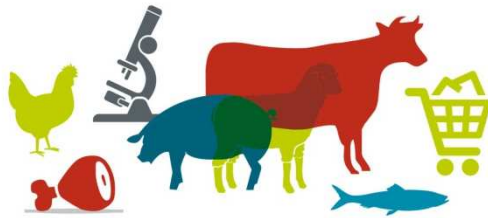




**Quelle qualité
pour répondre aux attentes
des consomm'acteurs ?**

21 et 22 NOVEMBRE 2016



www.idele.fr

ETUDE DE LA RÉPARTITION DES *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 DANS LES MÊLÉES DE VIANDES HACHÉES ET CONSÉQUENCES SUR LA FIABILITÉ DES PLANS D'ÉCHANTILLONNAGE

Clémence Bièche-Terrier



Estelle Loukiadis

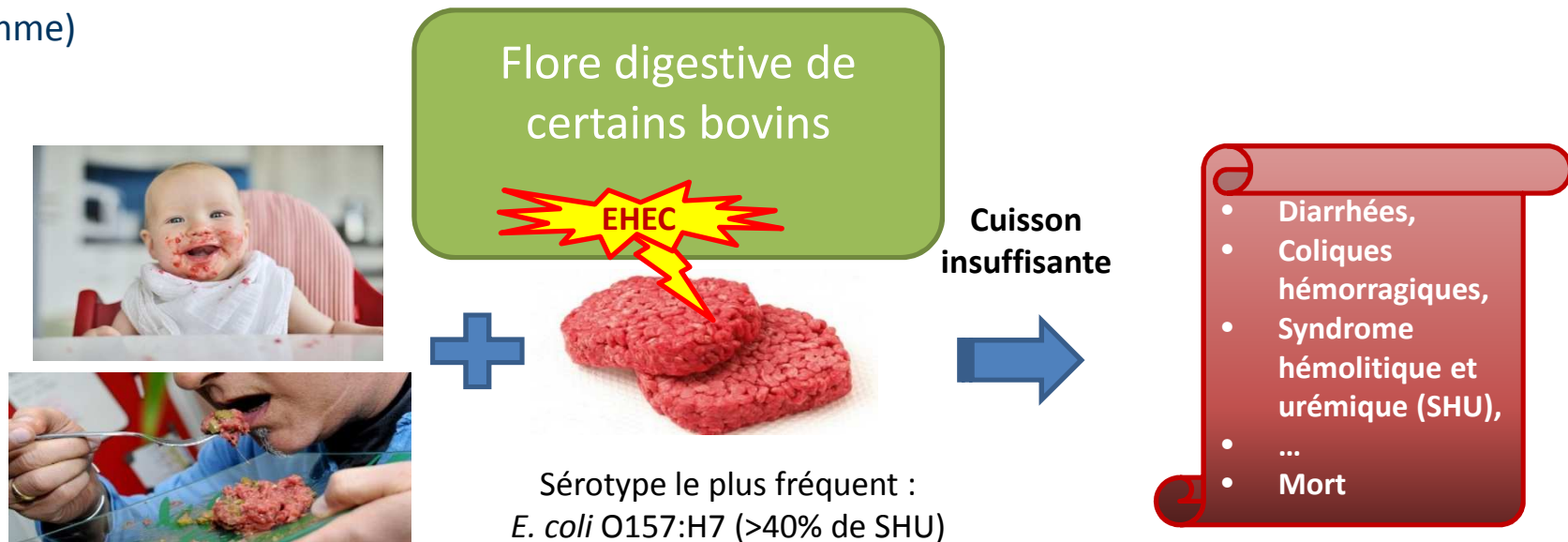


Jean-Christophe Augustin



E. coli entérohémorragiques dans les viandes hachées

- ▶ EHEC : *E. coli* entérohémorragiques (souches d'*E. coli* productrices de shigatoxines pathogènes pour l'Homme)



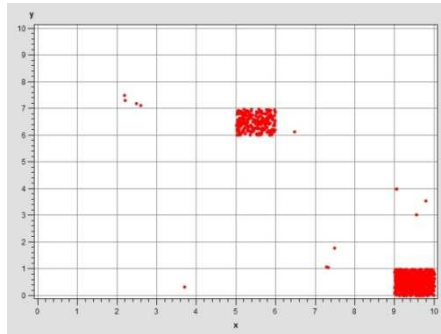
- ▶ France : environ 250 000 tonnes de VH produites annuellement
→ environ 4 kg / personne par an (problème de la cuisson saignante)
- ▶ Importance de détecter les EHEC dans les VH avant la consommation, même avant la distribution

- ▶ La fiabilité des tests de détection dépend de la quantité
répartition des EHEC dans la matrice VH

→ **Nécessité de modéliser la répartition des EHEC dans les VH pour la gestion du risque**

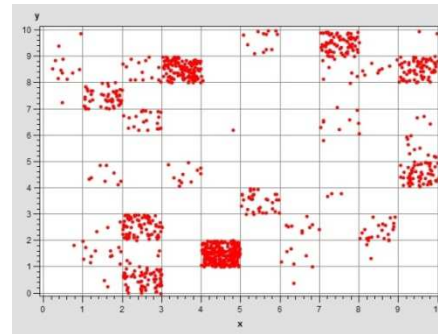
Répartition des bactéries au sein d'une mêlée

Répartition fortement hétérogène



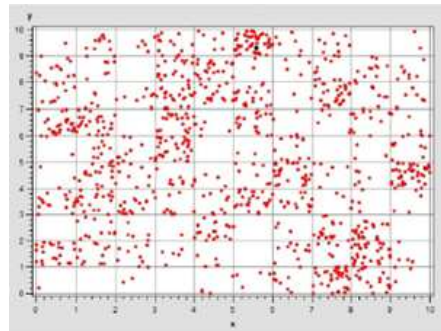
$b = 0,01$

Répartition hétérogène



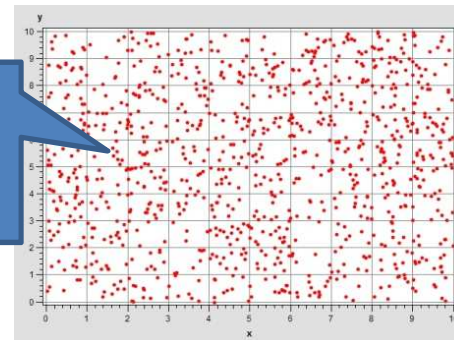
$b = 0,1$

Répartition moyennement homogène



$b = 1$

Répartition homogène aléatoire



$b \rightarrow \infty$

hypothèse classique

Modèle Gamma-Poisson :
la **dispersion est traduite**
par un **facteur b**

→ Si b tend vers l'infini, la répartition des germe tend vers l'homogénéité

(ANSES, 11/01/2011)



→ **Nécessité d'acquérir des données expérimentales afin d'évaluer la valeur de b**

Principe du dispositif expérimental

- ▶ Préparation d'une souche de travail EHEC en laboratoire
- ▶ Fabrication de 6 mêlées artificiellement contaminées en conditions pseudo-industrielles à l'échelle pilote
- ▶ Prélèvements de 60 prises d'essai (PE) de VH par mêlée et dénombrement de la souche de travail
- ▶ Analyses statistiques et modélisation de la répartition des EHEC dans la mêlée



Choix de la souche d'étude et mise au point des protocoles en conditions de laboratoire

Choix de la souche d'étude

Impératifs : souche représentative des EHEC, non pathogène, facilement détectable et dénombrable dans la mûlée

→ Souche *E. coli* O157 EDL 933 (épidémie aux USA en 1982) rendue non pathogène (**mutation *stx***), colonies fluorescentes et résistante à l'ampicilline (**insertion plasmide pGfp**)



Méthode d'inoculation retenue

→ Dépôt de 10 µl de suspension bactérienne sur un lambeau de viande côté aponévrose, laissé séché à l'air libre (simulation d'une contamination des carcasses de type « spot »)

Dénombrements des EHEC marquées dans la mûlée

→ Par cultures sur gélose (3 ml répartis dans 9 géloses LB + Amp) et par la méthode du NPP (dénombrements en milieu liquide EPT + Amp) après dilution et homogénéisation

Protocole des essais à l'échelle pilote

Inoculation de la viande sur 1 lambeau
2h avant fabrication
→ remis au cœur des 25 kg de viande



+ 2 spots
contrôles de la
contamination
apportée

Hachage
primaire
(granulométrie
à 8 ou 10 mm)



Mélange de la
mêlée primaire
(4*30 sec en
changeant de
sens) avec ajout
de neige CO₂



Contrôle de la
température <2°C

Hachage
secondaire
(granulométrie
à 3 mm) et
prélèvements



60 PE réparties sur l'ensemble de la
mêlée, pour dénombrement de EDL
933 Δstx pGfp AmpR par le LNR
(VetAgroSup)

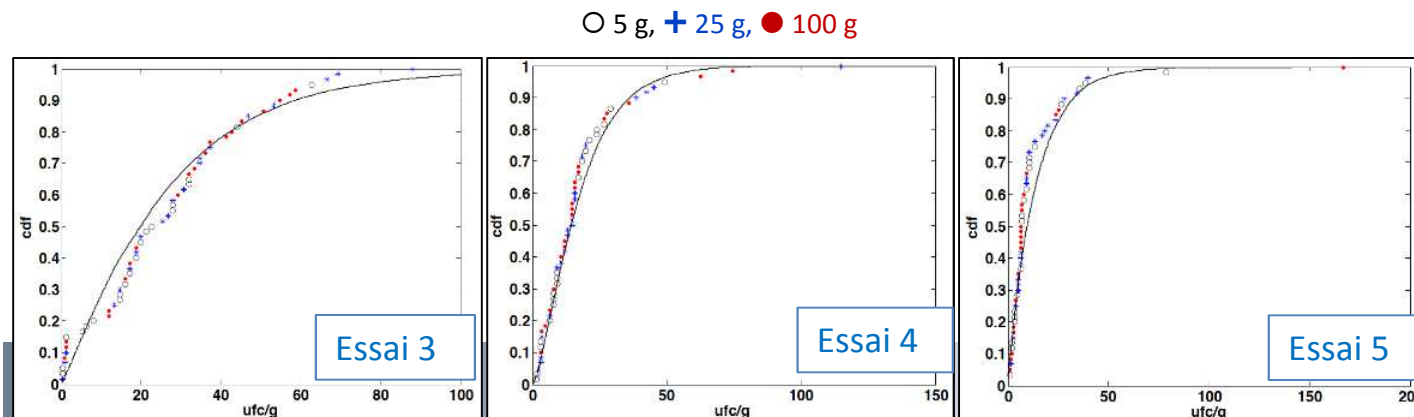
→ 3 essais 100% réfrigérés + 3 essais mélanges [réfrigérés (2/3) * surgelés (1/3)]

Résultats des dénombrements et modélisation de la dispersion

Résultats des dénombrements des EHEC lors des 6 essais :

- ▶ Résultats équivalents entre 100% réfrigéré et le mélange réfrigéré/ surgelé
→ Pas d'impact de l'introduction de viande surgelée sur la répartition des EHEC dans la mée
- ▶ Pour chaque essai, entre 66% et 100% des PE sont positives pour la souche de travail
→ Ecartement de la possibilité d'une répartition des EHEC fortement hétérogène
- ▶ Taux de bactéries recouvrées variant de 4% à 27% :
→ Une perte de viabilité / cultivabilité ? Des amas bactériens non détectés ? (hypothèses non vérifiées expérimentalement)

Ajustement du modèle Gamma-Poisson pour modéliser la répartition



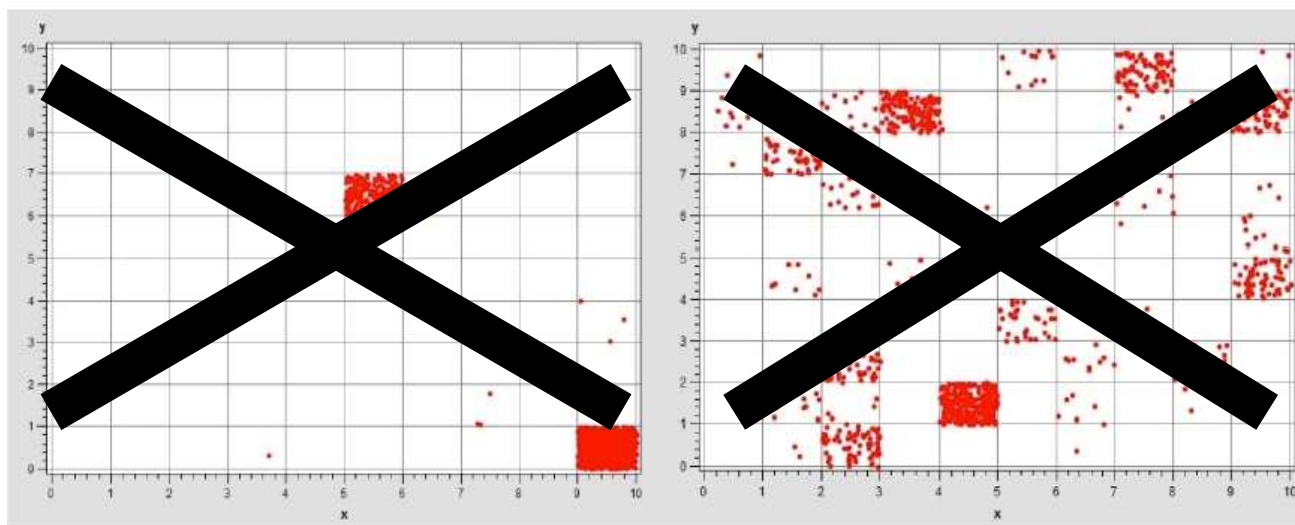
- Ajustements des distributions de gamma-Poisson corrects, pour toutes les tailles de PE
- Modèle statistique validé

Modélisation de la répartition des EHEC dans la m \acute{e} lée (estimation du param \grave{e} tre b)

Essais	Viande pour hacher	b	Concentration moyenne m \acute{e} lée (ufc/g)		% de bact \acute{e} ries d \acute{e} tect \acute{e} es
			Observ \acute{e} e	Th \acute{e} orique	
1	R \acute{e} frig \acute{e} r \acute{e} es	1.3	0.3	9	4%
2	R \acute{e} frig \acute{e} r \acute{e} es	1.5	0.9	7	9%
3	R \acute{e} frig \acute{e} r \acute{e} es	1.1	27	96	27%
4	2/3 r \acute{e} frig \acute{e} r \acute{e} es+ 1/3 surgel \acute{e} es	1.6	18	97	19%
5	2/3 r \acute{e} frig \acute{e} r \acute{e} es+ 1/3 surgel \acute{e} es	1.0	14	89	12%
6	2/3 r \acute{e} frig \acute{e} r \acute{e} es+ 1/3 surgel \acute{e} es	1.1	4	47	9%

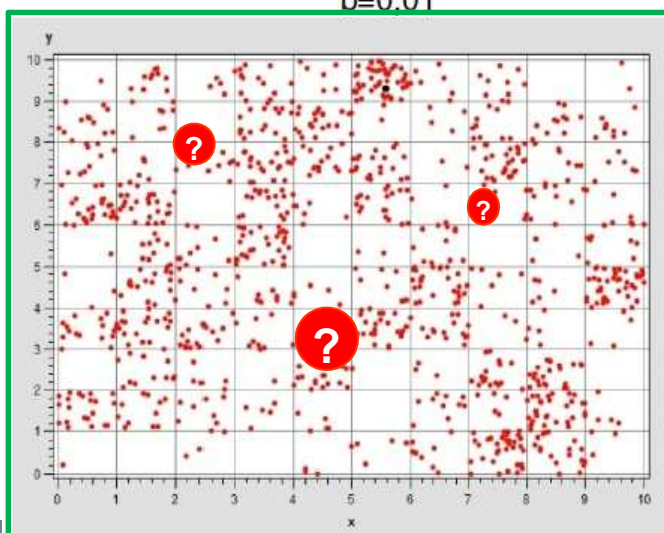
- Globalement, **b est compris entre 1 et 1,6** quelle que soit la pr \acute{e} sentation des viandes
- R \acute{e} partition des EHEC qualifi \acute{e} e de « **moyennement homog \acute{e} ne** »
- En moyenne, seulement 13% des bact \acute{e} ries sont recouv \acute{e} r \acute{e} es (perte de viabilit \acute{e} / cultivabilit \acute{e} ou amas ? → Non r \acute{e} solu dans cette \acute{e} tude)

Illustration de la répartition des EHEC dans la mêlée

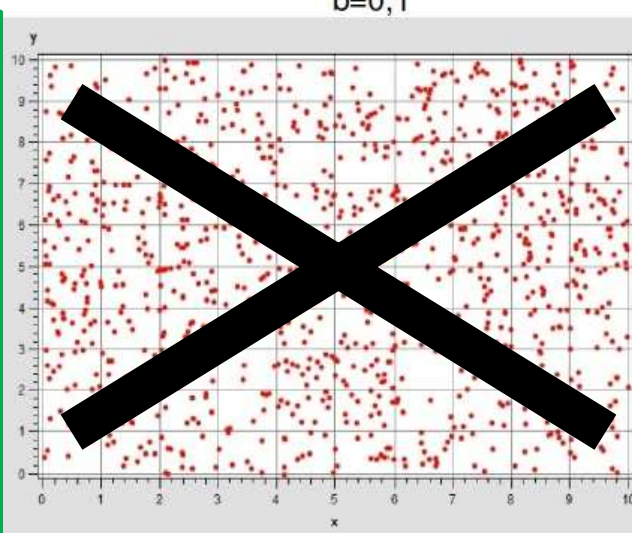


$b=0.01$

$b=0,1$



$b=1$



$b=\text{infini}$

→ Répartition
des EHEC
détectables en
routine qualifiée
de
moyennement
homogène



Conclusion sur la répartition des EHEC dans la m \hat{e} lée

- ▶ Résultats obtenus à partir de la modélisation de 6 essais expérimentaux (360 Prises d'Essais)
- ▶ Les résultats de cette étude montrent que les EHEC détectables sont répartis de façon moyennement homogène dans la m \hat{e} lée (b compris entre 1 et 2)
- ▶ A partir de la valeur de b, des simulations de la fiabilité de différentes stratégies de contrôle ont pu être effectuées, en fonction de la contamination en EHEC de la m \hat{e} lée.

Impact de la répartition des EHEC sur la fiabilité des plans d'échantillonnage

Probabilités (%) de détection des EHEC dans la mûlée de VH, en fonction de la concentration en EHEC, selon différentes stratégies d'échantillonnage (avec b égal à 1) :

Nombre d'analyses par mûlée		1			1	1	30	10
Taille des échantillons à analyser		25 g (ou 24 g)			75 g	375 g	25 g	25 g
Nombre de prises d'essai pour former 1 échantillon		1x25g	3x8g	5x5g	3x25g	15x25g	1x25g (=750g analysés)	1x25g (=250g analysés)
Concentrations en EHEC dans la mûlée	10 ufc/g	100	100	100	100	100	100	100
	1 ufc/g	96	100	100	100	100	100	100
	0,1 ufc/g	71	83	87	98	100	100	100
	0,01 ufc/g	20	21	22	49	96	100	89
	0,001 ufc/g	2	2	2	7	31	52	22

- ➔ La définition du niveau de contamination à maîtriser est un préalable à la définition du plan d'échantillonnage à mettre en œuvre.
- ➔ Ces données techniques ont été transmises à l'ANSES pour améliorer la maîtrise du risque représenté par les EHEC dans les VH produites en France



Merci pour votre attention !

