



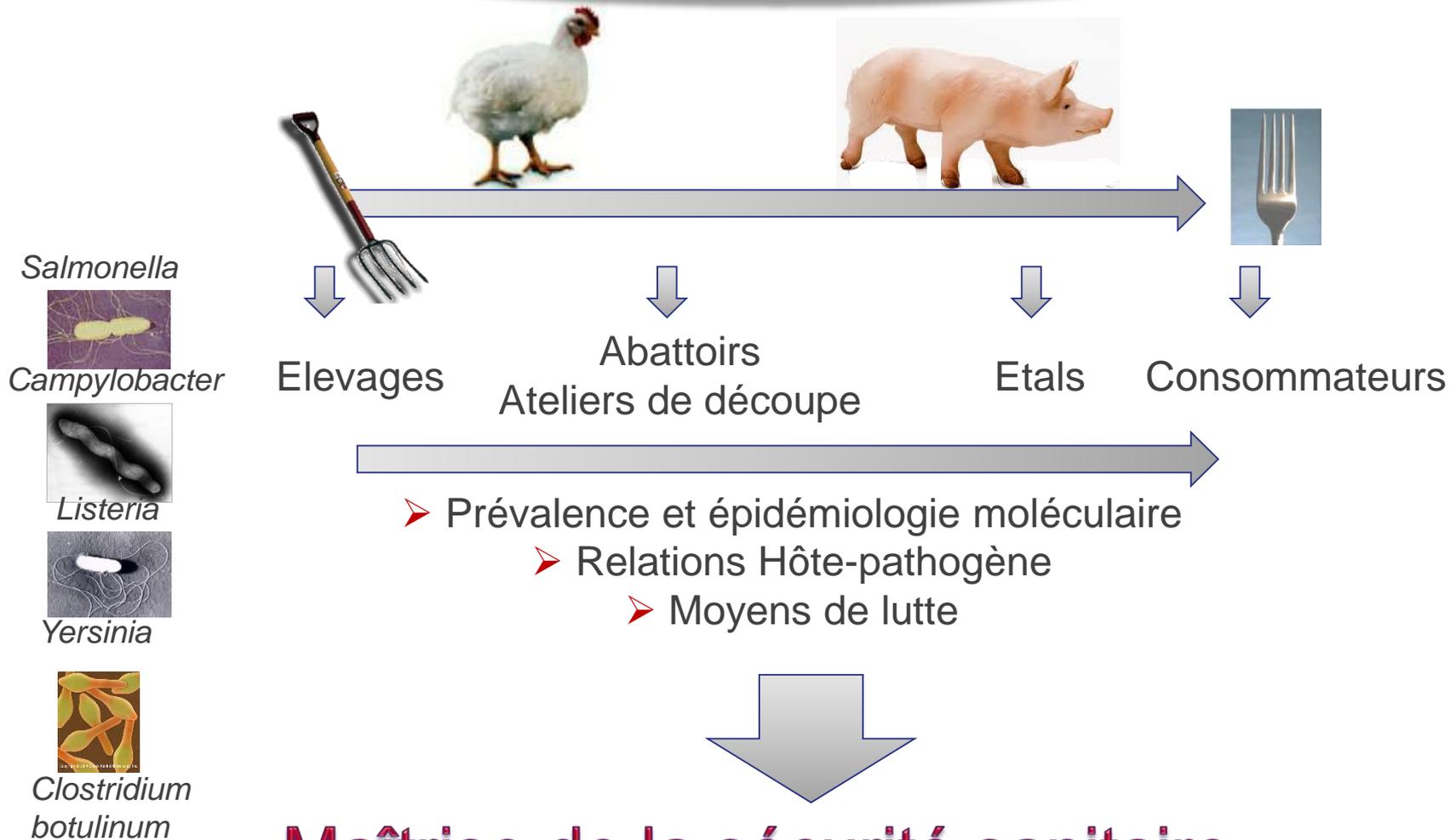
Prévention des crises alimentaires par une hygiène augmentée. Les supports en mode autodéfense



Transfert bactérien *via* la surface de travail vers les produits alimentaires

M. Guyard
Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort
Unité Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins
Ploufragan

ACTIVITES DE RECHERCHE



Maîtrise de la sécurité sanitaire

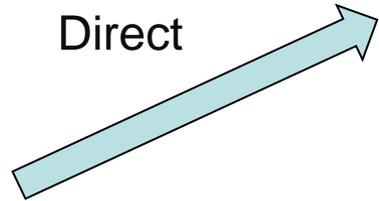
Contaminations croisées

= transfert direct ou indirect de bactéries/virus d'un produit contaminé vers un produit non contaminé



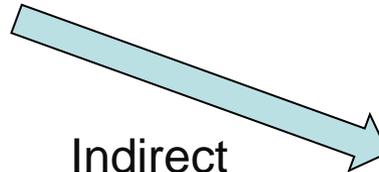
Contaminants

Direct



Produit contaminé en contact avec un produit non contaminé

Indirect

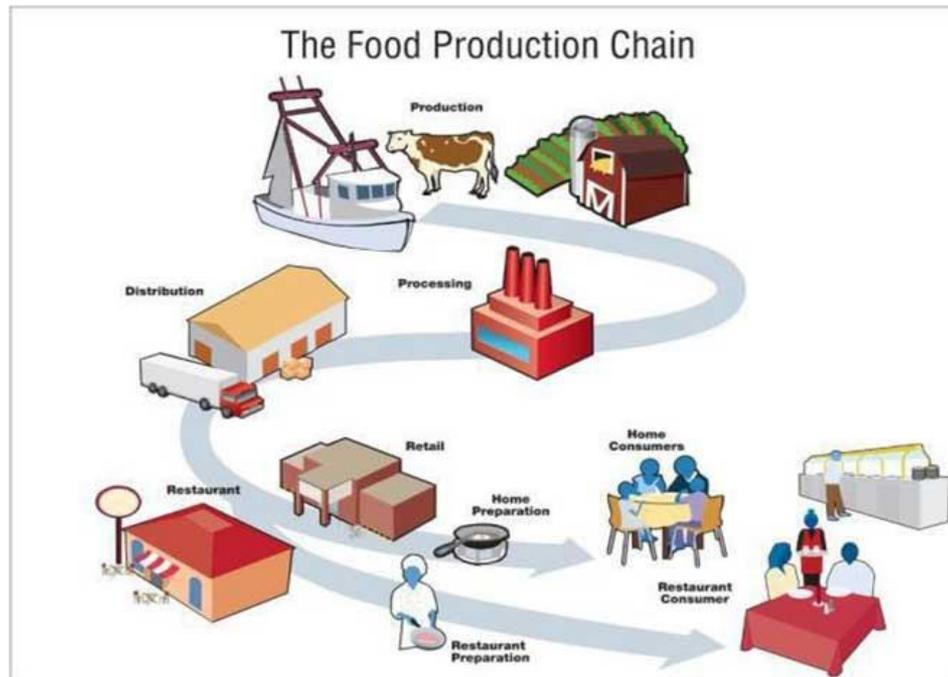


Mains
Equipements
Surfaces de travail

Contaminations croisées

Peuvent concerner :

- tous les stades de production jusqu'au consommateur



- Micro-organismes d'altération ➤ pertes économiques
- Micro-organismes pathogènes ➤ sécurité sanitaire

Voies de transmission

- Par voie aéroportée (aérosols)



- D'une surface à l'aliment de type liquide

Ex: Tanks, pipelines....



- D'une surface à l'aliment par contact

Ex: planches à découper, couteaux...



Croyance populaire aux USA : « 5 seconds rule » »

- Emission de TV « MythBusters » en 2005
- Plusieurs articles scientifiques



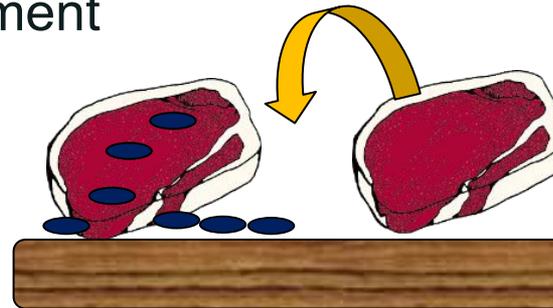
En fait, dépend de nombreux facteurs...

Effect of inoculum size, bacterial species, type of surfaces and contact time to the transfer of foodborne pathogens from inoculated to non-inoculated beef fillets *via* food processing surfaces



E. Gkana ^a, N. Chorianopoulos ^b, A. Grounta ^a, K. Koutsoumanis ^c, G.-J.E. Nychas ^{a,*}

Filet de bœuf artificiellement contaminé



6 Filets de bœuf successifs non contaminés

- 3 Niveaux de contamination (de 10^3 à 10^7 UFC/cm²)
- 3 Bactéries (*L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *E. coli*)
- 3 Matériaux (Acier Inoxydable, Polyéthylène, Bois)
- Différents temps de contact (1 à 15 min)

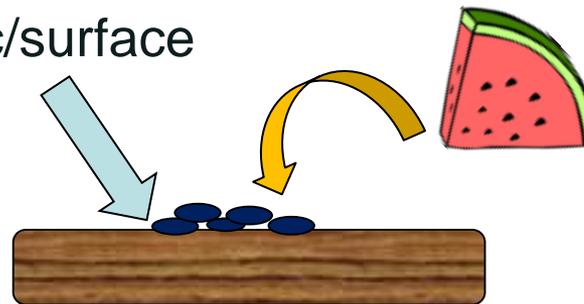
- Transfert observé sur le 6^{ème} filet quelles que soient les conditions
- Réduction de 2 log entre le filet inoculé et le 1^{er} non inoculé quel que soit le niveau de contamination initial
- Taux de transfert différent selon les pathogènes
L. monocytogenes > *E. coli* > *S. Typhimurium*
- Taux de transfert différent selon le type de surface
Plus de transfert avec le bois que les autres surfaces
- Temps de contact n'influe pas sur le transfert

Longer Contact Times Increase Cross-Contamination of *Enterobacter aerogenes* from Surfaces to Food

Robyn C. Miranda,  Donald W. Schaffner

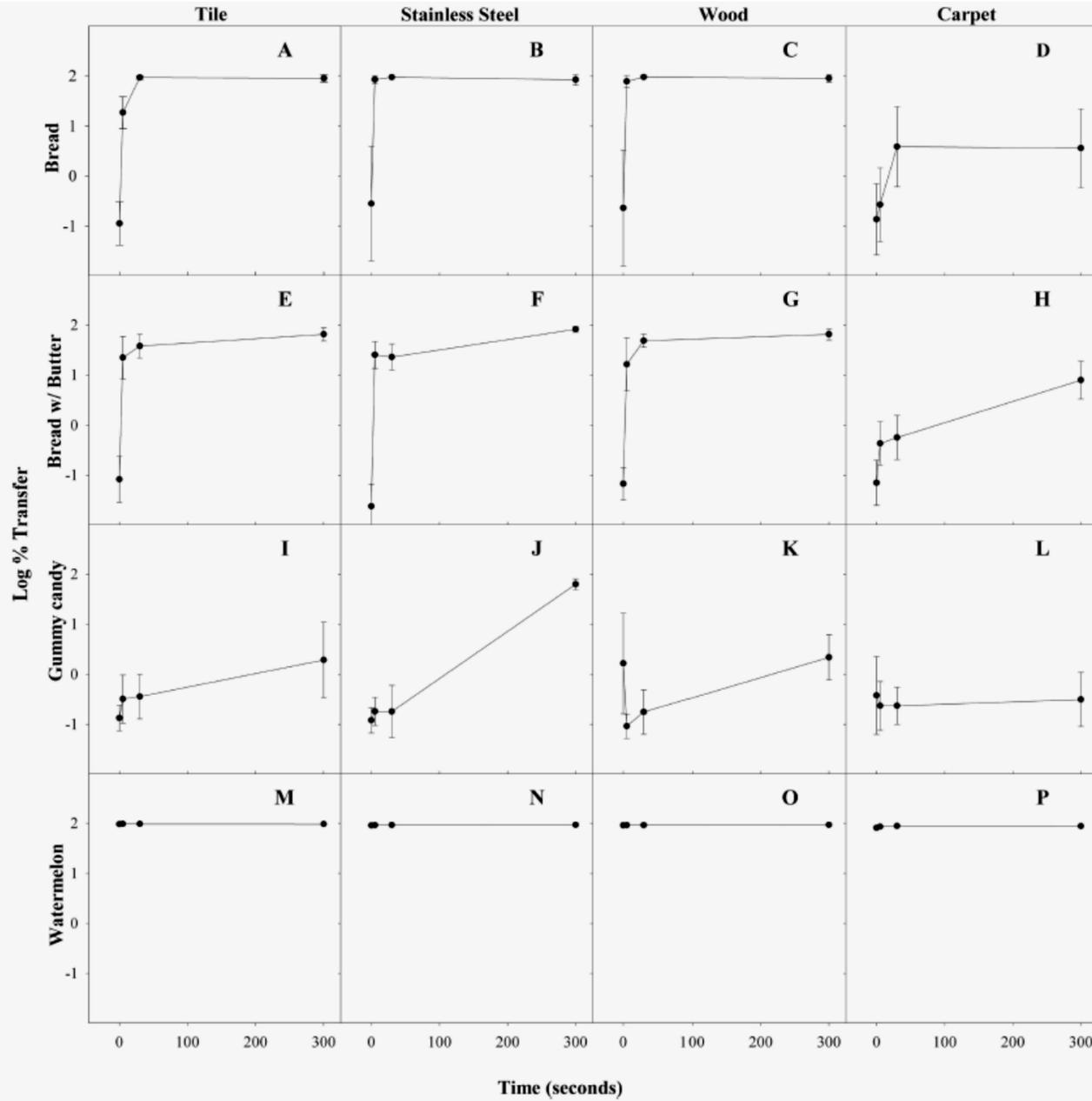
Rutgers, The State University of New Jersey, New Brunswick, New Jersey, USA

Inoculum 10^7 ufc/surface



- 4 Types de surface : Bois, Acier Inoxydable, Carrelage, Tapis
- 4 Types d'Aliment : Pastèque, pain, Pain beurré, Bonbon gélifié
- Différents temps de contact (1 à 300 s)

Résultats de l'étude



Conclusions de l'étude

➤ Temps de contact, nature de l'aliment, nature de la surface ont tous un effet significatif sur le transfert

➤ Taux de transfert différent selon les aliments



➤ Le temps de contact influence le transfert
+ de temps de contact = + transfert

➤ Le taux d'humidité de l'aliment influence fortement le transfert
+ d'humidité = + de transfert

➤ La topographie de l'aliment et de la surface influencent le transfert
+ d'aspérités (rugosités) = - de transfert

Le transfert est lié à l'attachement des bactéries aux surfaces

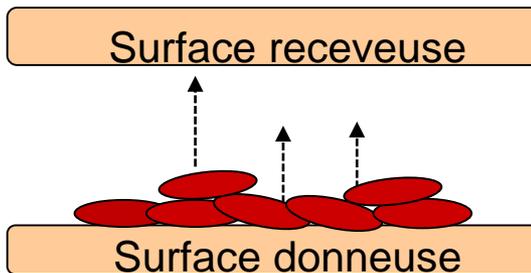
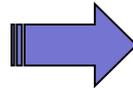
La capacité de transfert dépend de différents facteurs de 2 types :

Intrinsèques

Espèce

Exopolysaccharides / Biofilms

Structures extracellulaires
(adhésines)



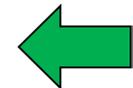
Environnementaux

Nature physico-chimique des surfaces (hydrophobicité, topographie)

Pression

Humidité

Temps de contact



D'après Perez-Rodriguez et al., 2008

- Plusieurs facteurs entrent en jeu en même temps (effets combinés)
- Des conclusions différentes selon les études (protocoles différents)

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



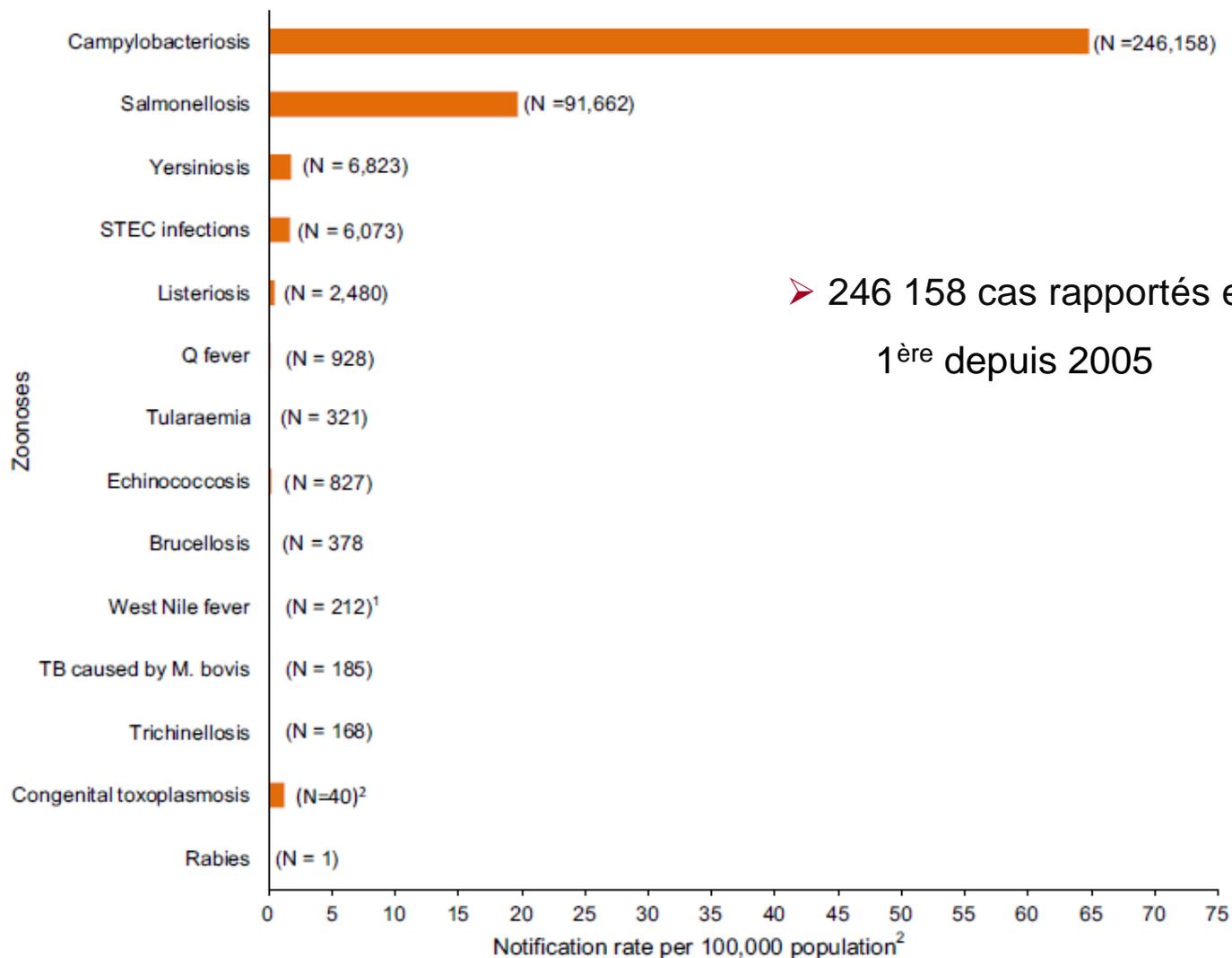
Campylobacter et contaminations croisées dans les cuisines

M.Guyard¹, O. Tresse², E. Houard¹, F. Jugiau², C. Courty¹, M.J. Laisney¹, M. Chemaly¹

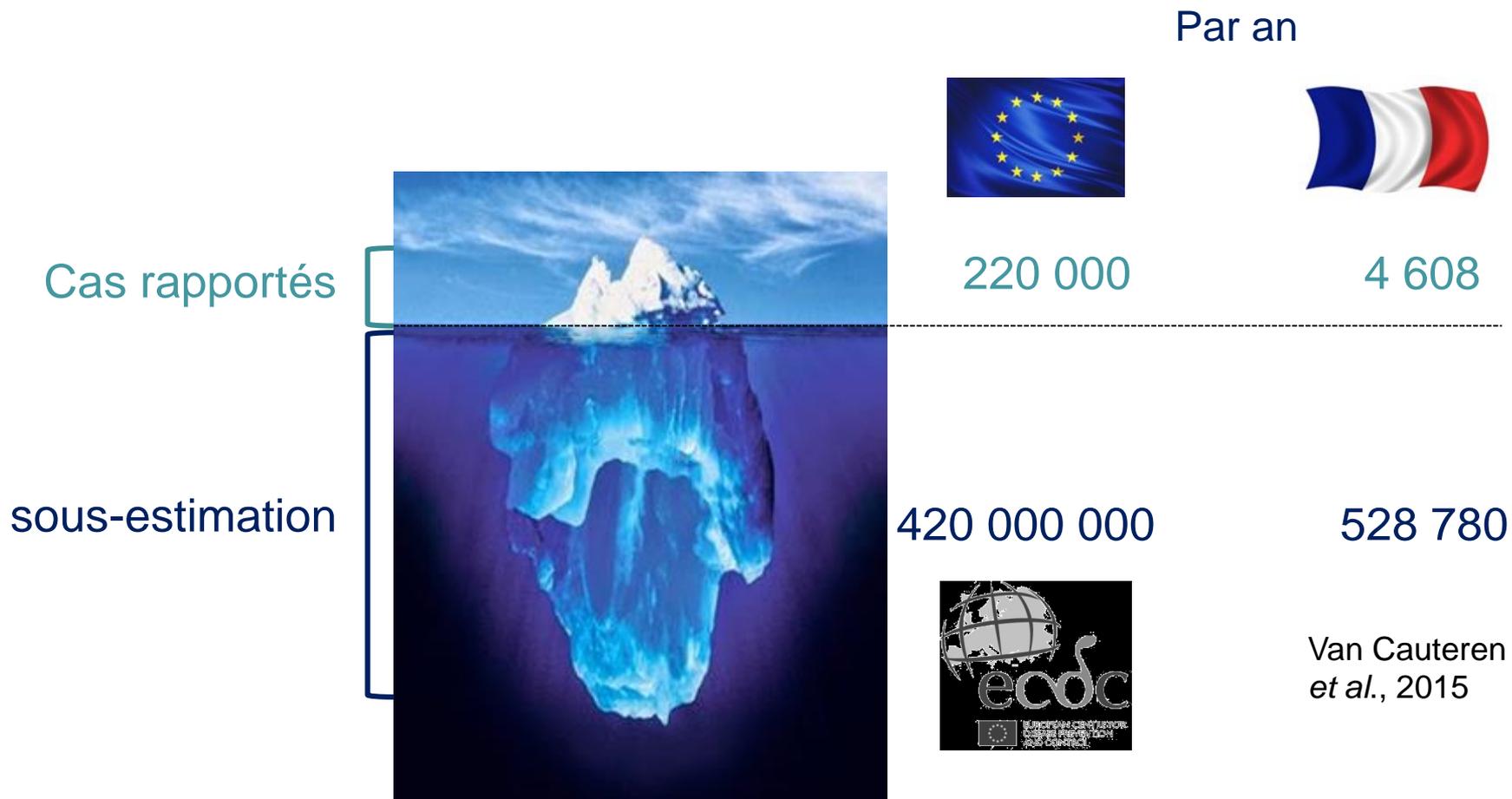
¹Anses - UHQPOP: Unité Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins

²Oniris, INRA – UMR 1014 SECALIM

Campylobactériose = 1^{ère} zoonose en Europe



Le nombre de Campylobactérioses est très sous-estimé



Coût humain et économique très élevé

La campylobactériose

- Causée par *Campylobacter*. Principalement par les espèces thermophiles *C. jejuni* and *C. coli*

Faible dose infectieuse : ≥ 500 UFC



- Symptômes apparaissent sous 2 à 10 jours et durent 2 à 5 jours
malaises, maux de tête, forte fièvre (40° C),
douleurs musculaires et/ou articulaires
douleur abdominale, diarrhée profuse, aqueuse ou muqueuse

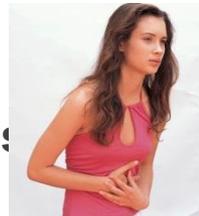
- Récupération
(semaines)



malaises et



fièvre



et douleur abdominale complète (excrétion 2 à 5

- Complications possibles :

- Syndrome de Guillain-Barré (0.1%)
- Bactériémie (1%)

Voies de transmissions des campylobactérioses

Réservoir volaille = 50 – 80 % des cas

(EFSA, 2011)

Viande de volaille = 20 – 30 % des cas



- Consommation de viande de volaille mal cuite



- Contaminations croisées dans les cuisines

Situation en France



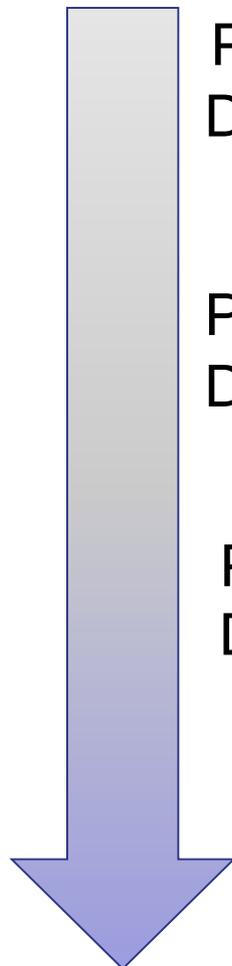
Elevages



Abattoirs



Distribution



Prévalence : 77%
Dénombrement : 8 log₁₀ UFC/g

Prévalence : 88%
Dénombrement : 2,4 log₁₀ UFC/g

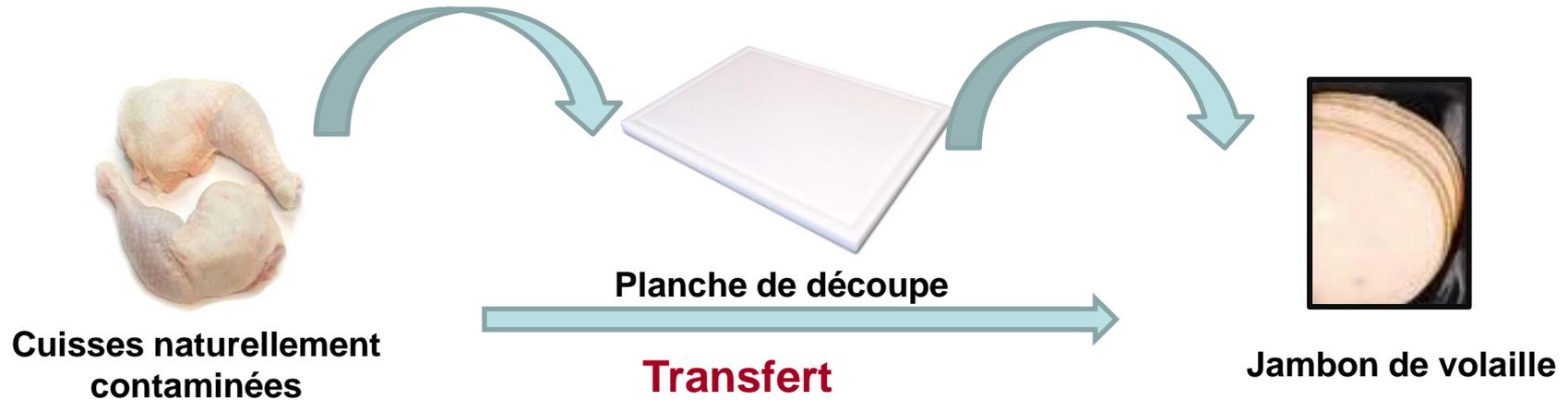
Prévalence : 76%
Dénombrement : 1,7 log₁₀ UFC/g

Transfert ??



Consommateurs

Objectifs de l'étude



- Quel est le % de transfert sur le produit final?
- Quel type d'isolat de *Campylobacter* le consommateur est-il susceptible de rencontrer ?

Guyard-Nicodème M., Tresse O., Houard E., Jugiau F., Courtilon C., El Manaa K, Laisney M.-J., M. Chemaly. 2013. Characterization of *Campylobacter* spp. Transferred from naturally contaminated chicken legs to cooked chicken slices via a domestic cutting board. International Journal of Food Microbiology. 164: 7-14

Méthodes

2 carrés de 25 cm² de peau de cuisses de poulet naturellement contaminées

Dépôt sur un morceau de planche à découper de 25 cm²

25 cm² de jambon de volaille

Sur la peau



7 min

Sur le jambon



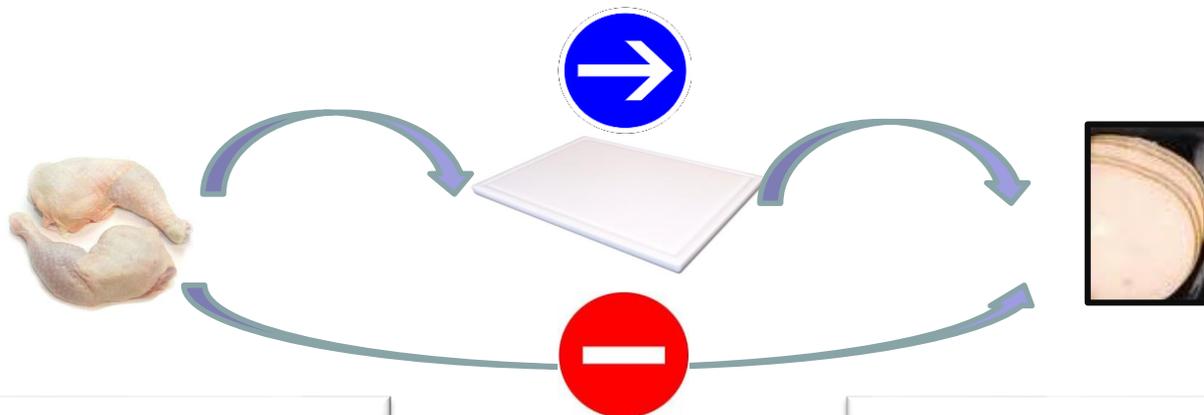
7 min

Transfert

Détection par enrichissement et dénombrement selon les parties 1 et 2 de la norme NF EN ISO 10272

Isolats collectés

Méthodes



Isolats sans transfert

Isolats après transfert

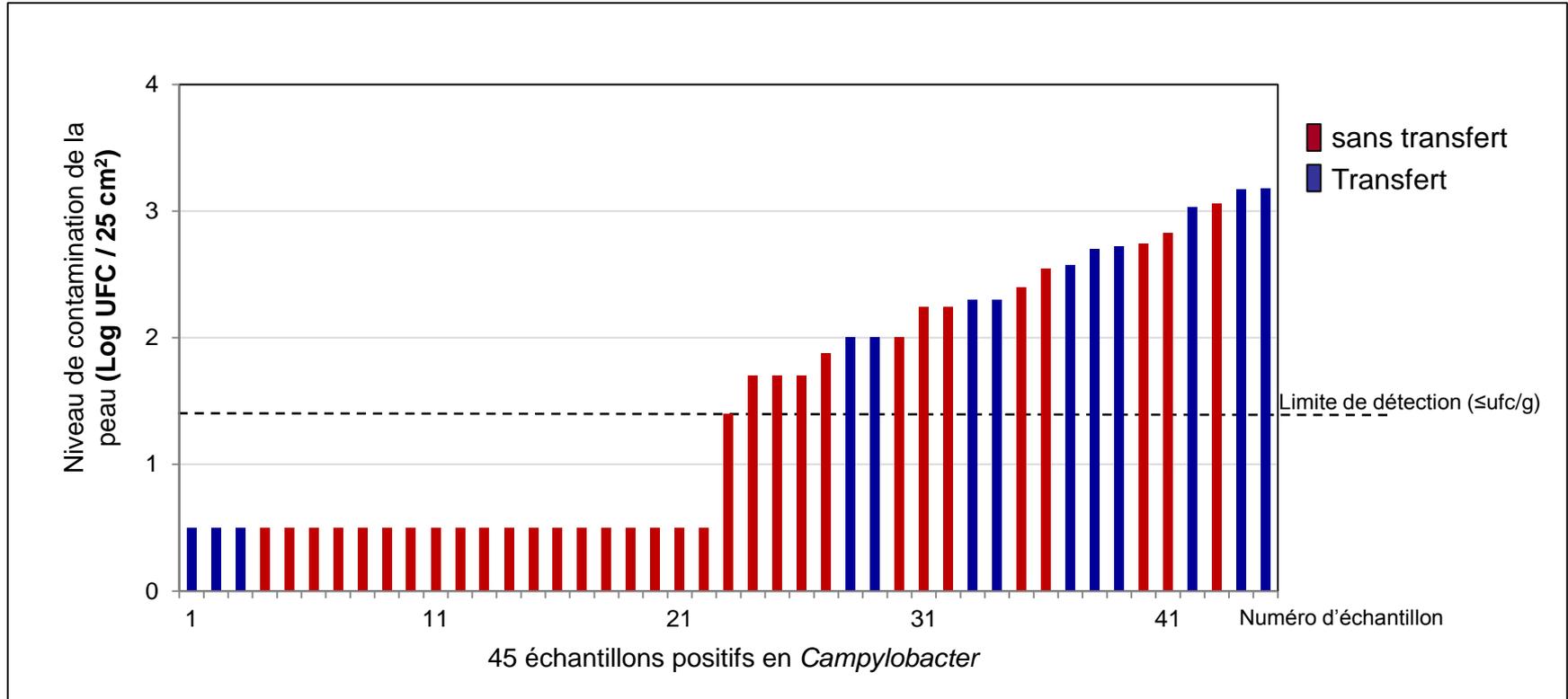
Caractérisation génétique (PCR et RFLP-PFGE)

Adhésion aux surfaces inertes
(BioFilm Ring Test[®])

Adhésion et invasion de cellules humaines Caco-2
(test de protection à la gentamicine)

Résultats des essais de transfert

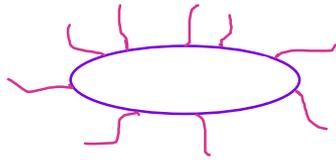
- 94 essais de transfert → 45 échantillons contaminés par *Campylobacter*
- 13 transferts / 45 → Transfert de *Campylobacter* dans 28,9 % des cas



- Le transfert a lieu même quand les cuisses de poulet sont faiblement contaminées (≤ 10 cfu/g)
- Le transfert n'est pas systématiquement observé avec des cuisses fortement contaminées

Caractérisation génétique : PFGE-RFLP

Principe de la technique : Macrorestriction suivie d'une ECP



1
Lyse des cellules
pour libérer l'ADN

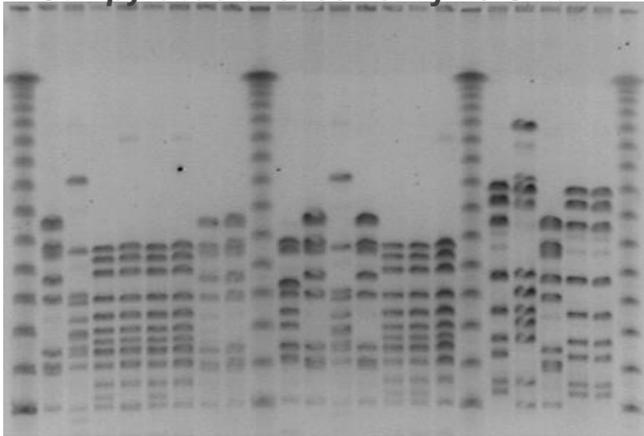


2
Utilisation d'enzymes
de restriction
pour fragmenter l'ADN

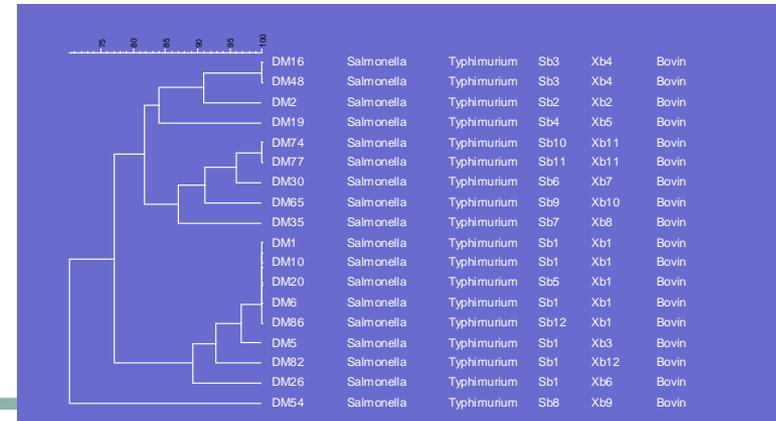


3
Analyse de la taille des fragments
par électrophorèse en champs pulsés

Macrorestriction d'ADN de
Campylobacter avec l'enzyme *SmaI*

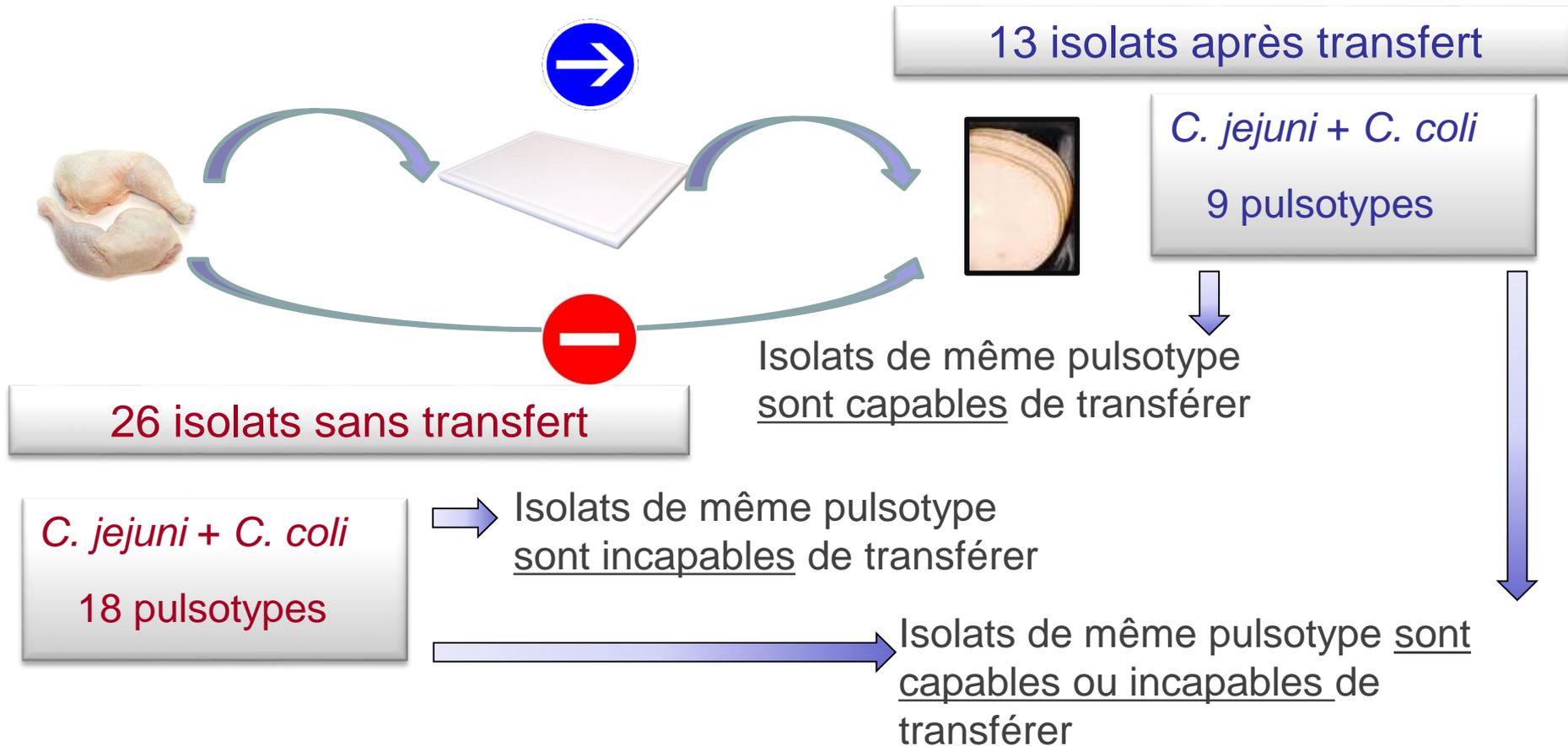


4
Analyse informatique des profils



Caractérisation génétique des isolats

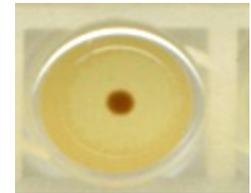
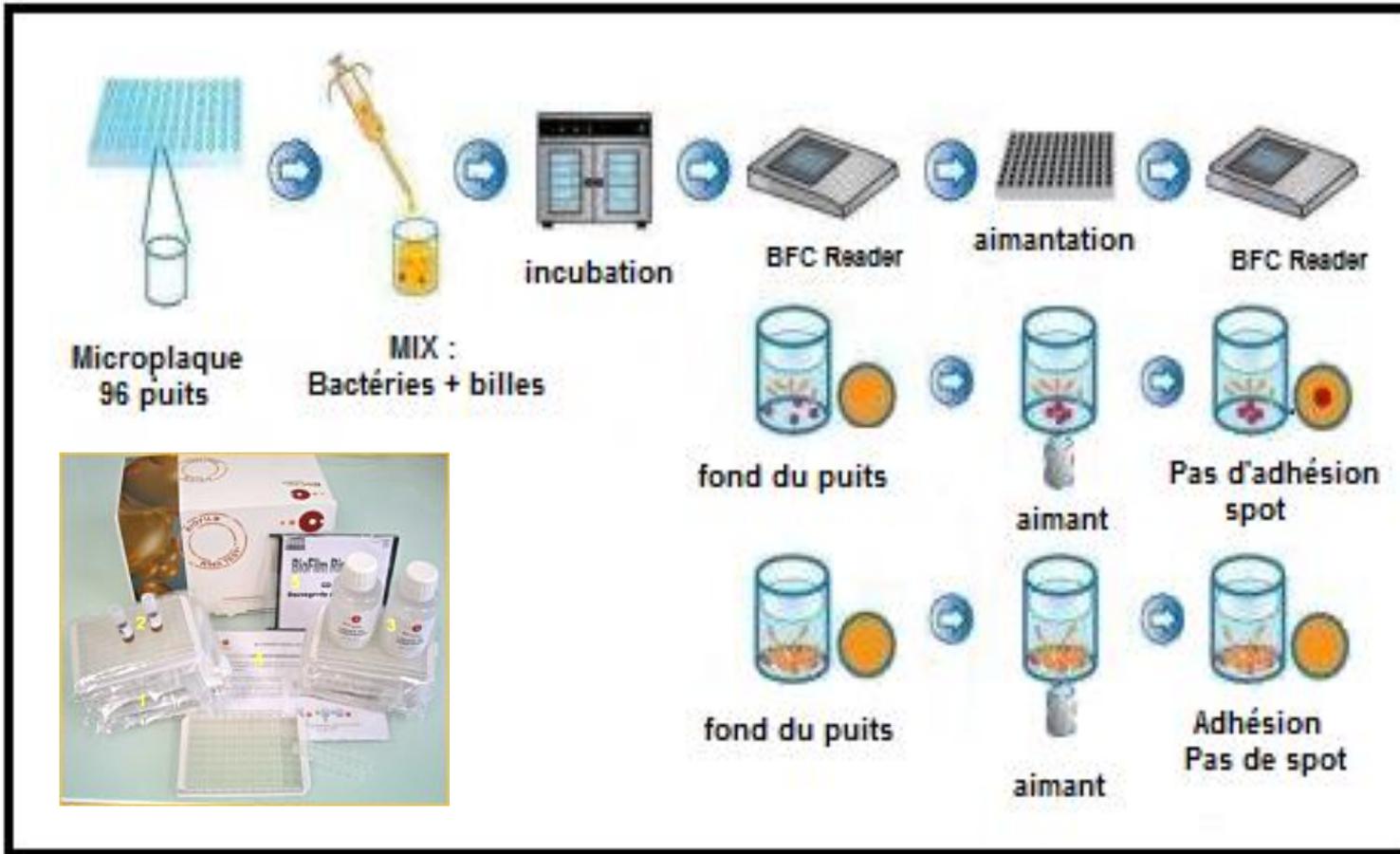
94 essais, 13 transferts \Rightarrow isolats collectés à chaque étape



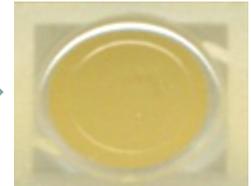
- *C. jejuni* et *C. coli* sont capables de transférer
- La capacité de transfert n'est pas corrélée aux génotypes

Adhésion aux surfaces inertes

Principe du BioFilm Ring Test®



BFI > 7



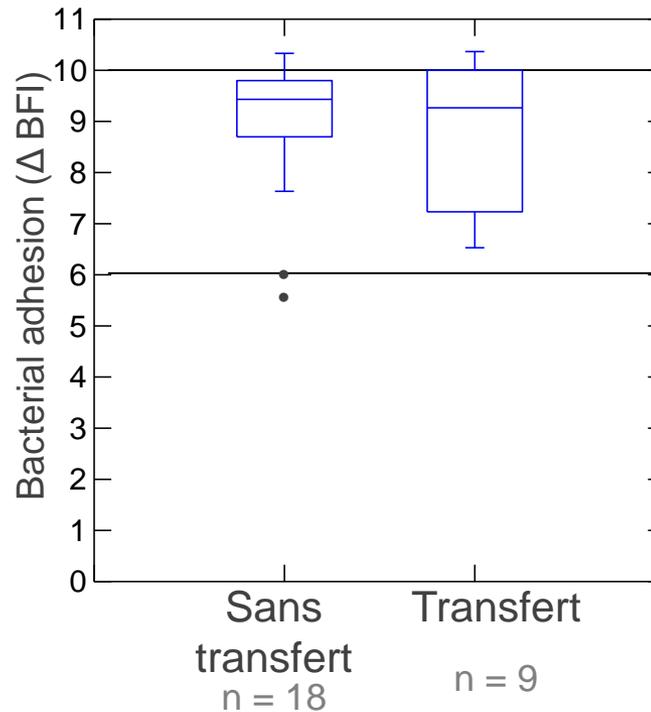
BFI ≤ 2



Calcul du $\Delta BFI = BFI_{\text{control}} - BFI_{\text{isolat}}$

+ ΔBFI est élevé + il y a adhésion

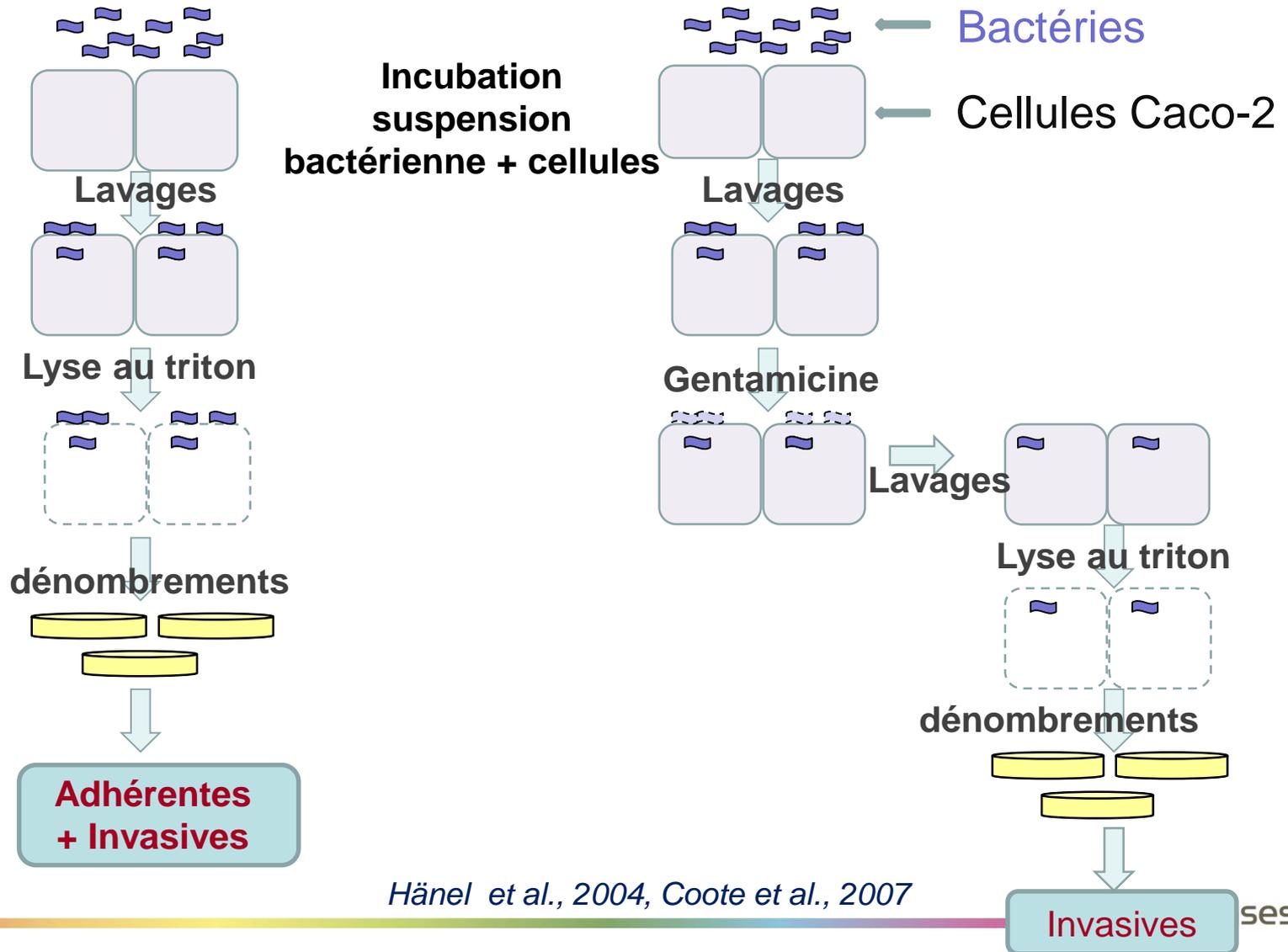
Adhésion aux surfaces inertes



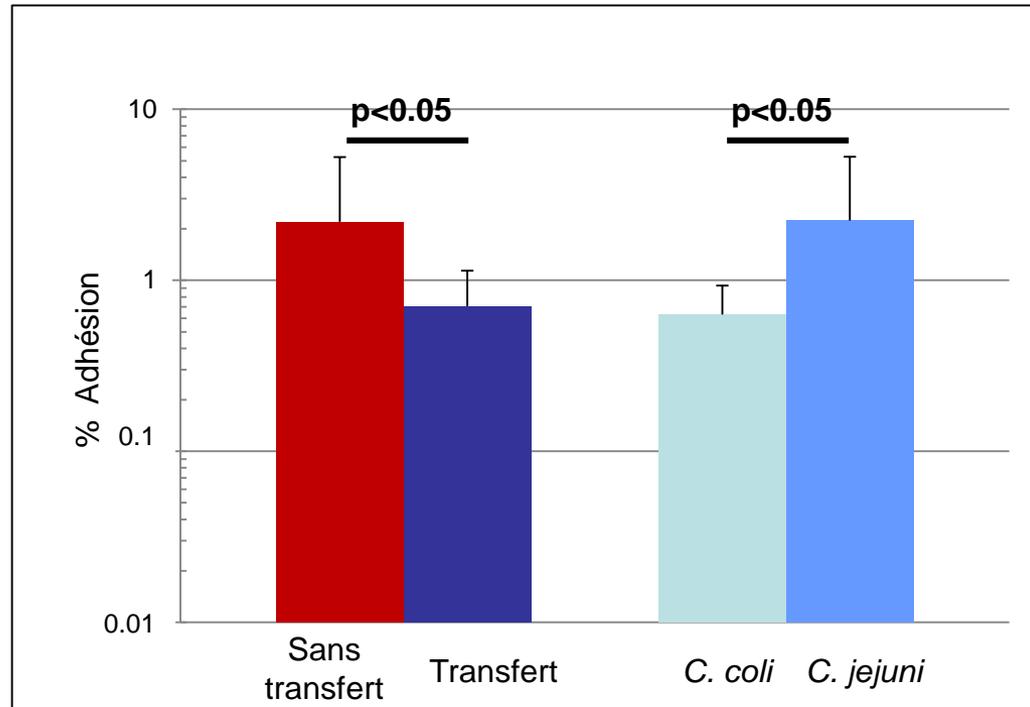
- Pas de différence statistique entre les isolats avec ou sans transfert ($p = 0,86$)
- Capacité d'adhésion moyenne ou forte aux surfaces inertes

Virulence *in vitro*

Principe du test adhésion/invasion sur cellules Caco-2

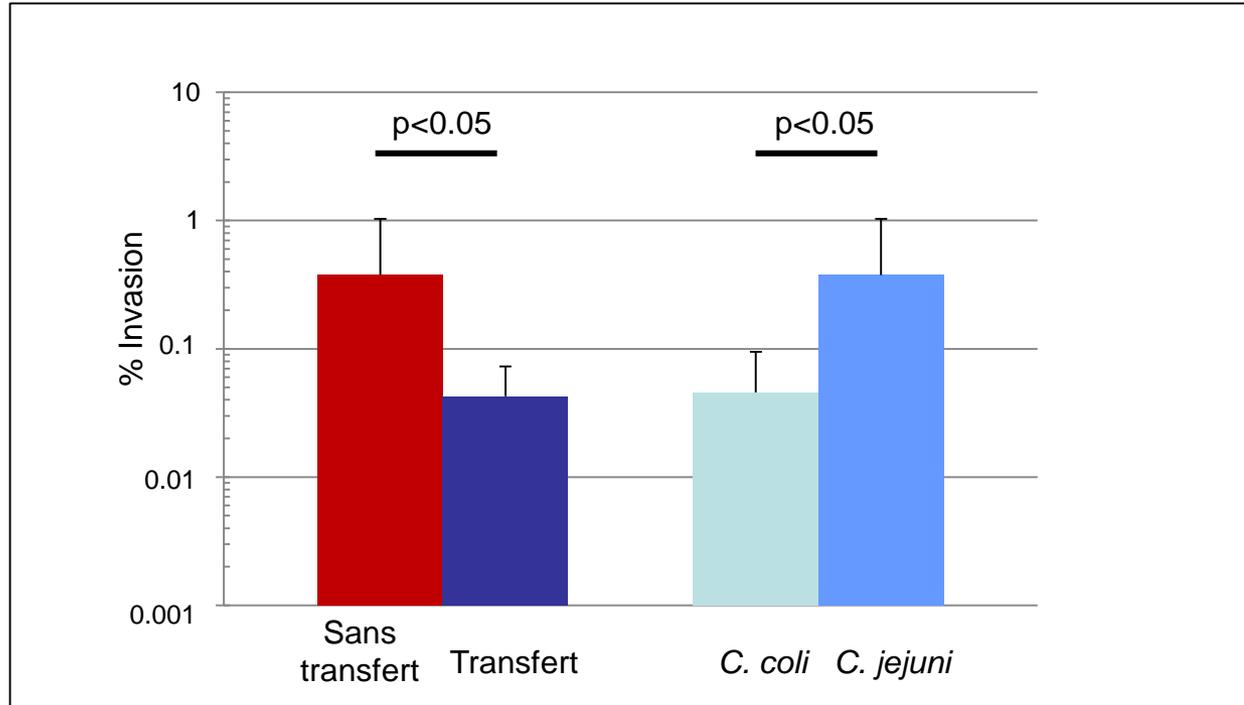


Adhésion aux cellules intestinales humaines



- Les isolats ont la capacité d'adhérer aux cellules intestinales humaines
- L'adhésion des isolats sans transfert est plus importante que celle des isolats avec transfert
- L'adhésion des isolats de *C. jejuni* est plus importante que celle des isolats de *C. coli*

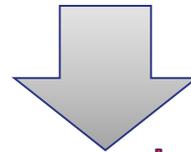
Invasion des cellules humaines intestinales



- Les isolats ont la capacité d'envahir les cellules humaines
- Les isolats sans transfert sont plus invasifs que les isolats avec transfert
- Les isolats de *C. jejuni* sont plus invasifs que ceux de *C. coli*

Conclusions

- Le transfert de *Campylobacter* via une planche à découper est observé dans 30 % des cas
- Le transfert peut avoir lieu même à partir de viande faiblement contaminée
- *C. jejuni* et *C. coli* sont capables de transférer
- Il existe une grande variabilité génétique dans les isolats capables de transférer
- Les isolats de volailles présentent une capacité d'adhésion aux surfaces inertes
- Tous les isolats testés présentent la capacité d'adhérer et d'envahir les cellules intestinales humaines



Importance des contaminations croisées dans les cuisines des consommateurs

Nouvelles données pour les études de facteurs de risques

Merci !!



Tous les membres de l'Unité
HQPAP

+ UMR 1014 SECALIM – ONIRIS, INRA.

Merci de votre attention et...



Evitez les contaminations croisées !!