



Prévalence de *Campylobacter* sur les magrets de canard et influence de la transformation par séchage

Les magrets de canard peuvent-ils être une source de transmission de *Campylobacter* ?

Auteurs : Fabienne REMIZE^{1*}, Eddy MONTAGNÉ¹, Aurélie LUCAN¹, Florence AVIAT², Michel FEDERIGHI².

¹Centre Technique de la Conservation des Produits Agricoles (CTCPA), Z.A. Aéroport, Site Agroparc, BP 21203 - 84911 AVIGNON Cedex 9. (*) Adresse actuelle de l'auteur correspondant: Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments, Université de La Réunion, ESIROI, 2 rue J. Wetzell, F-97490 Sainte Clotilde. E-mail : blarinier@ctcpa.org

²LUNAM, Oniris, Secalim, route de Gachet, BP 40706, 44307 Nantes cedex 03

Un projet collaboratif entre le CTCPA et Oniris visant à mieux appréhender le risque *Campylobacter* dans les produits de canard non cuits a permis de déterminer l'efficacité des méthodes de transformation et de conservation sur leur population.

I. CONTEXTE ET OBJECTIFS

Les *Campylobacter* sont des bactéries mésophiles et fortement mobiles qui regroupent aujourd'hui une vingtaine d'espèces se développant toutes à 37°C. Cependant, plusieurs espèces ou sous-espèces sont regroupées sous l'appellation de *Campylobacter* thermotolérants, car capables de se développer également à 41,5°C. La plupart des espèces ont une préférence microaérophile, c'est-à-dire pour les atmosphères pauvres en oxygène (3 à 10 %).

Les espèces *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli* sont les plus fréquemment impliquées lors des maladies humaines (Federighi, 1999). Ces bactéries provoquent chez l'homme des campylobactérioses digestives dont l'incidence est élevée dans les pays développés et en voie de développement. En France, l'incidence déclarée était de 6,2 cas pour 100 000 habitants en 2009, mais l'incidence est estimée de 21 à 29 cas pour 100 000 habitants (Euro. Surveill. 2004;9(9):6-9.). De ce fait, on considère que la campylobactériose est une

zoonose, une maladie transmise à l'homme par les animaux ou les produits qui en dérivent.

Elle est principalement causée par l'ingestion de produits carnés, crus ou pas assez cuits, contaminés par des *Campylobacter* thermotolérants. Les *Campylobacter* sont présents dans le tractus intestinal d'une grande variété d'animaux sauvages et domestiques notamment celui des volailles.

En 1987, la prévalence de *Campylobacter* sur des carcasses de canard en Grande-Bretagne était de 6,7 % (Kasrazadeh et al., 1987). En 2010, l'Efsa (Agence européenne de sécurité des aliments) a établi la prévalence au sein de l'Union européenne de *C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari* sur des carcasses de volailles qui est de 62,6%, 32,7% et 0,5% respectivement (Efsa Report, 2010).

Les principales caractéristiques de la campylobactériose sont regroupées dans le *Tableau 1*.

Tableau 1 : Caractéristiques de la campylobactériose
(d'après Anses, fiche des dangers transmissibles par les aliments, 2012)

Durée moyenne d'incubation		Principaux symptômes observés dans ...% des cas : valeur moyenne (valeur mini – valeur maxi)	
3,2 jours (de 8 h à 8 jours)		<ul style="list-style-type: none"> • Diarrhée : 85 % (52 - 100) - Douleurs abdominales : 79% (56 - 99) • Selles sanguinolantes : 15% (0,5 – 32) - Fièvre : 50 % (6 – 75) • Céphalées : 41% (6 – 69) - Vomissements : 15 % (1 – 42) 	
Durée des symptômes	Durée de la période contagieuse (excrétion)	Complications (dont létalité) (observées dans% des cas)	Formes asymptomatiques
3-4 jours	37,6 jours en moyenne (Max 69 jours)	<ul style="list-style-type: none"> • Bactériémies et septicémies : <1% • Syndrome post-infectieux : notamment syndrome de Guillain-Barré 0,1% <p>Complications exceptionnellement décrites : appendicites, péritonite, cholécystite</p> <ul style="list-style-type: none"> • Létalité <0,1% des cas 	Oui chez certains patients ayant eu antérieurement une campylobactériose

Les magrets de canard sont fabriqués par séchage, éventuellement fumage, de découpes de filets de canard. Les procédés, tant industriels qu'artisansaux, ne permettent pas de dépasser des températures de produit au-delà de 35°C. L'inactivation thermique de *Campylobacter* nécessite l'application d'une minute de traitement autour de 55°C pour diminuer la population d'un facteur 10. Ainsi, lors de

l'élaboration des magrets, les températures ne permettent pas en elles-mêmes d'inactiver la bactérie. Ce projet a permis d'évaluer la fréquence et les niveaux de contamination des magrets, mais, aussi, par l'application de deux procédés-types de séchage en conditions contrôlées, de déterminer l'effet des procédés sur des populations inoculées en grande quantité avant traitement, à la surface des magrets de canard.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Choix des échantillons

Le prélèvement d'échantillons a été réalisé auprès de différents sites d'abattage ou de transformation de magrets de canard. Les produits étaient issus de six entreprises, dont 3 groupes industriels et 3 PME (10 à 50 salariés). Les sites de fabrication étaient répartis sur les régions sud-ouest et ouest de la France.

Pour chacun des sites participant, des prélèvements de pièces de découpe ont été réalisés et conditionnés sous vide. Les envois ont été réalisés en conditions réfrigérées avec réception dans les deux jours. A réception, les échantillons ont été stockés à + 4°C. La préparation des échantillons a été réalisée dans les 4 jours suivant le prélèvement.

II.2 Préparation des échantillons

L'échantillon d'aliment a été préparé de la façon suivante : prélèvement aseptique, découpage de tronçon de 3 à 4 cm (chair et peau), pesée de 10 g en sachet stérile. L'échantillon a été dilué au dixième dans le milieu de Bolton complet. Après dilution, chaque sachet a été homogénéisé 1 minute au stomacher.

Les milieux ont été incubés en atmosphère microaérobie (85% N₂, 10% CO₂, 5% O₂) à + 37 °C pendant 4 à 6 h, puis à + 41,5°C pendant 44 h plus ou moins 4 h. A partir des enrichissements obtenus comme ci-dessus, deux milieux sélectifs sont ensemencés, afin d'isoler et de confirmer la présence de la bactérie :

- une gélose modifiée à la céfopérazone, au charbon et au désoxycholate appelée gélose mCCDA respectant la norme ISO / TS 10272-2 : 2006,

- une gélose Karmali ou Brilliance Campycount.

Ces ensemencements ont été disposés à + 41,5°C, en atmosphère microaérophile, pendant 44 h plus ou moins 4 h. Les colonies présumées de *Campylobacter* ont été repiquées sur une gélose Columbia au sang puis la confirmation de l'espèce s'effectue par PCR au laboratoire.

II. 3. Méthode de dénombrement

Les *Campylobacter* présumés ont été dénombrés d'après la norme ISO / TS 10272-2:2006. La méthode de référence ISO / TS 10272-2:2006 actuellement préconisée pour la quantification des *Campylobacter* consiste, après broyage d'un échantillon d'aliment dans un diluant approprié, à effectuer un dénombrement en surface sur le milieu sélectif

II. 4. Méthode d'évaluation de l'effet des procédés

Pour l'évaluation de l'effet des procédés, des magrets frais ont été achetés dans le commerce avec la DLC (Date Limite de Consommation) la plus éloignée possible. Ces magrets ont été ficelés au laboratoire de microbiologie puis inoculés par pulvérisation de 200 µL de suspension bactérienne concentrée (mélange de trois isolats issus de culture sur gélose mCCDA-Preston (Oxoid) 48 h à + 42°C) sur la peau et la chair.

Après une nuit, le salage a été effectué manuellement avec 10 g de sel fin/ kg et 17 g de sel nitrité /kg répartis en surface des magrets. Les magrets disposés les uns contre les

mCCDA (Fosse *et al.*, 2006). Le dénombrement a été réalisé par comptage des colonies après inoculation de gélose et incubation pendant 40 à 48 h, à + 41,5°C en microaérobiose. Il a été suivi d'une identification des colonies caractéristiques.

autres ont été maintenus 24 h à + 4°C dans ces conditions avec un retournement à mi-durée environ.

Le séchage des magrets a été réalisé dans une cellule de séchage ARCOS au CTCPA d'Auch, selon deux procédés, définis suite à une enquête auprès des entreprises et afin de couvrir l'étendue des paramètres rencontrés notamment en termes de durée et température de séchage. Un premier procédé court a duré 2,4 jours, les taux d'humidité relative de l'enceinte variant entre 70 et 80%, et la température maximale atteinte étant de 30°C. Un second procédé long a duré 13 jours et la température ne dépassait pas 22°C.

III. RESULTATS OBTENUS, DISCUSSION

III.1 Analyse des magrets crus

Les analyses ont porté sur 112 magrets crus, entre juin 2010 et novembre 2010. Ces magrets provenaient des sites suivants : site A (industriel) : 36 magrets, site S (industriel): 27 magrets, site L (industriel): 13 magrets, site T (industriel): 15 magrets, achat CTCPA (divers sites) notés I : 12 magrets, site G (PME) : 6 magrets, site F (PME) : 2 magrets, site C (PME) : 1 magret. Ainsi, les magrets industriels représentaient au moins 81% des échantillons. Aucun des magrets prélevés n'a subi de congélation. Parmi ceux-ci, sept étaient contaminés par *Campylobacter*.

III. 2. Analyse des magrets séchés/fumés

L'analyse de la contamination en *Campylobacter* a été effectuée à partir de 130 magrets séchés, éventuellement fumés. Les sites industriels représentaient au moins 90% des échantillons. Pour le site A, les magrets séchés correspondant aux lots de magrets crus dans lesquels la

III. 3. Analyse des magrets inoculés

Trois isolats différents (39, 165 et 238) ont été cultivés en vue de leur inoculation sur magrets de canard crus. Après culture, les colonies sont récoltées puis utilisées pour pulvériser la surface de magrets crus ou séchés.

Les magrets de canard ont été analysés après envoi sous vide réfrigéré (2 jours) :

- magrets témoins : magrets crus du commerce,
- magrets crus inoculés par pulvérisation d'une suspension concentrée de *Campylobacter*,
- magrets crus inoculés puis congelés : magrets mis sous vide, congélation lente à - 20°C, stockage 2 semaines puis décongélation à + 4°C pendant 48 h,
- magrets crus inoculés salés à la main et conservés une semaine en conditions réfrigérées,

La prévalence calculée a été de 6,2% de contamination avec un intervalle de confiance (IC) à 95% de [2; 11]. Dans tous les cas, la contamination était faible, détectée uniquement par enrichissement (< 10 ufc/g par dénombrement des colonies). Les magrets contaminés ont été détectés à partir des sites qui ont fourni le plus de magrets. Les différences entre sites ne sont pas apparues significatives. De même, la saisonnalité de la contamination ne peut être affirmée.

présence de *Campylobacter* avait été détectée ont été ici analysés. Aucune des analyses pratiquée n'a permis de mettre en évidence de *Campylobacter*. **Ainsi, une prévalence nulle sur le produit fini n'a été observée.**

- magrets crus inoculés puis salés et séchés, au stade « fin de process » (les deux procédés de séchage appliqués sont notés C, pour process court, et L pour process long),
- magrets crus inoculés puis salés et séchés, après 6 semaines de conservation réfrigérée.

Le *Tableau 2* montre que les magrets du commerce n'étaient pas contaminés. L'inoculation des magrets visant une population de 10⁵ ufc/g a permis d'obtenir des populations supérieures à 10³ ufc/g après quelques jours de conservation à 4°C. La méthode d'inoculation apparaît donc adaptée pour permettre la survie de ces bactéries. Ce tableau montre aussi que la congélation des magrets inoculés a contribué de façon significative à diminuer le niveau de contaminants (diminution de 2 à 3 log).

Tableau 2 : Dénombrement des Campylobacter sur magrets crus, avant et après (2 jours) inoculation

Dénomination magret	Dénombrement (ufc/g)	
	Process court	Process Long
Cru a	< 10	< 10
Cru b	< 10	< 10
Cru a inoculé	3,8.10 ⁴	6,3.10 ³
Cru b inoculé	2,25.10 ⁴	1,7.10 ³
Cru a inoculé puis congelé 2 semaines	7,8.10 ²	
Cru b inoculé puis congelé 2 semaines	25	

Le Tableau 3 montre l'effet du sel après conservation des magrets crus salés à 4°C une semaine. A l'exception d'un résultat, **le salage constitue un stress important** pour les bactéries, létal ou sub-létal. En effet, les *Campylobacter* ont la capacité d'entrer dans un état viable mais non cultivable, qui empêche leur détection par les méthodes de culture microbiologique classiques, mais qui constitue une voie de survie des bactéries, capables de revivification lorsque les conditions redeviennent favorables.

Les procédés de séchage des magrets ont montré des résultats assez clairs, conformes à l'attendu : **la diminution des populations** a été satisfaisante. Les *Campylobacter* ont été stressés létalement ou sub-létalement.

Le procédé long a donc semblé globalement plus efficace que le procédé court, mais le faible nombre de résultats ne permet pas de l'affirmer.

Tableau 3 : Dénombrement des Campylobacter après application du salage et des procédés de séchage

Dénomination magret	Dénombrement (ufc/g)	
	Process Court	Process Long
Cru a inoculé	3,8.10 ⁴	6,3.10 ³
Cru b inoculé	2,25.10 ⁴	1,7.10 ³
Cru salé a	<10	2.2.10 ²
Cru salé b	<10	<10
Cru salé c	<10	10
Cru salé d	<10	<10
Cru salé e	<10	<10
Séché a	20	<10
Séché b	6.4.10 ²	<10
Séché c	10	<10
Séché d	15	<10
Séché e	7.8.10 ²	<10
Séchés conservés a	<10	nd
Séchés conservés b	<10	nd
Séchés conservés c	<10	nd

nd: non déterminé

Comme présenté dans le Tableau 4, la conservation réfrigérée des magrets séchés a contribué à la diminution de population de *Campylobacter*. Dans ce cas, les magrets inoculés crus, puis salés et séchés, ont été analysés après conservation. Aucune population de *Campylobacter* n'a été alors détectée.

Une expérience complémentaire a donc été réalisée. Des magrets du commerce ont été salés et séchés selon les deux

procédés, puis inoculés avant d'être conservés 6 semaines à 4°C. Inoculés au même niveau que les magrets crus, ces magrets séchés ont subi un dénombrement de la population de *Campylobacter* après 3 jours de conservation à + 4°C et après 6 semaines.

Les analyses ont montré une diminution de 1 à 2 log de la population inoculée sur les magrets séchés au cours de la conservation.

Tableau 4 : Dénombrement des *Campylobacter* après conservation réfrigérée des magrets séchés

Dénomination magret	Dénombrement (ufc/g)	
	Après 3 jours	Après 6 semaines
Séché inoculé a	3,35.10 ²	<10
Séché inoculé b	3,65.10 ²	<10
Séché inoculé c	9,85.10 ²	<10
Séché inoculé d	1,35.10 ²	15
Séché inoculé e	4,5.10 ²	60

IV. CONCLUSION GENERALE

Ce projet a permis de tester deux procédés de fabrication « extrêmes » pour les magrets de canard : « court à haute température » et « long à basse température ». Ces essais ont démontré que l'étape de salage entraîne un stress important pour les *Campylobacter* révélé par une diminution de la population (dénombrements en direct). Pour les deux procédés, la diminution de population des *Campylobacter* est satisfaisante. Les *Campylobacter* sont stressés létalement ou sub-létalement. Ces observations sont confirmées par le nombre de cas positifs obtenus lors de l'étude de prévalence. En effet, il faut noter que les sept cas positifs pour *Campylobacter* correspondent à des magrets crus et non à des magrets séchés ou fumés / séchés. Ce résultat va dans le sens

d'un effet net du process de fabrication dans la diminution du risque de transmission de *Campylobacter* par les magrets de canard.

La congélation permet également une réduction significative, de 10 à 100 fois, de la population des *Campylobacter*, observée en dénombrement direct. Cette étape est à recommander si les qualités organoleptiques du produit ne sont pas modifiées. Enfin, la conservation réfrigérée des magrets prolonge l'effet des procédés en permettant de diminuer encore les niveaux de *Campylobacter*. La présence d'une flore fongique à la surface des magrets pourrait jouer un rôle à ce stade.

Remerciements :

Les auteurs de l'étude remercient FranceAgriMer et le Cifog (Comité Interprofessionnel des Palmipèdes à Foie Gras) qui ont soutenu financièrement ce projet de deux années. Ce projet a pu être réalisé grâce à la collaboration active d'industriels et d'artisans du secteur qui ont réalisé des prélèvements de magrets sur leurs lignes de fabrication.

Bibliographie

* Norme

ISO / TS 10272-2:2006, Microbiologie des aliments -- Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Campylobacter* spp. -- Partie 2: Technique par comptage des colonies

* Articles, ouvrages scientifiques

EFSA Report (2010). Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008. EFSA Journal 8 (3):1503

Federighi M. (1999) *Campylobacter* et hygiène des aliments. Federighi M. (ed.), Polytechnica, Paris, 160 pages (ISBN 2-84054-061-4)

Fosse, J., Laroche, M., Rossero, A., Federighi, M., Seegers, H. & Magras, C. (2006). Recovery methods for detection and quantification of *Campylobacter* depend on meat matrices and bacteriological or PCR tools. J Food Prot 69 : 2100-2106

Kasrazadeh, M., and C. Genigeorgis. (1987). Origin and prevalence of *Campylobacter jejuni* in ducks and duck meat at the farm and processing plant level. J. Food Prot. 50 : 321–326

