. La recherche de salmonelles est réalisée sur un échantillon composite de 25 g dans le cas des lots de plus de 40 fromages ou des lots fermiers ou non à partir d'un seul fromage dans les autres cas. La prise d'essai est composée de 20% de croûte et de 80% de pâte.

En cas de résultat non conforme pour un lot constitué d'une seule journée de fabrication, le lot est détruit.

En cas de résultat non conforme sur un lot regroupant plusieurs journées de fabrication clairement identifiées et pouvant être ré-analysées individuellement, seule la ou les journées non-conformes doivent être détruites (suivant les directives des services vétérinaires).

D'autre part, des analyses suivant un protocole renforcé doivent être effectuées sur les jours encadrant le lot positif (J-3 et J+3). Les modalités du protocole renforcé ne sont pas définies dans les documents transmis à l'Anses. La source de contamination doit être recherchée et des actions correctives mises en place.

Le mont d'or

En fabrication mont d'or, le lot est défini comme étant l'ensemble des fromages issus de la même journée de fabrication.

Tous les lots doivent être analysés pour la recherche de *Salmonella* spp. au stade affinage entre J+13 et J+16. Les prélèvements sont effectués sur cinq fromages d'un lot et la recherche de salmonelles est réalisée sur un échantillon composite (5 x 5 g) de 25 g.

En cas de résultat non conforme, le lot est détruit et d'éventuelles analyses complémentaires sont effectuées en fonction du plan de contrôle de l'entreprise.

3.2.2 Analyses d'autocontrôles de *Salmonella* spp. selon le protocole renforcé en 2016

3.2.2.1 Autocontrôles renforcés des laits

Depuis le mois d'août 2016 pour la filière mont d'or, et le mois de septembre 2016 pour la filière morbier, un renforcement des analyses sur lait a été mis en place par rapport au protocole de référence décrit au paragraphe 3.2.1.1.

Il est recommandé par les syndicats d'abandonner les analyses par pool de producteur et de les remplacer par des analyses individuelles à la fréquence minimale de trois analyses par mois.

Cependant, d'autres options peuvent être mises en place par un atelier de fabrication.

Dans le cas où l'atelier analyse quotidiennement les laits de mélange mis en œuvre (analyse du lait ou du filtre à lait), l'analyse individuelle des laits de producteurs n'est pas obligatoire. Cependant l'analyse par pool de maximum quatre producteurs trois fois/mois reste nécessaire ainsi que la recherche individuelle en cas de résultat non-conforme du pool.

La gestion d'un résultat non-conforme de la matière première (lait) diffère si l'analyse a été réalisée sur lait ou sur un filtre à lait.

- Si la non-conformité vient d'une analyse du lait (individuel ou mélange) alors le lot (ou la journée de fabrication en cause si elle est identifiée) fabriqué à partir de ce lait doit être détruit.
- Si la non-conformité est détectée par une analyse du filtre à lait (citerne ou tank) et que la recherche dans les laits individuels est négative, alors le lot doit faire l'objet d'un contrôle renforcé selon le protocole de la DGAI (30 prélèvements pour 6 analyses) à minima.

3.2.2.2 Autocontrôles renforcés des fromages

En février 2016, il a été décidé que tous les ateliers de fabrication de morbier et mont d'or devaient appliquer au sens strict le règlement CE 2073/2005 en réalisant 5 analyses de 25 g (n=5) par lot et non un seul échantillon composite (n=1). Ces analyses sont réalisées sur 100% des lots. En cas de lot non-conforme, trois actions sont mises en place :

- Destruction du lot non conforme,
- Nouvelle analyse (en n=5) de la fabrication de la journée précédente,
- Analyse des 3 journées de fabrication suivantes selon le protocole de prélèvement de la DGAI : 6 analyses à partir de 30 prélèvements (6 composites de 25 g).

Depuis le mois de juin 2016, le protocole de prélèvement a été assoupli sous certaines conditions : les ateliers n'ayant fait l'objet d'aucune alerte pour salmonelles depuis au moins 3 mois ont la possibilité de contrôler leurs lots avec n=1 et non n=5. La gestion d'un lot positif suit le protocole défini en février 2016.

3.3 Analyse critique des protocoles

3.3.1 Remarques générales sur les protocoles

Les principales remarques d'ordre général sont les suivantes :

- il existe des incertitudes quant à la proportion de producteurs concernés et à la courte durée d'application d'un protocole conforme aux exigences du règlement CE 2073/2005, qui laissent penser qu'on ne peut parler que d'un protocole faiblement renforcé tant pour le lait que pour le fromage ;
- il existe des incertitudes quant à la méthode de détection : est-elle identique pour l'ensemble des analyses réalisées ? Il a été mentionné que la méthode utilisée pour la recherche des *Salmonella* dans les différents prélèvements était la méthode EASY *Salmonella*, méthode alternative validée par l'AFNOR comme équivalente à la méthode de référence ISO 6579-1. Après consultation du rapport de validation, il s'agit d'une méthode relativement ancienne dont la validation a été reconduite en 2013.

La méthode repose sur un test immuno-enzymatique permettant la détection d'antigène par la technique immunofluorescence par un système automatisé VIDAS. Les tests VIDAS positifs doivent toujours être confirmés par isolement des colonies sur gélose sélective. Les valeurs de spécificité, sensibilité¹ et exactitude de la méthode sont bonnes mais cinq échantillons « faux négatifs » sur un total de 359 échantillons ont été identifiés lors de cette étude de reconduction. Le protocole de la méthode EASY-*Salmonella* a été modifié avec l'utilisation d'un nouveau milieu d'enrichissement, dans ce cas, le nombre d'échantillons discordants est de quatre au total dont deux faux négatifs. Ainsi, il serait intéressant de connaître quel est le protocole de pré-enrichissement utilisé par les laboratoires d'analyses. Le seuil de détection dans le lait cru après contamination artificielle est de 0,6 cellule / 25 g. Une souche de sérotype Dublin a été testée dans l'étude d'inclusivité et a été détectée comme attendu.

Cependant, l'étude de comparaison des deux méthodes n'a pas testé les matrices morbier et mont d'or.

¹ Sensibilité : aptitude à détecter une bactérie lorsqu'elle est présente

3.3.2 Biais et limites associées aux protocoles

L'analyse critique des documents relatifs aux protocoles initiaux et renforcés d'autocontrôle sur laits et fromages a permis d'identifier les incertitudes et sources de biais suivantes :

- Le choix de faire l'analyse pendant l'affinage (J+13-16 ou J+25) et non sur le fromage en blanc manque d'argumentation. Des données de test de croissance ou d'analyse de survie (vieillessement) dans des fromages naturellement contaminés (éventuellement sur des bactéries indicatrices comme les entérobactéries à défaut de données sur *Salmonella*) sont notamment manquantes. Il serait pertinent de tenir compte de l'état physiologique des cellules bactériennes qui peuvent être non détectables à certains stades ou sous forme viable non cultivable ;
- la composition de la prise d'essai doit être justifiée par rapport aux caractéristiques du fromage et de *Salmonella* spp.. En effet, si la contamination est en surface, la croûte doit être majoritaire dans l'analyse. Si, au contraire, c'est la pâte qui permet/supporte la croissance/survie de *Salmonella*, la prise d'essai doit privilégier la pâte. Si la prise d'essai n'est pas correctement faite, le seuil de détection de l'analyse est dégradé ;
- il existe une incertitude quant à la proportion de lots de laits non conformes par catégorie (lot d'une journée, lot de plusieurs jours et lots fermiers) ;
- la remise en production dès la première analyse négative (au lieu de trois) n'est pas justifiée par une analyse du danger ;
- il n'existe pas de document unique présentant le protocole renforcé à appliquer de façon homogène par l'ensemble des ateliers (hormis les courriers successifs adressés aux ateliers);
- l'adhésion de l'ensemble des producteurs aux recommandations n'est pas chiffrée ;
- l'absence de protocole fromage renforcé systematique pendant les mois considérés à risque élevé est regrettable. Les producteurs n'ayant pas connu d'alerte avant cette période ne subissent pas le protocole renforcé pour les fromages.

3.3.3 Recommandations sur les protocoles

Les recommandations sur les modalités d'autocontrôles sur laits et fromages morbier et mont d'or en vue de réduire le risque épidémique de salmonellose sont les suivantes :

- mener une étude pour comparer l'impact du stade d'analyse (affinage ou fromage en blanc) sur les résultats d'analyse. Une telle étude permettra d'argumenter le choix du délai pour l'analyse sur les différents fromages ;
- apporter des éléments justificatifs au choix d'une analyse plus tardive que sur le fromage en blanc (notamment présenter les données d'évolution de la population d'entérobactéries, si des données de test de croissance ou de survie avec *Salmonella* ne sont pas disponibles au cours du procédé de fabrication (incluant l'affinage)) ;
- apporter des éléments justificatifs sur la composition de la prise d'essai. Si la prise d'essai n'est pas appropriée (par exemple si la croissance de *Salmonella* est privilégiée sur la croûte), le seuil de détection de l'analyse est d'autant dégradé.

Il est par conséquent important de mettre en œuvre des étapes d'enrichissement appropriées (temps, température) et, au besoin, de revivification.

De plus, une étude sur la distribution de la contamination sur une prise d'essai standardisée permettrait (en prenant en compte la proportion de fromages contaminés) d'évaluer le seuil de détection de l'analyse ;

- rendre systématiques et mieux décrites les analyses complémentaires en cas de résultat non conforme. En effet, en cas de détection d'un lot positif et compte tenu du seuil de détection de

la technique (élevé), il est nécessaire de justifier pourquoi des analyses complémentaires ne sont pas systématiques ;

- faire connaître la proportion des ateliers analysant quotidiennement les laits de mélange (et qui s'affranchissent donc de l'analyse individuelle des laits) ;
- rendre disponible, par atelier, les dates d'entrée et de sortie du protocole renforcé, le cas échéant. En effet, pour juger du bénéfice éventuel d'un protocole renforcé il faudrait que ce protocole soit appliqué par tous, ou, sinon, que la proportion de producteurs qui l'appliquent soit connue.

Les pistes de solutions et travaux à mener pour réduire l'incertitude sont donc :

- étudier les facteurs potentiels influençant la saisonnalité de la contamination des laits,
- réaliser des tests de croissance (challenge tests) ou de survie en condition de contamination naturelle (test de vieillissement) pour déterminer le stade le plus approprié pour la réalisation des analyses ;
- mettre en œuvre des autocontrôles sur l'environnement (porteurs asymptomatiques et opérateurs notamment) ;
- mieux décrire le procédé, ce qui permettrait de statuer sur la part respective de l'origine de la contamination : lait ou contamination post-fabrication (affinage) lors des manipulations des fromages dans les ateliers (les opérateurs pourraient alors avoir un rôle important) ;
- prendre en compte l'existence de cellules bactériennes viables non cultivables ;
- étudier les caractéristiques métrologiques de la méthode de détection sur les matrices à analyser, et comparer avec les performances d'autres méthodes de détection type PCR par exemple ;
- acquérir des informations pertinentes pour l'investigation en analysant finement les isolats. Ainsi, la transmission des souches à un laboratoire de référence (Réseau *Salmonella* à l'Anses) pour réaliser des analyses de caractérisation complémentaires permettrait d'apporter des éléments sur la traçabilité des souches circulantes et leur aspect clonal. Il est possible de mettre en œuvre des méthodes moléculaires telles que la PFGE, MLVA et le séquençage complet du génome (WGS) sur les souches provenant des différents compartiments : animaux d'élevage, environnement d'élevage, lait, chez les différents producteurs et fromages. En fonction des résultats de typage, il sera possible de déduire la présence d'un seul clone circulant et persistant dans un élevage à l'origine d'une recontamination régulière ou bien l'existence d'une diversité d'isolats permettant ainsi de prendre des mesures de surveillance et de maîtrises adaptées ;
- à plus long terme, renforcer le travail en amont pour maîtriser *S. Dublin* en élevage (détection et gestion des animaux porteurs ou malades, statut du troupeau puis statut de l'animal, gestion de la réforme des animaux excréteurs ou potentiellement excréteurs, statut des animaux introduits, contamination des pâturages et des aliments pour bétail, etc.).

3.3.4 Recommandations sur le recueil et la qualité des données d'autocontrôles

De manière à garantir la cohérence et la pertinence des données collectées dans le cadre des autocontrôles sur laits et fromages, il serait nécessaire de collecter de façon standardisée et systématique les données d'analyse relatives à la contamination des laits et fromages par *S. Dublin* et autres sérotypes mais aussi les données relatives au contexte d'acquisition des données et aux méthodes de prélèvement et d'analyse.

Pour cela, il est recommandé que :

- les résultats d'analyse soient présentés individuellement (et non agrégés) avec la mention de la conformité ou non de l'échantillon ;
- le propriétaire des autocontrôles utilise un identifiant unique pour chaque prélèvement, chaque analyse, chaque fournisseur de données ;
- les éléments permettant la traçabilité entre les différentes matrices (identifiants lait, lait de mélange, fromage, etc.) soient renseignés. De la même manière, un suivi renseigné des analyses en cascade est nécessaire ;
- soient rendues disponibles, par atelier, les dates d'entrée et de sortie du protocole renforcé, le cas échéant ;
- soit renseigné, le cas échéant, le fait que l'atelier analyse quotidiennement les laits de mélange (et donc pas d'analyse des laits individuels) ;
- le type de matrice (fromage/lait), les modalités de pool (pool, individuel) et les quantités prélevées soient renseignées de façon précise et standardisées, ainsi que les unités ;
- les données relatives à une date soient précisées dans trois champs distincts (« année », « mois », « jour ») ;
- de façon générale, la description des prélèvements, analyses, méthode, matrice prélevée, contaminant ciblé et les différents codes employés, s'appuie sur les recommandations de formats présentées dans le guide « Standard sample description for food and feed » (EFSA 2010) ;
- la méthode analytique soit renseignée pour chaque échantillon ;
- mettre en perspective les résultats d'analyses de typage suite aux autocontrôles et les données épidémiologiques françaises.

4. CONCLUSIONS

Les experts notent que de nombreuses questions se posent à propos des méthodes microbiologiques utilisées, du choix des points et des moments où les analyses sont faites, de la puissance des protocoles d'échantillonnage qu'il s'agisse du protocole dit de référence ou des protocoles dits renforcés. Les données fournies ne sont pas suffisantes à l'heure actuelle pour conduire une appréciation quantitative du risque qui permettrait d'optimiser les protocoles. Les paragraphes qui précèdent reflètent les questionnements des experts et contiennent des recommandations de nature à améliorer la connaissance de la situation.

Par ailleurs, le contrôle des produits finis avant mise sur le marché doit être associé à des mesures de prévention en amont, pour réduire les risques de maladies transmises par les aliments.

La sécurité sanitaire des fromages morbier et mont d'or sera donc assurée au mieux quand des mesures prophylactiques adéquates permettront de réduire progressivement la prévalence de *S. Dublin* dans les élevages des départements où ces fromages sont produits.

Dr Roger GENET

MOTS-CLES

Salmonella Dublin, fromage au lait cru, morbier, mont d'or, protocole d'échantillonnage

BIBLIOGRAPHIE

Cummings, K. J., L. D. Warnick, M. Elton, L. D. Rodriguez-Rivera, J. D. Siler, E. M. Wright, Y. T. Gröhn and M. Wiedmann (2010). "*Salmonella enterica* Serotype Cerro Among Dairy Cattle in New York: An Emerging Pathogen?" *Foodborne Pathogens and Disease* **7**(6): 659-665.

EFSA (European Food Safety, A.) (2010). "Standard sample description for food and feed." *EFSA Journal* **8**(1): 1457-n/a.

Kirchner, M., I. McLaren, F. A. Clifton-Hadley, E. Liebana, A. D. Wales and R. H. Davies (2012). "A comparison between longitudinal shedding patterns of *Salmonella Typhimurium* and *Salmonella* Dublin on dairy farms." *Veterinary Record*.

Krascenicsova, K., E. Kaclikova and T. Kuchta (2006). "Growth of *Salmonella enterica* in model mixed cultures during a two-step enrichment." *New Microbiol* **29**(4): 261-267.

Nielsen, L. R. (2013). "Review of pathogenesis and diagnostic methods of immediate relevance for epidemiology and control of *Salmonella* Dublin in cattle." *Vet Microbiol* **162**(1): 1-9.

Olsen, J. E., K. H. Hoegh-Andersen, J. Casadesus and L. E. Thomsen (2012). "The importance of motility and chemotaxis for extra-animal survival of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and Dublin." *J Appl Microbiol* **113**(3): 560-568.

Warnick, L. D., J. B. Kaneene, P. L. Ruegg, S. J. Wells, C. Fossler, L. Halbert and A. Campbell (2003). "Evaluation of herd sampling for *Salmonella* isolation on midwest and northeast US dairy farms." *Preventive Veterinary Medicine* **60**(3): 195-206.

Zhai, L., X. Kong, Z. Lu, F. Lv, C. Zhang and X. Bie (2014). "Detection of *Salmonella enterica* serovar Dublin by polymerase chain reaction in multiplex format." *J Microbiol Methods* **100**: 52-57.