

EFFET DE DOUZE PRODUITS ACIDIFIANTS SUR LA DECONTAMINATION D'UN ALIMENT VOLAILLE ARTIFICIELLEMENT CONTAMINE PAR *SALMONELLA* TYPHIMURIUM.

Cottin Sylvie, Donio Catherine, Colin P.

CNEVA, Unité d'Hygiène et Qualité des produits Animaux, B.P. 53, 224440 Ploufragan

Résumé

L'aliment destiné aux volailles a parfois été mis en cause dans la contamination des volailles par *Salmonella*. Hormis les traitements physiques, ceux à base de produits chimiques peuvent être employés pour décontaminer cet aliment. Afin d'apprécier leur effet de manière quantitative, une méthode de contamination artificielle de l'aliment a été mise au point. L'effet "décontaminant" de douze produits acidifiants, utilisés sous forme de poudre et/ou de liquide a ainsi pu être évalué 2 jours après leur incorporation. Aucun des 12 produits n'a permis une totale décontamination des Salmonelles présentes dans l'aliment à la dose moyenne de 10^3 ufc/gramme. Des réductions maximales (moyenne de 3 répétitions) de 0.9log, 1log, 1.7log, et 0.8log ont été respectivement enregistrées pour les produits G poudre (0.5%) et liquide (0.3%), L liquide(4%) et D liquide (0.3%). Quel que soit l'acidifiant incorporé, aucune diminution de plus d'une unité pH n'a été observée dans l'aliment.

Introduction

C'est en 1955 qu'Erwin a mis en évidence pour la première fois la présence de Salmonelles dans des aliments pour volailles. Depuis, de nombreuses études ont relaté l'extrême diversité des sérotypes de *Salmonella* dans les matières premières et les produits finis (Mc Kenzie et Bains, 1976; Cox et al., 1983; Jardy et Michard, 1992; Berchieri et al., 1993). Les sérotypes trouvés dans l'aliment sont parfois ceux isolés sur les carcasses des animaux à l'abattoir (Mc Kenzie et Bains, 1976; Humphrey et Lanning, 1988). Le contrôle de la contamination des aliments par les Salmonelles s'avère donc une étape nécessaire dans un programme de lutte contre les Salmonelles dans la filière avicole. Outre les traitements physiques, des traitements chimiques tels que les acidifiants peuvent être employés. La contamination naturelle d'un aliment est généralement très faible et la distribution des Salmonelles est hétérogène. Cette contamination naturelle paucimicrobienne rend difficile une quantification des Salmonelles. Certains auteurs (Schleifer et al., 1984; Hinton, 1986) ont donc contaminé artificiellement l'aliment. Cependant, aucun protocole de contamination et de recherche de salmonelles dans l'aliment n'a été élaboré. Pour ce faire, une méthode de contamination fiable et reproductible a été mise au point afin de pouvoir étudier l'efficacité de produits acidifiants sur la décontamination d'un aliment artificiellement contaminé par *Salmonella* Typhimurium.

I. Méthode de contamination de l'aliment

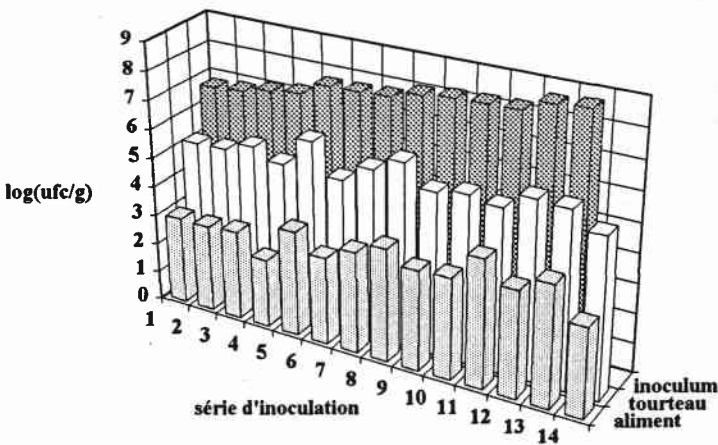
La méthode de contamination d'un aliment volaille utilise un tourteau de soja préalablement broyé et tamisé qui est inoculé avec une suspension de *S. Typhimurium*, résistante à la rifampicine. Le prémix est ensuite incorporé à l'aliment au taux de 1%, dans un mélangeur Phébus (VMI, France) pendant 10 minutes. L'analyse de la moitié ou de la totalité de l'aliment montre que la méthode permet de contaminer de façon homogène un aliment (Tableau 1). Pour obtenir une contamination de l'ordre de 10^3 ufc/g dans l'aliment, il est nécessaire d'apporter dans le tourteau de soja un inoculum de 10^9 ufc/ml (10^7 ufc/g).

TABEAU 1 - Dénombrement de *S. Typhimurium* au cours des différentes étapes de la contamination de l'aliment

Nombre de Kg analysés	log(ufc/g) apporté par l'inoculum	log(ufc/g), 24 heures après son incorporation dans le tourteau de soja	log(ufc/g), 7 jours après incorporation dans l'aliment
7.5	7.16	5.64 ± 0.02	3.13 ± 0.18
15	6.82	5.25 ± 0.06	2.38 ± 0.17
7.5	6.87	5.15 ± 0.04	2.38 ± 0.15

Pour comparer des traitements entre eux, il n'est bien sûr pas possible d'analyser tout ou moitié de l'aliment comme cela a été fait ci-dessus. Pour cela, un calcul statistique a été réalisé. Le nombre d'échantillons à prélever par lot élémentaire de 15Kg a été estimé à 30. La validation de cet échantillonnage a été faite sur 14 séries d'inoculation représentant au total 70 inoculations élémentaires de 15Kg (Figure 1). La méthode mise au point est reproductible. Cela confirme qu'il faut apporter un inoculum de 10^7 ufc/g pour obtenir 10^5 ufc/g dans le tourteau de soja. L'abattement entre l'inoculum apporté et celui réellement trouvé dans le tourteau de soja varie entre 29 et 501 ufc/g. Ce phénomène peut s'expliquer par l'inoculum lui-même qui n'est pas centrifugé et par les conditions d'humidité réduite du tourteau de soja. L'incorporation du prémix au 1/100ème (taux de dilution) permet en moyenne de retrouver 10^3 ufc/g dans l'aliment. La prise de 30 échantillons de 25g par lot de 15Kg contaminé donne une bonne représentation de la contamination. Le coefficient de variation pour le tourteau et l'aliment est souvent de l'ordre de 10 à 15%.

FIGURE 1 - Dénombrement de *S. Typhimurium* lors des différentes étapes de contamination de 14 séries d'aliment (représentant au total 70 inoculations de 15Kg)



II. Effet de douze acidifiants sur la décontamination d'un aliment artificiellement contaminé par *S. Typhimurium*

Douze produits acidifiants ont été testés vis-à-vis de leur effet sur la décontamination d'un aliment artificiellement contaminé en Salmonelles par la méthode décrite précédemment (Tableau 2).

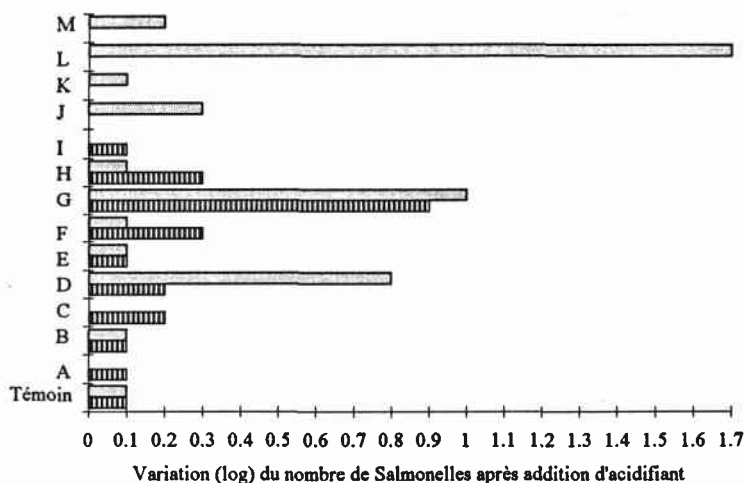
TABLEAU 2 - Produits acidifiants et dose utilisée

Produit	Dose pour une formulation poudre	Dose pour une formulation liquide
A	0.5%	--
B	1%	0.5%
C	1%	--
D	0.4%	0.3%
E	0.4%	0.8%
F	0.4%	1.2%
G	0.5%	0.3%
H	0.4%	0.6%
J	--	0.6%
K	4L/tonne	--
L	--	4%
M	0.9L/tonne	--

Cinq jours après la contamination de 15Kg d'aliment, trente échantillons de 25g sont prélevés juste avant l'incorporation de l'acidifiant, puis deux jours après. Un dénombrement de Salmonelles et une mesure de pH sont effectués sur chaque prélèvement. Un aliment contaminé artificiellement, non acidifié, sert de témoin. Incorporé à la dose de 0.4% sous forme de poudre, un activateur de croissance pour le porc (I) sert de deuxième témoin. Pour chaque acidifiant, trois répétitions ont été réalisées.

Dans ces conditions d'expérience, aucun acidifiant n'a entièrement éliminé les *Salmonelles* présentes dans l'aliment (Figure 2). Trois produits : L liquide (4%), G poudre (0.5%), G liquide (0.3%) et D liquide (0.3%) ont permis une réduction de l'inoculum respectivement de 1.7log, 0.9-1log, 0.8log. Le caractère "acidifiant" de ces produits n'a pas été observé.

FIGURE 2 - Réduction du Log du nombre de *S. Typhimurium* deux jours après l'incorporation de produits acidifiants dans l'aliment (moyenne de trois répétitions)



Conclusion

La méthode décrite de contamination de 15Kg d'aliment est fiable et reproductible. La recherche de *Salmonelles* sur 30 échantillons de 25g permet d'avoir une bonne estimation de la contamination de l'aliment (coefficient de variation voisin de 10%). Cette méthode peut être utilisée pour comparer des traitements entre eux. Dans les conditions expérimentales, aucun des 12 acidifiants testés sous forme de poudre et/ou de liquide n'a éliminé totalement les *Salmonelles* présentes dans l'aliment au taux de 10^3 ufc/g. La réduction maximale enregistrée est de 1.7log pour un produit liquide utilisée à la dose de 4% (L). Des réductions comprises entre 0.8 et 1log ont été observées pour deux produits employés à des doses 10 fois moindre (G et D). Le taux d'inoculation de l'aliment est certes très élevé par rapport à une contamination naturelle. Toutefois, si les produits acidifiants, utilisés aux doses préconisées par les fabricants pour de fortes contaminations, avaient une action bactéricide envers *Salmonella*, cette dernière devrait paraître, quel que soit le taux de contamination de l'aliment.

Références

- Berchieri Jr A., Fernandes S.A., Irino K., Quintana J.L., Santos A.J., 1993. Rev. Microbiol., 24, 22-25.
- Cox N.A., Bailey J.S., Thomson J.E., Juven B.J., 1983. Poult. Sci., 62, 2169-2175.
- Erwin L.E., 1955. Poult. Sci., 34, 215-216.
- Hinton M., 1986. Letters in Appl. Microbiol., 3, 97-99.
- Humphrey T.J., Lanning D.G., 1988. Epidem. Inf., 100, 43-49.
- Jardy N., Michard J., 1992. Microbiol.-Aliments-Nutrition, 10, 233-240.
- Mc Kenzie M.A., Bains B.S., 1976. Poult. Sci., 55, 957-960.
- Schleifer J.H., Juven B.J., Beard C.W., Cox N.A., 1984. Avian Dis., 28, 497-503.

Ces travaux ont été financés par les fonds Sypram.