



Identification et comportement des bactéries d'altération dans la matrice œuf entier liquide

Jocelyne PROTAIS¹, Pascale GERAULT¹, Stéphane QUEGUINER¹, Evelyne BOSCHER¹, Bérengère CHIDAINÉ¹, Gwennola ERMEL², Katell RIVOAL¹, Gilles SALVAT¹, Jérôme PAGES³, Dominique THUAULT⁴, Véronique HUCHET⁴, Muriel COIGNARD⁵, Fabrice BOURION⁵, Michel FEDERIGHI⁶, Florence JUGIAU⁶, Daniel THOUVENOT⁷, Théodore EFSTATHIOU⁸, Pascale LORTHIOIR⁸

¹ Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), BP 53, 22440 Ploufragan ;

² UMR CNRS 6026-Université de Rennes 1, Faculté des sciences, Campus de Beaulieu, CS74205, 35042 Rennes ;

³ ENSAR, Laboratoire de Génie Statistique du Pôle Agronomique de Rennes, 65 rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes Cedex ;

⁴ ADRIA, Créac'h Gwen, 29196 Quimper Cedex ;

⁵ Association ASEPT, B.P. 2047, 53020 Laval Cedex 9 ;

⁶ UMR-INRA 1014, ENVN, B.P. 40706, 44307 Nantes Cedex 3 ;

⁷ ESMISAB/Université de Bretagne Occidentale, Technopôle Brest-Iroise, 29280 Plouzané ;

⁸ NUTRINOV, Z.A.C. des Trois Marches, 3, impasse de la Jonchée, 35132 Vezin-le-Coquet

RÉSUMÉ

L'étude de la flore microbiologique dans la matrice œuf entier liquide a été menée à partir d'échantillons fournis par trois industriels, au cours de trois saisons (l'hiver, l'été et l'automne). Cette même matrice a été analysée à l'état cru, après pasteurisation et après stockage pendant 14 ou 49 jours à une température de 2 °C.

L'identification et le comportement des bactéries d'altération et de quelques bactéries pathogènes, à savoir *Bacillus cereus* et les staphylocoques, ont été effectués en fonction de caractéristiques physico-chimiques et environnementales de cette matrice.

Outre l'effet "industriel" très important, il a été mis en évidence des effets "saison" et "destination du produit (14 ou 49 jours)". Une très grande variabilité de la contamination de l'entier cru est notée. La flore de l'ovoproduit pasteurisé est globalement plus forte en été surtout avec une augmentation de *Pseudomonas* et de la flore psychrotrophe, plus faible en automne ; en hiver, le groupe *Enterococcus-Streptococcus* domine.

Enfin, à partir de cette cartographie détaillée, différentes hypothèses ont été formulées afin de maîtriser au mieux la qualité microbiologique de l'entier liquide.

ABSTRACT

The microbiological flora of whole egg product has been studied on samples collected from three processing plants at three periods of year (winter, summer, autumn). The samples have been analysed before and after pasteurization, after storage for 14 or 49 days at 2°C.

The identification and the microbiological changes of spoilage bacteria and of some pathogenic bacteria have been done according to the physicochemical and environmental characteristics of the samples.

*Beside a very important "egg-breaking plant" effect, "season" and "product shelf life (14 or 49 days)" effects have been characterised. The contamination of raw liquid whole egg is very variable. The development of the flora of pasteurized egg-product is globally more important in summer, mainly due to increase of *Pseudomonas* and psychrophilic flora, less important in autumn; in winter, *Enterococcus* and *Streptococcus* are dominant.*

Finally, from this detailed cartography, several different hypotheses have been formulated in order to get a better control of the microbiological quality of liquid eggs.

1. INTRODUCTION

Le développement de la commercialisation des ovoproduits, notamment à l'exportation, passe par l'obtention de dates limites d'utilisation optimale de ces produits plus longues. La maîtrise des dates limites de conservation, tant du point de vue de l'altération que de la sécurité des produits, est une condition indispensable à l'accroissement de ce marché et requiert une connaissance accrue de l'écologie microbienne de ces produits qui n'a que très peu été étudiée.

En effet, la qualité sanitaire de l'ovoproduit dépend essentiellement de celle de l'œuf en coquille mais aussi de celle de l'environnement dans lequel il a été produit. Le contenu de l'œuf pondu par une poule saine est rarement contaminé et peut le rester très longtemps si la coquille est d'excellente qualité sanitaire et physique, tant la cuticule que la coquille proprement dite (épaisseur, structure, rigidité) et les membranes coquillières [Mayes et Takeballi, 1983, Protais et Colin, 1996 ; Jones et *al.*, 2004]. Par ailleurs, le contenu de l'œuf en coquille est efficacement protégé par l'albumen et la membrane vitelline, en revanche le vitellus est un excellent milieu de culture pour les micro-organismes.

La charge bactérienne plus ou moins importante présente sur la coquille dépend, dès l'oviposition, de nombreux facteurs que sont la poule, l'environnement de l'œuf (poulailler, salle de stockage, ...) et les différentes manipulations qu'il va subir [Florian et Trussel, 1957 ; Mayes et Takeballi, 1983 ; Stadelman et Cotterill, 1986 ; De Reu et *al.*, 2005]. La flore d'altération des ovoproduits peu décrite récemment [Baker, 1974 ; Stadelman et Cotterill, 1986 ; Protais et *al.*, 1991], est en général déduite de celle de l'œuf entier, qui a fait l'objet d'études de prévalence et surtout d'identification des micro-organismes présents sur la coquille [Board, 1966 ; Board et Tranter, 1986] et plus rarement de quantification [Musgrove et *al.*, 2005]. Aux micro-organismes les plus fréquemment cités (flore aérobie mésophile totale, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, ...), il faut ajouter les levures et les moisissures [Musgrove et *al.*, 2005] qui persistent au cours du stockage [Jones et *al.*,

2004]. La flore pathogène, plus particulièrement *Salmonella*, présente sur la coquille et/ou dans le contenu de l'œuf, a fait l'objet de nombreuses études ; la présence éventuelle de *Campylobacter* et de *Listeria monocytogenes* reste plus rare et à ce jour, n'a pas été impliquée dans des toxi-infections alimentaires par ovoproduits. L'agent principal responsable des T.I.A.C. est essentiellement *Salmonella* (107/119 cas), *Staphylococcus aureus* plus occasionnellement (5/119), les œufs et les préparations à base d'œufs crus ou peu cuits étant l'aliment le plus fréquemment mis en cause [Haeghebaert et al, 2002]. En revanche *Bacillus cereus*, plus rarement isolé dans les ovoproduits pasteurisés que dans les crus [Wood et Waites, 1988], est susceptible de survivre dans les ovoproduits traités thermiquement sous sa forme sporulée qui peut s'y développer ultérieurement.

L'objectif de l'étude a été d'établir la cartographie microbiologique de l'œuf entier liquide cru et de l'œuf pasteurisé au cours de sa conservation en dénombrant et en identifiant les bactéries d'altération et quelques bactéries pathogènes : *Bacillus cereus* et les staphylocoques, en fonction de caractéristiques physico-chimiques et environnementales de cette matrice.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude de la flore microbiologique a été effectuée à partir d'échantillons produits par 3 industriels, au cours de 3 périodes de prélèvement différentes correspondant à 3 saisons distinctes : l'hiver, l'été et l'automne. Le même plan d'expérience a été appliqué pour chaque entreprise et chaque saison. Un plan fractionnaire 2^{5-1} en 16 essais de résolution V [Benoist D. et *al.*, 1994], a été construit à partir de 5 facteurs de production influant *a priori* sur cette qualité et ayant chacun 2 modalités, à savoir :

- l'âge du troupeau dont proviennent les œufs de consommation, fixé à 4-6 mois de ponte (début et milieu de ponte) ou 9-12 mois (fin de ponte) ;
- la durée de stockage de ces œufs en coquille dans l'usine dans un local approprié à température constante avant leur transformation en ovoproduit (soit infé-

rieure ou égale à 3 jours, soit supérieure ou égale à 8-10 jours) ;

- le moment de production de l'entier liquide dans la journée (lundi matin ou soir correspondant à un début ou une fin de production) ;
- la durée de stockage de 800 kg d'ovoproduit entier après mélange et filtration et avant traitement thermique, dans un container à 4 °C pendant un temps court ($2h \pm 1$) ou long ($5h \pm 1$) ;
- et enfin la destination de l'entier en terme de DLC fixée à 14 jours (DLC1) ou 49 jours (DLC2). A ces DLC, ont été associés respectivement 2 couples temps-température (C1 ou C2) restés confidentiels au niveau de chaque industriel qui les a maintenus tout au long de l'étude.

Le nombre total de facteurs du plan est 7 (5 facteurs de production, saison et entreprise). 16 séries ont été prélevées dans chaque usine et à chaque période. Deux traitements ont été réalisés pour chaque série : cru et après pasteurisation ; les analyses pour chaque série ont été effectuées sur le produit frais deux jours après sa production (J+2) et pour les produits pasteurisés à J+2 et à la date limite de conservation (DLC). Le nombre total d'essais s'est élevé à 144 (3 industriels x 3 saisons x 16 combinaisons de facteurs de production), le nombre total de mesures à 432 (144 x 3 états). Les échantillons ont été maintenus à $2 \text{ °C} \pm 1$ lors de leur transport aux laboratoires et au cours de leur conservation.

La flore microbiologique de l'ovoproduit entier liquide retenue dans cette étude a été déterminée essentiellement par les industriels au regard de leurs expériences [SNIPO, 1998] et de leurs diverses préoccupations actuelles et futures. Elle a porté tout d'abord sur les indices de contamination fécale, à savoir les entérobactéries parmi lesquelles *Escherichia coli*, les streptocoques et les *Clostridium* sulfitoréducteurs d'une part, sur les staphylocoques d'autre part. Les espèces de bactéries lactiques, responsables de l'altération de la qualité marchande et non de la qualité hygiénique du produit, qui ont été recherchées, comprennent les streptocoques, les entérocoques et la flore lactique. Enfin l'étude de la flore psychrotrophe qui se développe au cours de

la conservation de l'ovoproduct, a porté plus particulièrement sur *Pseudomonas*, *Brochothrix thermosphacta*, *Bacillus*, les streptocoques, les levures et les moisissures.

La flore microbiologique de l'ovoproduct entier a donc fait l'objet de diverses recherches dont les méthodes, suivies de la confirmation des bactéries identifiées, sont citées ci-après.

Les flores d'altération :

- la flore aérobique mésophile totale (F.A.M.) : selon les normes NF-V08-100 et NF-V08-051 (gélose PCA incubée 48 heures $\pm$ 2 h à 30 °C) effectuées par 2 laboratoires ;
- *Pseudomonas* : selon les normes NF-V08-100 ou NF-ISO 13720, (milieu gélosé à la cétrimide, fucidine et céphaloridine (CFC) incubé 48 heures $\pm$ 2 h à 25 °C) ;
- *Brochothrix thermosphacta* : selon les normes NF-V08-100 et NF-ISO 13722, (milieu gélosé au sulfate de streptomycine de thallium et actidione (STAA) incubé 48 heures $\pm$ 2 h à 25 °C) ;
- les levures et les moisissures : sur milieux Potato Dextrose Agar et M2Levure additionnés de streptomycine et incubés 96 heures à 25 °C ;
- *Bacillus* : le dénombrement des spores de *Bacillus* mésophiles a été réalisé sur milieu gélosé glucosé au pourpre de bromocrésol incubé 48 heures à 30 °C, le dénombrement des spores de *Bacillus cereus* sur milieu de Mossel incubé 48 heures à 37 °C, puis confirmation par la suite de *B. cereus* ;
- la flore lactique : selon la norme NF-V04-503 (gélose Man Rogosa et Sharpe (MRS) incubée 48 heures $\pm$ 2 h à 37 °C $\pm$ 1 °C) ;
- la flore psychrotrophe : selon les normes NF-V08-100 et NF-V08-051 (gélose PCA incubée 8 jours à 8 °C).

Les flores associées :

- les staphylocoques : selon la norme NF-V08-057 1 (gélose Baird-Parker incubée 48 heures $\pm$ 2 h à 37 °C $\pm$ 1 °C) ;
- *Clostridium* : le dénombrement des spores de *Clostridium* totaux a été réalisé en inclusion en milieu RCM supplémenté en cyclosérine et incubé 48 heures à 37 °C ;
- les entérobactéries : selon la norme NF-V08-054 (gélose à la bile, au cristal violet et au glucose (VRBG) incubée 24 heures $\pm$ 2 h à 30 °C) ;

- les entérocoques : sur m-*Enterococcus* agar incubé à 42 °C pendant 48 heures $\pm$ 2 h ;
- les streptocoques : en inclusion en milieu D-Coccosel incubé 48 heures à 37 °C ;
- *Escherichia coli* : selon la norme V 08-053 (gélose TBX incubée à 44 °C pendant 24 heures).

Simultanément les analyses physico-chimiques suivantes, à savoir la matière sèche, la teneur en protéines et l'activité du lysozyme (référence : ANA P.R. 215.01 du Laboratoire Nutrinov), ont été déterminées sur tous les échantillons crus et pasteurisés à J+2. Un contrôle de la température des échantillons dès réception au laboratoire et au cours de la conservation a été effectué.

Tous les dénombrements ont été transformés en données logarithmiques. Pour les ovoproducts pasteurisés, la valeur moyenne n'a pu être déterminée pour tous les micro-organismes cités ci-dessus, étant donné l'absence de certains d'entre eux. Dans ce cas, la prévalence a été calculée ainsi que la moyenne pour ces valeurs. Une analyse multidimensionnelle a porté sur l'ensemble des données obtenues successivement sur l'entier cru, l'entier pasteurisé à J+2 et l'entier à DLC après conservation à 2 °C pendant les 3 saisons.

3. RÉSULTATS

Une première approche a consisté en une étude sous forme graphique des résultats en fonction des industriels, des types d'ovoproducts et des saisons pour observer l'évolution générale de cette flore. Dans ces conditions, seuls les moyennes, les écarts-types et les effectifs obtenus pour chaque micro-organisme en fonction des entiers crus et pasteurisés à J+2 et à DLC d'une part, des saisons d'autre part, sont donnés dans les tableaux 2, 3 et 4 pour les échantillons présentant ces flores. L'évolution des teneurs en matière sèche, en protéines et en lysozyme en fonction de ces mêmes critères est donnée dans les tableaux 1a, 1b et 1c.

Les traitements statistiques ont révélé un effet "industriel" très important en terme de niveau global de contamination, pouvant masquer des résultats communs

aux 3 industriels. Aussi une seconde approche a-t-elle porté sur 3 analyses multidimensionnelles séparées pour chaque type de produit (crus, pasteurisés à J+2 et à DLC) pour mettre en évidence des facteurs significatifs sur l'ensemble des flores simultanément. Afin d'éliminer l'effet "niveau de contamination" propre à chaque entreprise dans les traitements multidimensionnels, les données concernant les résultats microbiologiques ont été centrées par industriel. Les traitements de ces données ont été faits par analyses en composantes principales (ACP), suivies d'analyses de variance sur ces facteurs. Dans cette dernière phase, ne sont retenus que les facteurs pour lesquels la probabilité critique est inférieure à 1 %.

Les variables continues actives retenues pour l'ACP sont : *Bacillus*, les entérocoques, les entérobactéries, *E. coli*, les levures, les moisissures, la flore lactique, *Pseudomonas*, les streptocoques, la flore psychrotrophe, *Brochothrix*. Les variables continues illustratives sont : la flore aérobique mésophile (F.A.M.), *Bacillus cereus*, le lysozyme et les protéines. Les variables nominales illustratives sont les facteurs du plan d'expérience et les données du questionnaire pour lesquels les effets sont testés : entreprise, saison, âge du troupeau, durée de stockage des œufs et de l'entier, moment du prélèvement, "DLC", œufs triés, calibrés, fêlés. Les interactions de ces facteurs sont également introduites dans l'analyse.

Il convient de signaler que l'évolution des températures des échantillons mesurées à leur arrivée aux laboratoires, met en évidence un effet "industriel", les échantillons provenant de l'industriel 2 présentant régulièrement une température plus élevée que celles relevées pour les deux autres surtout lors de deux saisons.

3.1. LES ANALYSES CHIMIQUES

L'incidence des facteurs "industriel, saison et destination de l'entier en terme de DLC" sur les teneurs en matière sèche, en protéines et en lysozyme de l'entier cru et pasteurisé est mise en évidence (Tableaux 1a, 1b et 1c).

La teneur en protéines des entiers crus et pasteurisés destinés à une DLC de

Tableau 1a - Evolution des teneurs en matière sèche, en protéines et en lysozyme dans l'entier cru et pasteurisé en fonction de la saison.

Teneur en	hiver		été		automne	
	Entier cru à J+2	Entier pasteurisé à J+2	Entier cru à J+2	Entier pasteurisé à J+2	Entier cru à J+2	Entier pasteurisé à J+2
Matière Sèche (%)	22,08 ^a ± 1,05 ^b	22,62 ± 0,50	22,48 ± 0,88	22,68 ± 0,69	22,37 ± 0,85	22,62 ± 0,81
Protéines (%)	11,84 ± 1,00	11,96 ± 0,74	11,50 ± 1,07	11,80 ± 0,65	11,58 ± 1,00	11,65 ± 0,96
Lysozyme (unités enzymatiques/ml)	88956 ± 11969	16335 ± 14246	96886 ± 30668	22629 ± 17697	76118 ± 21585	45391 ± 16037

a : moyenne b : écart-type

Tableau 1b - Evolution des teneurs en matière sèche, en protéines et en lysozyme dans l'entier cru et pasteurisé en fonction de la DLC (14 ou 49 jours).

Teneur en	DLC (14j)		DLC (49j)	
	Entier cru à J+2	Entier pasteurisé à J+2	Entier cru à J+2	Entier pasteurisé à J+2
Matière Sèche (%)	22,34 ^a ± 0,91 ^b	22,63 ± 0,66	22,28 ± 0,98	22,65 ± 0,70
Protéines (%)	11,96 ± 0,43	12,06 ± 0,50	11,35 ± 1,30	11,57 ± 0,93
Lysozyme (unités enzymatiques/ml)	87737 ± 24760	24254 ± 17982	86903 ± 23683	31986 ± 21778

a : moyenne b : écart-type

Tableau 1c - Résultats de l'analyse de variance (tests *F* et seuils de signification *P*).

	Entier cru			Entier pasteurisé		
	Matière Sèche	Protéines	Lysozyme	Matière Sèche	Protéines	Lysozyme
<i>F</i> (saison)	3,70	2,58	10,50	<1	2,15	62,90
<i>P</i> (saison)	0,027 Hiver=automne Été=automne hiver≠été	0,079 N.S.	<0,001 Hiver=été ≠automne	N.S.	0,120 N.S.	<0,001 Hiver=été ≠automne
<i>F</i> (DLC)	<1	22,76	<1	<1	20,26	12,06
<i>P</i> (DLC)	N.S.	<0,001	N.S.	N.S.	<0,001	0,001

14 jours est supérieure à celle des entiers destinés à une DLC de 49 jours ; la teneur en lysozyme de l'entier pasteurisé destiné à une DLC longue est supérieure.

La teneur en matière sèche semble légèrement plus élevée dans l'entier cru en été. En revanche, en automne, la teneur en lysozyme apparaît différente de celles obtenues en hiver et en été : elle est inférieure pour l'entier cru et supérieure pour le pasteurisé.

Par ailleurs, la teneur en lysozyme est plus élevée dans les entiers crus provenant d'œufs pondus par des poules âgées (9-12 mois) (95 205 ± 23 647 unités enzymatiques/ml *versus* 79 435 ± 22 115 unités enzymatiques/ml ; *F* : 20,46 ; *P* < 0,0001).

3.2. LA FLORE D'ALTÉRATION ET ASSOCIÉE DES PRODUITS CRUS

Au regard des tableaux 2 à 4, les genres ou familles bactériennes dominants dans l'entier cru sont les entérobactéries, les streptocoques, les entérocoques, *Escherichia coli* et *Pseudomonas*. Les levures et les moisissures, *B. thermosphacta* et *Bacillus* sont présents mais en plus faible quantité. Il faut remarquer dans tous les entiers crus l'absence de staphylocoques et la très faible contamination par *Clostridium* (1 échantillon/48). Les représentations des individus et des variables continues actives et illustratives sont données respectivement sur les figures 1 et 2 ; elles montrent un pourcentage d'inertie sur les deux premiers axes

de 50,56 %. Un effet taille apparaît : le principal facteur de variabilité oppose les échantillons très contaminés (à gauche de la figure 1) à ceux qui le sont peu (à droite de la figure). Sur les deux premiers axes, trois groupes de variables se dessinent :

- groupe 1 : *E. coli*, *Brochothrix*, les entérocoques, les entérobactéries ;
- groupe 2 : la flore psychrotrophe, *Pseudomonas*, les streptocoques, les moisissures, *Bacillus* ;
- groupe 3 : la flore lactique et les levures.

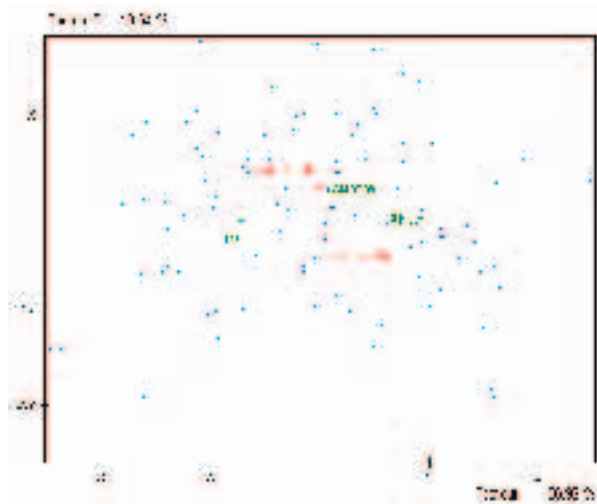
La flore aérobique mésophile (FAM), dénombrée par deux laboratoires différents, a été insérée en variables illustratives (Figure 2). L'étude des résultats montre que le FAM dénombrée par un des laboratoires semble plutôt associée au dénombrement des streptocoques (MAF1) alors que pour l'autre laboratoire, celle-ci semble plutôt associée au dénombrement de la flore psychrotrophe (MAF2).

Une analyse de variance sur les facteurs 1 et 2 de l'ACP confirme les principaux effets listés précédemment : la saison (sur le facteur 1, *F* : 32,21 ; *P* : < 0,001 - sur le facteur 2, *F* : 2,94 ; *P* : 0,056) et la DLC (sur le facteur 2, *F* : 17,51 ; *P* : < 0,001).

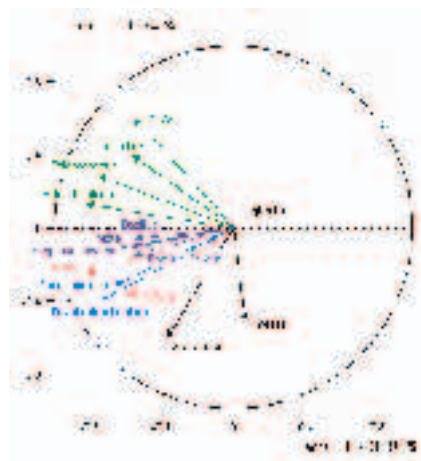
La contamination des échantillons, notamment par les groupes 1 et 2, est plus forte en été et moindre en hiver (Figure 1). Les entiers crus sont en automne plus contaminés par *E. coli*, *Bacillus* et les levures mais plus faiblement par la flore lactique, en été par les levures et enfin en hiver par *Bacillus*. Cet effet saison est accentué dans l'entreprise 3. L'entreprise 2 présente un comportement particulier : en hiver, le niveau de contamination est plus élevé que ce qui était attendu. Cette différence pourrait s'expliquer par la température des échantillons provenant de l'entreprise 2 au cours de la première période de prélèvement (hiver), qui était, lors de la réception des ovoproduits par les laboratoires, nettement supérieure à celle recommandée.

Il est également mis en évidence que la contamination des entiers crus destinés à une DLC de 14 jours est associée à une flore lactique plus importante et des levures plus nombreuses, les ovoproduits destinés à une DLC de 49 jours présentant en revanche davantage d'*E. coli*.

■ Figure 1 : Résultats de l'ACP sur les entiers frais, représentation des individus (axes 1 et 2) et des effets "saison" et "DLC"



■ Figure 2 : Résultats de l'ACP sur les entiers frais, représentation des variables continues (actives et illustratives)



L'effet "destination de l'entier" ("DLC") est essentiellement associé à l'entreprise 2 pour laquelle une DLC courte de 14 jours est liée aux échantillons fortement contaminés en flore lactique et levures alors que la DLC longue de 49 jours y est opposée.

Rappelons que l'on parle ici de produits crus. La DLC est à interpréter en terme de destination des produits (pour une DLC courte ou une DLC longue), car aucune pasteurisation n'a été réalisée à cette étape.

3.3. LA FLORE D'ALTÉRATION ET ASSOCIÉE DES PRODUITS PASTEURISÉS

Après pasteurisation (Tableaux 2 à 4), les micro-organismes présents dans l'ovoproduit sont retrouvés en plus faible quantité ; les streptocoques et les entérocoques persistent dans l'entier pasteurisé en nombre plus important que *Pseudomonas*, mais de façon plus sporadique en automne. Il faut remarquer l'absence de staphylocoques, de *E. coli* et de *Brachothrix thermosphacta* et la très faible quantité de *Clostridium*, de flore lactique et de levures dans quelques échantillons [respectivement 2, 1 et 8 échantillons pour l'ensemble des 3 saisons].

Au vu des résultats des tableaux 2 à 4, l'effet "traitement thermique" a été très net. La structuration des échantillons apparaît nettement différente de celle obtenue avec des produits crus. Elle se traduit sur la figure 3 par un regroupement des échantillons autour de l'origine. Cette

même remarque est confirmée par la figure 4 représentant les variables continues actives et illustratives. La représentation des individus met en évidence un pourcentage d'inertie sur les deux premiers axes de 36,80 %. L'axe 1 oppose les échantillons très contaminés en entérocoques et streptocoques aux échantillons peu contaminés pour ces deux flores. L'axe 2 oppose les échantillons très contaminés en *Pseudomonas* et en flore psychrotrophe à ceux qui le sont peu.

La saison (sur le facteur 1 de l'ACP, $F : 5,67$; $P : 0,004$ – sur le facteur 2, $F : 11,49$; $P < 0,001$) et la destination de l'entier "DLC" (sur le facteur 1, $F : 10,97$; $P : < 0,001$ – sur le facteur 2, $F : 3,14$; $P : < 0,079$) sont les effets principaux associés aux variations entre échantillons. Ainsi, les entérocoques et streptocoques sont moins nombreux en automne que pendant les deux autres saisons. Concernant *Pseudomonas* et la flore psychrotrophe, la contamination est plus forte en été et moindre en hiver. De même que pour les produits crus, l'effet "saison" est fortement accentué dans l'entreprise 3 et le comportement particulier de l'entreprise 2 est mis en évidence. La même explication que celle émise pour les produits crus est plausible.

L'effet "destination de l'entier" est là encore associé principalement à l'entreprise 2. Chaque entreprise a son propre barème de pasteurisation (un couple temps/température) différent en relation avec la DLC de 14 ou 49 jours. Les différences des barèmes de pasteurisation

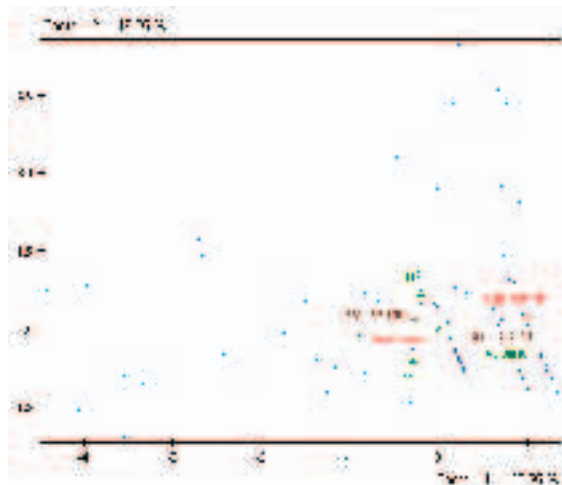
selon l'entreprise peuvent expliquer l'interaction d'une entreprise particulière avec la DLC. L'effet "DLC 14 jours" est associé aux échantillons fortement contaminés en entérocoques et streptocoques, excepté pour l'entreprise 1 pour laquelle c'est plutôt la "DLC 49 jours" qui y est liée.

3.4. LA FLORE D'ALTÉRATION ET ASSOCIÉE DES PRODUITS À DLC

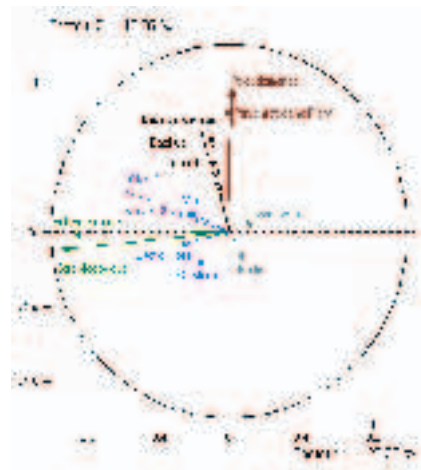
Après 14 ou 49 jours de conservation des ovoproduits, l'absence de staphylocoques, de *E. coli*, de *Brachothrix thermosphacta* et de flore lactique est à noter (Tableaux 2 à 4). Par ailleurs le développement dans l'entier pasteurisé au cours du stockage, de la flore psychrotrophe et plus particulièrement de *Pseudomonas* est bien décrit ; les entérocoques présents à J+2 se retrouvent à DLC ; les *Bacillus* et les streptocoques, les levures et les moisissures présentent un développement plus faible.

La structuration des individus (Figure 5) se rapproche de celle des produits pasteurisés (Figure 3). Le pourcentage d'inertie sur les deux premiers axes est de 30,88 %. L'étude des variables continues montre à nouveau les deux facteurs de variabilité notés précédemment, mais sur des axes différents (Figure 6). L'axe 1 oppose les échantillons très contaminés en *Pseudomonas* et flore psychrotrophe à ceux qui le sont peu, l'axe 2 oppose les échantillons très contaminés en streptocoques et entérocoques à ceux qui ne le sont pas ou peu.

■ Figure 3 : Résultats de l'ACP sur les entiers pasteurisés, représentation des individus (axes 1 et 2)



■ Figure 4 : Résultats de l'ACP sur les entiers pasteurisés, représentation des variables continues (actives et illustratives)



Comme précédemment, la saison (sur le facteur 2 de l'ACP, $F: 9,22$; $P: < 0,001$) et la DLC (sur le facteur 1 de l'ACP, $F: 2,89$; $P: 0,091$) sont les facteurs principaux associés aux variations entre échantillons. Ainsi, les entérocoques et streptocoques sont plus nombreux en hiver et le sont moins en automne. L'été est la saison accentuant légèrement la quantification de *Pseudomonas* et de la flore psychrotrophe. L'effet "saison" est là encore particulier pour l'entreprise 3, mais différemment des deux autres analyses. En effet, pour les échantillons prélevés en hiver, les quantifications des flores sont significativement plus élevées comparativement à celles des deux autres entreprises. L'effet "DLC" revêt ici un caractère légèrement différent de précédemment. Les échantillons très contaminés en *Pseudomonas* et flore psychrotrophe le

sont plutôt quand leur DLC est de 14 jours pour les 3 entreprises. Notons que là encore cet effet est accentué dans l'entreprise 2.

En ce qui concerne les streptocoques et les entérocoques, l'effet "DLC" n'est significatif que s'il est associé à la saison. En effet, pour les échantillons prélevés l'été et destinés à une DLC courte (14 jours), le niveau de contamination par ces deux flores a tendance à augmenter, alors qu'il est plus faible pour les échantillons prélevés l'été et destinés à une DLC de 49 jours.

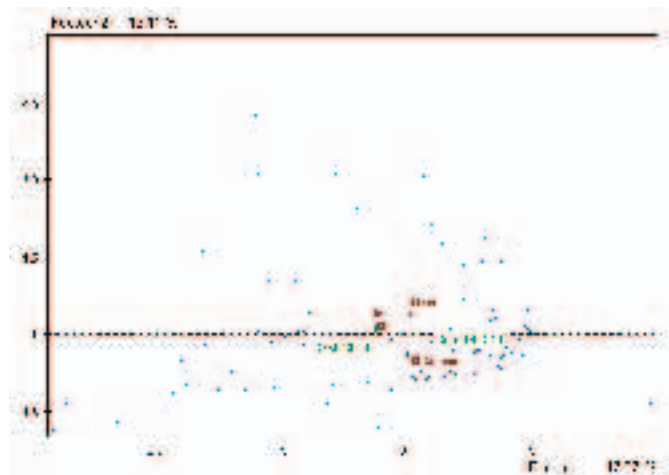
4. DISCUSSION

L'analyse globale de ces données ne pouvait s'envisager que par analyses multifactorielles afin d'en ressortir des conclusions générales. Au regard de ces

résultats, il convient de rappeler l'effet "industriel" hautement significatif ; cette grande variabilité obtenue dans notre expérience montre l'importance de mener de telles études descriptives dans plusieurs entreprises avant de porter des conclusions sur l'évolution de la qualité microbiologique d'une denrée alimentaire. Par ailleurs, cette analyse mérite d'être complétée par des tableaux récapitulatifs comportant les valeurs moyennes obtenues ainsi que les effectifs pour chaque bactérie. Ces données seront utiles pour une éventuelle modélisation de l'évolution temporelle de ces flores.

De cette étude, il est constaté que les profils de contamination sont différents selon le type d'ovoproduits : les crus présentent un niveau de contamination plus ou moins élevé, les pasteurisés à J+2 ou à DLC une structuration des flores : *Pseudomonas* et

■ Figure 5 : Résultats de l'ACP sur les entiers pasteurisés à DLC, représentation des individus (axes 1 et 2)



■ Figure 6 : Résultats de l'ACP sur les entiers pasteurisés à DLC, représentation des variables continues (actives et illustratives)

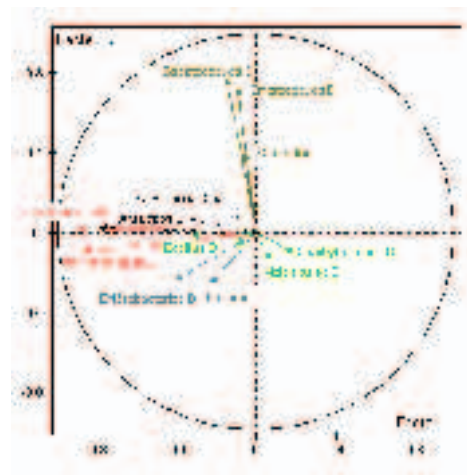


Tableau 2 - Contamination des ovoproducts en fonction des types d'entier en hiver.

	Entier cru à J+2	Entier cru pour DLC 14j	Entier cru pour DLC 49j	Entier pasteurisé à J+2	Entier pasteurisé à J+2 pour DLC 14j	Entier pasteurisé à J+2 pour DLC 49j	Entier pasteurisé à 14j	Entier pasteurisé à 49j
F.A.M.	5,69 ^a ± 0,94 ^b [48/48]	5,70 ± 1,00 [24/24]	5,68 ± 0,90 [24/24]	2,38 ± 0,76 [47/48] ^c	2,42 ± 0,78 [24/24]	2,35 ± 0,75 [23/24]	3,61 ± 2,06 [24/24]	4,72 ± 2,29 [24/24]
<i>Pseudomonas</i>	5,70 ± 0,97 [48/48]	5,83 ± 1,02 [24/24]	5,58 ± 0,92 [24/24]	1,24 ± 0,34 [2/48]	1,24 ± 0,34 [2/24]	[0/24]	5,64 ± 1,75 [9/24]	7,70 ± 1,02 [6/24]
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	2,09 ± 0,84 [22/48]	1,86 ± 0,74 [13/24]	2,43 ± 0,91 [9/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/24]	[0/24]
Levures	1,82 ± 0,58 [41/41]	1,84 ± 0,55 [24/24]	1,80 ± 0,64 [17/17]	1,15 ± 0,66 [3/48]	[0/24]	1,15 ± 0,66 [3/24]	1,33 ± 0,14 [2/24]	[0/24]
Moisissures	1,41 ± 0,61 [42/42]	1,52 ± 0,66 [24/24]	1,27 ± 0,53 [18/18]	0,69 ± 0,47 [31/48]	0,63 ± 0,41 [19/24]	0,77 ± 0,56 [12/24]	0,95 ± 0,63 [23/24]	0,76 ± 0,59 [20/24]
<i>Bacillus</i>	0,63 ± 0,49 [28/48]	0,78 ± 0,53 [16/24]	0,42 ± 0,37 [12/24]	0,48 ± 0,48 [28/48]	0,65 ± 0,59 [13/24]	0,32 ± 0,29 [15/24]	0,63 ± 0,59 [16/24]	0,27 ± 0,30 [7/24]
<i>Bacillus cereus</i>	0,47 ± 0,53 [13/48]	0,62 ± 0,56 [9/24]	0,15 ± 0,30 [4/24]	0,25 ± 0,24 [5/48]	0,16 ± 0,28 [3/24]	0,39 ± 0,13 [2/24]	0,00 ± 0,00 ^d [3/24]	0,27 ± 0,32 [4/24]
Flore lactique	2,47 ± 0,93 [41/48]	2,57 ± 1,17 [18/24]	2,39 ± 0,71 [23/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/24]	[0/24]
Flore psychrotrophe	5,12 ± 1,05 [48/48]	5,28 ± 1,11 [24/24]	4,96 ± 0,98 [24/24]	1,65 ± 0,07 [2/48]	1,60 [1/24]	1,70 [1/24]	5,13 ± 2,13 [13/24]	6,55 ± 2,20 [12/24]
Staphylocoques	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/24]	[0/24]
<i>Clostridium</i>	[0/48]	[0/24]	[0/24]	1,00 ± 0,00 ^e [2/48]	1,00 ± 0,00 [2/24]	[0/24]	1,00 [1/24]	[0/24]
Streptocoques	3,30 ± 0,92 [48/48]	3,63 ± 1,01 [24/24]	2,96 ± 0,69 [24/24]	2,09 ± 0,77 [13/48]	2,10 ± 0,66 [7/24]	2,08 ± 0,95 [6/24]	1,90 ± 0,96 [5/24]	1,45 ± 0,64 [2/24]
Entérobactéries	4,25 ± 0,95 [48/48]	4,30 ± 0,97 [24/24]	4,20 ± 0,94 [24/24]	0,60 [1/48]	0,60 [1/24]	[0/24]	1,78 ± 1,40 [3/24]	[0/24]
Entérocoques	2,49 ± 1,07 [38/48]	2,55 ± 1,18 [18/24]	2,44 ± 0,98 [20/24]	1,99 ± 0,77 [16/48]	1,90 ± 0,75 [9/24]	2,10 ± 0,83 [7/24]	2,37 ± 1,17 [5/24]	2,96 ± 1,54 [14/24]
<i>E. coli</i>	2,32 ± 1,04 [44/48]	2,29 ± 1,03 [23/24]	2,36 ± 1,08 [21/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/24]	[0/24]

a : moyenne [log cfu/ml sauf pour *Bacillus* : log cfu/10ml, pour les levures et moisissures : /5ml]

b : écart-type

c : nombre d'échantillons pour lesquels un dénombrement a été possible/nombre total d'échantillons analysés

d : 3 échantillons positifs sur 24, tous les 3 présentant le même dénombrement

e : cf. d pour 2 échantillons

flore psychrotrophe d'une part, streptocoques et entérocoques d'autre part. La qualité microbiologique des ovoproducts pasteurisés destinés à l'alimentation humaine, pour les critères retenus dans cette étude (staphylocoques, entérobactéries), répond au règlement CE 2073/2005. Dans ce cadre, les industriels appliquent des couples temps x température qui permettent de fournir des ovopro-

ducts satisfaisant aux critères de sécurité des denrées alimentaires et aux critères d'hygiène des procédés de ce règlement, ainsi qu'à ceux de l'arrêté du 11 mars 1998 désormais abrogé (FAM : $m \leq 10^4$; absence de staphylocoques ; *Enterobacteriaceae* : $m \leq 10$ cfu par g ou ml). La pasteurisation a réduit significativement l'ensemble des flores présentes dans l'entier, notamment

la FAM de 3 à 4 log selon la saison.

Ces entiers, même à l'état cru, ne contiennent à J+2 ni staphylocoques, ni *Brochothrix thermosphacta* et très accidentellement *Clostridium*. Après 14 ou 49 jours de conservation à 2 °C, le développement de ces micro-organismes est pratiquement inexistant. En revanche, les entérobactéries, *E. coli*, les levures et la flore lactique présents dans le cru sont

Tableau 3 - Contamination des ovoproducts en fonction des types d'entiers en été.

	Entier cru à J+2	Entier cru pour DLC 1	Entier cru pour DLC2	Entier pasteurisé à J+2	Entier pasteurisé à J+2 pour DLC1	Entier pasteurisé à J+2 pour DLC2	Entier pasteurisé à J+14	Entier pasteurisé à J+49
F.A.M.	6,24 ^a ± 0,79 ^b [48/48]	6,30 ± 0,92 [24/24]	6,17 ± 0,64 [24/24]	2,30 ± 0,82 [46/48] ^c	2,71 ± 0,94 [22/24]	1,93 ± 0,46 [24/24]	4,92 ± 2,25 [22/24]	5,79 ± 2,25 [21/24]
<i>Pseudomonas</i>	6,06 ± 0,88 [48/48]	6,07 ± 0,86 [24/24]	6,05 ± 0,91 [24/24]	1,67 ± 0,55 [6/48]	1,63 ± 0,61 [3/24]	1,71 ± 0,61 [3/24]	7,14 ± 1,66 [10/24]	7,66 ± 1,17 [5/24]
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	2,49 ± 0,81 [34/48]	2,35 ± 0,91 [15/24]	2,60 ± 0,76 [19/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/24]	[0/24]
Levures	1,80 ± 0,42 [44/47]	1,85 ± 0,47 [20/23]	1,76 ± 0,37 [24/24]	0,36 ± 0,39 [3/48]	0,36 ± 0,39 [3/24]	[0/24]	0,30 [1/24]	[0/24]
Moisissures	1,88 ± 0,36 [47/47]	1,91 ± 0,39 [23/23]	1,86 ± 0,33 [24/24]	0,86 ± 0,53 [48/48]	0,83 ± 0,47 [24/24]	0,89 ± 0,59 [24/24]	1,08 ± 0,39 [22/24]	1,11 ± 0,44 [23/24]
<i>Bacillus</i>	1,18 ± 0,66 [44/47]	1,16 ± 0,66 [21/23]	1,20 ± 0,69 [23/24]	1,14 ± 0,72 [41/48]	1,34 ± 0,34 [20/24]	0,96 ± 0,75 [21/24]	1,32 ± 0,66 [21/24]	1,03 ± 0,63 [21/24]
<i>Bacillus cereus</i>	1,20 ± 0,51 [41/47]	1,24 ± 0,49 [21/23]	1,16 ± 0,55 [20/24]	0,97 ± 0,59 [41/48]	1,09 ± 0,48 [21/24]	0,84 ± 0,68 [20/24]	1,29 ± 2,28 [16/24]	0,78 ± 0,80 [19/24]
Flore lactique	3,34 ± 1,27 [47/48]	3,69 ± 1,32 [23/24]	2,99 ± 1,15 [24/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/24]	[0/24]
Flore psychrotrophe	5,95 ± 0,98 [42/42]	6,10 ± 1,03 [18/18]	5,84 ± 0,95 [24/24]	1,29 ± 0,43 [11/42]	1,35 ± 0,45 [9/18]	1,00 ± 0,00 ^d [2/24]	4,81 ± 2,87 [13/24]	6,22 ± 2,18 [11/24]
Staphylocoques	[0/42]	[0/18]	[0/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/24]	[0/24]
<i>Clostridium</i>	1,00 [1/48]	[0/24]	1,00 [1/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	1,30 [1/24]	[0/24]
Streptocoques	3,94 ± 0,78 [48/48]	3,93 ± 0,86 [24/24]	3,95 ± 0,71 [24/24]	1,83 ± 0,63 [13/48]	2,17 ± 0,42 [9/24]	1,08 ± 0,15 [4/24]	2,19 ± 0,95 [9/24]	[0/24]
Entérobactéries	4,88 ± 0,76 [48/48]	4,54 ± 0,70 [24/24]	5,23 ± 0,65 [24/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	4,85 ± 2,47 [3/24]	1,42 ± 0,20 [4/24]
Entérocoques	3,22 ± 0,82 [48/48]	3,06 ± 0,76 [24/24]	3,38 ± 0,86 [24/24]	2,50 ± 0,60 [9/48]	2,35 ± 0,42 [8/24]	1,30 [1/24]	2,24 ± 0,51 [8/24]	1,93 ± 0,27 [5/24]
<i>E. coli</i>	3,44 ± 0,97 [42/48]	3,22 ± 0,99 [20/24]	3,63 ± 0,94 [22/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/24]	[0/24]

a : moyenne [log cfu/ml sauf pour *Bacillus* : log cfu/10ml, pour les levures et moisissures : /5ml]

b : écart-type

c : nombre d'échantillons pour lesquels un dénombrement a été possible/nombre total d'échantillons analysés

d : 2 échantillons positifs sur 24, tous les 2 présentant le même dénombrement

retrouvés après traitement thermique, en très faible quantité dans quelques échantillons à J+2 ou à DLC. Les moisissures, *Bacillus* et *B. cereus* ne sont que très partiellement détruits par la pasteurisation. L'application de traitements thermiques éventuellement associés à des produits chimiques pourrait limiter le développement de ces formes végétatives, comme l'ont montré Collado et al. (2006) sur

Bacillus. La flore psychrotrophe et *Pseudomonas* qui constituent la flore d'altération, se développent à basse température, par conséquent au cours de la conservation. Les entérocoques et les streptocoques persistent dans l'entier pasteurisé à un niveau plus faible et parfois après conservation, le plus souvent en hiver.

De tous les facteurs étudiés dans le plan

d'expérience, outre l'entreprise, seules la saison et la destination de l'ovoproduct lors de sa fabrication interviennent significativement sur la qualité microbiologique de l'entier.

Globalement, l'effet "saison" est le facteur le plus important, quel que soit le type d'échantillon analysé (cru, pasteurisé à J+2 ou à DLC). L'interaction "période de prélèvement"-"entreprise" est significative

Tableau 4 - Contamination des ovoproduits en fonction des types d'entiers en automne.

	Entier cru à J+2	Entier cru pour DLC 1	Entier cru pour DLC2	Entier pasteurisé à J+2	Entier pasteurisé à J+2 pour DLC1	Entier pasteurisé à J+2 pour DLC2	Entier pasteurisé à J+14	Entier pasteurisé à J+49
F.A.M.	5,68 ^a ± 0,81 ^b [48/48]	5,76 ± 0,94 [24/24]	5,59 ± 0,66 [24/24]	2,08 ± 1,04 [46/48] ^c	2,42 ± 1,28 [23/24]	1,74 ± 0,57 [23/24]	4,30 ± 2,50 [24/24]	3,27 ± 2,04 [23/24]
<i>Pseudomonas</i>	5,52 ± 0,80 [48/48]	5,56 ± 0,87 [24/24]	5,48 ± 0,75 [24/24]	1,39 ± 0,55 [2/48]	1,39 ± 0,55 [2/24]	[0/24]	7,42 ± 1,32 [9/24]	5,18 [1/24]
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	2,51 ± 0,65 [29/48]	2,56 ± 0,67 [13/24]	2,48 ± 0,66 [16/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/24]	[0/24]
Levures	1,87 ± 0,56 [45/47]	2,17 ± 0,39 [23/23]	1,55 ± 0,55 [22/24]	0,00 ± 0,00 ^d [2/48]	0,00 [1/24]	0,00 [1/24]	1,60 ± 0,54 [4/24]	[0/24]
Moisissures	1,93 ± 0,51 [48/48]	1,98 ± 0,56 [24/24]	1,89 ± 0,47 [24/24]	0,78 ± 0,59 [40/48]	0,57 ± 0,42 [20/24]	1,00 ± 0,66 [20/24]	0,70 ± 0,82 [18/24]	1,03 ± 0,87 [21/24]
<i>Bacillus</i>	0,98 ± 0,56 [38/48]	0,95 ± 0,68 [18/24]	1,00 ± 0,44 [20/24]	0,80 ± 0,59 [38/48]	0,94 ± 0,56 [18/24]	0,68 ± 0,61 [20/24]	1,13 ± 0,62 [18/24]	0,93 ± 0,50 [16/24]
<i>Bacillus cereus</i>	0,76 ± 0,52 [30/48]	0,79 ± 0,40 [13/24]	0,73 ± 0,60 [17/24]	0,69 ± 0,48 [29/48]	0,52 ± 0,42 [17/24]	0,93 ± 0,49 [12/24]	0,47 ± 0,43 [12/24]	0,80 ± 0,50 [7/24]
Flore lactique	2,71 ± 1,17 [41/48]	3,01 ± 1,42 [23/24]	2,32 ± 0,55 [18/24]	3,70 [1/48]	3,70 [1/24]	[0/24]	[0/24]	[0/24]
Flore psychrotrophe	5,44 ± 0,82 [48/48]	5,77 ± 0,89 [24/24]	5,30 ± 0,73 [24/24]	1,27 ± 0,32 [4/48]	1,00 ± 0,00 [2/24]	1,54 ± 0,09 [2/24]	5,32 ± 2,59 [16/24]	4,14 ± 1,85 [12/24]
Staphylocoques	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/24]	1,96 [1/24]
<i>Clostridium</i>	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/24]	[0/24]
Streptocoques	3,19 ± 0,76 [47/48]	3,19 ± 0,88 [23/24]	3,19 ± 0,63 [24/24]	3,54 [1/48]	3,54 [1/24]	[0/24]	[0/24]	[0/24]
Entérobactéries	4,41 ± 0,73 [48/48]	4,27 ± 0,71 [24/24]	4,54 ± 0,73 [24/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	2,50 ± 0,31 [2/24]	[0/24]
Entérocoques	3,02 ± 0,78 [47/48]	2,79 ± 0,84 [24/24]	3,26 ± 0,34 [23/24]	1,15 ± 0,17 [4/48]	1,15 ± 0,17 [4/24]	[0/24]	1,16 ± 0,28 [3/24]	1,98 ± 0,28 [2/24]
<i>E. coli</i>	2,94 ± 0,95 [45/48]	2,68 ± 0,67 [21/24]	3,16 ± 1,10 [24/24]	[0/48]	[0/24]	[0/24]	[0/24]	[0/24]

a : moyenne [log cfu/ml sauf pour *Bacillus* : log cfu/10ml, pour les levures et moisissures : /5ml]

b : écart-type

c : nombre d'échantillons pour lesquels un dénombrement a été possible/nombre total d'échantillons analysés

d : 2 échantillons positifs sur 48, tous les 2 présentant le même dénombrement

dans cette étude. En été, la contamination de l'entier cru est plus importante et plus variée. Celle de l'ovoproduit pasteurisé est globalement plus forte en été surtout avec une augmentation de *Pseudomonas* et de la flore psychrotrophe, plus faible en automne ; en hiver, le groupe *Enterococcus-Streptococcus* domine. La plupart de ces micro-organismes sont isolés sur la coquille [Board (1966), Board et Tranter

(1986), Alaboudi et al. (1988), Anand et al. (1993), Hutchinson et al. (2003)] et persistent au cours du stockage [Jones et al., 2004]. L'origine de cette contamination plus élevée en été par ces micro-organismes peut être multiple, liée à leur multiplication plus importante dans certains élevages de poules d'élevage de consommation, dans l'environnement en industries mais aussi à des températures ambiantes

plus propices à leur développement.

L'effet destination en terme de DLC est le deuxième facteur significatif, plus particulièrement net dans l'une des trois entreprises, que ce soit dans les produits crus, pasteurisés ou à DLC. Pour les produits crus, un tri des œufs (volontaire ou autre...) selon la destination des produits n'est pas à exclure. Pour les deux autres, la contamination est plus forte à J+2 pour

les entiers destinés à une DLC de 14 jours. Ceci peut être expliqué par le barème de pasteurisation *à priori* moins fort, avec une utilisation particulière dans une entreprise. Les entiers destinés à une DLC de 14 jours présente un niveau de contamination plus élevé que ceux destinés à une DLC longue, surtout pour *Pseudomonas* et la flore psychrotrophe, à un moindre degré pour les entérobactéries et *Bacillus* (Figures 4 et 6).

Il apparaît intéressant, pour les industriels, outre de contrôler au mieux la qualité microbiologique de leur matière première, de tester d'autres barèmes de pasteurisation afin de réduire le développement de *Pseudomonas*, des entérobactéries, de *Bacillus* et de la flore psychrotrophe dans le cadre de production d'ovoproduits destinés à des DLC courtes en été. Ces nouveaux barèmes de pasteurisation appliqués en été permettraient ainsi de lutter contre une contamination globale plus importante. Ils pourraient simultanément agir sur la présence éventuelle de certaines souches de streptocoques décrites résistantes à la pasteu-

risation par Payne et Gooch (1980).

Par ailleurs, l'installation progressive de biofilms dans les tuyauteries... pourrait être à l'origine du développement des entérocoques et streptocoques dont le relargage en automne et surtout en hiver serait possible. La destruction de ces biofilms exige des procédures de nettoyage et de désinfection plus drastiques comme l'ont décrit par exemple Joseph et al. (2001). En conséquence, l'application de ces procédures dans les différents circuits de production de l'ovoproduit doit être vérifiée et l'efficacité régulièrement contrôlée ; une vigilance toute particulière s'impose, surtout en été ou en période chaude, avec une mise en place éventuelle de moyens complémentaires afin de limiter la contamination par ces flores ultérieurement.

5. CONCLUSION

Au cours de cette étude, une cartographie détaillée de la flore bactérienne présente dans la matrice entier liquide tant à l'état

cru que pasteurisé puis conservée à 2 °C pendant 14 et 49 jours, a été établie et devrait permettre aux industriels de mieux maîtriser la qualité des ovoproduits pasteurisés, en apportant d'éventuelles actions correctives, plus particulièrement en fonction de la saison et de l'application des bonnes pratiques d'hygiène dans leurs entreprises. Elle devrait également conduire ultérieurement à l'élaboration de modèles pertinents permettant la prévision de l'évolution de la contamination des ovoproduits lors de leur commercialisation et de leur utilisation par le client.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été financée dans le cadre du Pôle Agronomique de l'Ouest par les Régions Bretagne et Pays de La Loire. Les auteurs tiennent à remercier toutes les personnes qui ont rendu ce travail possible, plus particulièrement les trois industriels qui ont assuré la préparation et l'envoi des échantillons.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alaboudi A.R., Hammed D.A., Ali D.S.**, 1988. Microbial content of market eggs. *Indian J. Animal Sciences*, 58 (7), 768-770.
- Anand S.K., Pandey N.K., Mahapatra C.M., Verma S.S.**, 1993. Spoilage and pathogenic microflora of fresh chicken eggs. *Indian J. Poult. Sci.*, 28 (2), 125-129.
- Baker R.C.**, 1974. Microbiology of eggs. *J. Milk Food Technol.*, 37, 5, 265-268.
- Benoist D., Tourbier Y., Germain-Tourbier S.**, 1994. Plans d'expérience : construction et analyse, Tec-Doc, Lavoisier, Paris.
- Board R.G., Tranter H.S.**, 1986. The microbiology of eggs. *Egg science and technology*, AVI Publishing Co., 75-97.
- Board R.G.**, 1966. The course of microbial infection of the hen's egg. *J. appl. Bact.*, 29, 319-341.
- Collado J., Fernandez A., Rodrigo M., Martinez A.**, 2006. Modelling the effect of a heat shock and germinant concentration on spore germination of a wild strain of *Bacillus Cereus*. *Int. J. Food Microbiol.*, 106, 85-89.
- De Reu K., Grijspeerdt K., Heyndrickx M., Zoons J., De Baere K., Uyttendaele M., Debevere J., Herman L.**, 2005. Bacterial eggshell contamination in conventional cages, furnished cages and aviary housing systems for laying hens. *Br. Poult. Sci.*, 46 (2), 1-7.
- Florian F.L.E., Trussel P.C.**, 1958. Bacterial spoilage of eggs. Identification of spoilage organisms. *Food Technol.*, 11, 56-60.
- Haeghebaert S., Le Querrec F., Bouvet P., Gallay A., Espié E., Vaillant V.**, 2002. Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire*, 50, 249-253.
- Hutchinson M.L., Gittins J., Walker A., Moore A., Burton C., Sparks N.**, 2003. Washing table eggs : a review of the scientific and engineering issues. *World's Poultry Science Journal*, 59, 233-248.
- Jones D.R., Musgrove M.T., Northcutt J.K.**, 2004. Variations in external and internal microbial populations in shell eggs during extended storage. *J. Food Prot.*, 67 (12), 2657-2660.
- Joseph B., Otta S.K., Karunasagar I., Karunasagar I.**, 2001. Biofilm formation by *Salmonella spp.* on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. *Int. J. Food Microbiol.*, 64, 367-372.
- Mayes F.J., Takeballi M.A.**, 1983. Microbial contamination of hen's egg. *J. Food Prot.*, 46, 1092-1098.
- Musgrove M.T., Jones D.R., Northcutt J.K., Harrison M.A., Cox N.A.**, 2005. Impact of commercial processing on the microbiology of shell eggs. *J. Food Prot.*, 68 (11) 2367-2375.
- Payne J., Gooch J.E.**, 1980. Survival and faecal streptococci in raw and pasteurised egg products. *Br. Poult. Sci.* 21 (1), 61-70.
- Protas J., Lahellec C., Copin M.P.**, 1991. Effect of storage temperature in the microbiological quality of fresh and pasteurized egg products. 4th European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products, Doorwerth, May, 12-17. Quality of poultry products. III. Safety and marketing aspects, 223-228.
- Protas J., Colin P.**, 1996. Les salmonelles dans la filière "ovoproduits". *Ind. Alim. Agr.*, juin, 435-440.
- SNIPO**, 1998. Guide d'analyse des ovoproduits. Document édité par le Syndicat National des Industriels en Produits d'oeufs.
- Stadelman W.J., Cotterill O.J.**, 1986. *Egg science and technology*, 2d Ed AVI Publishing Co., Westport, CT, 49-64.
- Wood S.L., Waites W.M.**, 1988. Factors affecting the occurrence of *Bacillus cereus* in liquid whole egg. *Food microbiol.*, 5, 103-107.