

2021

Appréciation des risques alimentaires liés aux campylobacters dans la filière volaille



Des études menées par l'UMR SECALIM visant à comprendre le comportement bactérien et d'évaluer le risque sanitaire



©CDC



Campylobacter jejuni

C. jejuni est le modèle de bactérie pathogène étudié par l'UMR SECALIM afin de comprendre le comportement bactérien et d'évaluer le risque sanitaire.

Campylobacter jejuni, bactérie pathogène alimentaire, est la principale cause d'entérite dans le monde chez l'homme. Dans les aliments, la présence de Campylobacter reste élevée dans la viande de poulet de chair et il est considéré comme la source la plus importante de campylobactériose humaine;

Depuis 2005, Campylobacter est la principale cause d'entérite dans le monde chez l'homme. Bien qu'il soit largement sous-estimé, le nombre de cas confirmés de campylobactériose était de 246 158 en 2017 avec un taux de notification dans l'UE de 64,8 pour 100 000 habitants. L'infection par C. jejuni peut entraîner des séquelles chroniques, comme le syndrome de Guillain-Barré (SGB), caractérisé par les dommages du système nerveux périphérique conduisant à une paralysie neuromusculaire réversible. Les principaux

réservoirs de C. jejuni sont des espèces aviaires. Dans les aliments, la présence de Campylobacter reste élevée dans la viande de poulet de chair et il est considéré comme la source la plus importante de campylobactériose humaine. En 2017, 37,4% des 13 445 échantillons de viande de poulet fraîche se sont avérés positifs à Campylobacter. C. jejuni est le modèle de bactérie pathogène de SECALIM étudié dans le cadre de la thématique : Comprendre le comportement bactérien.

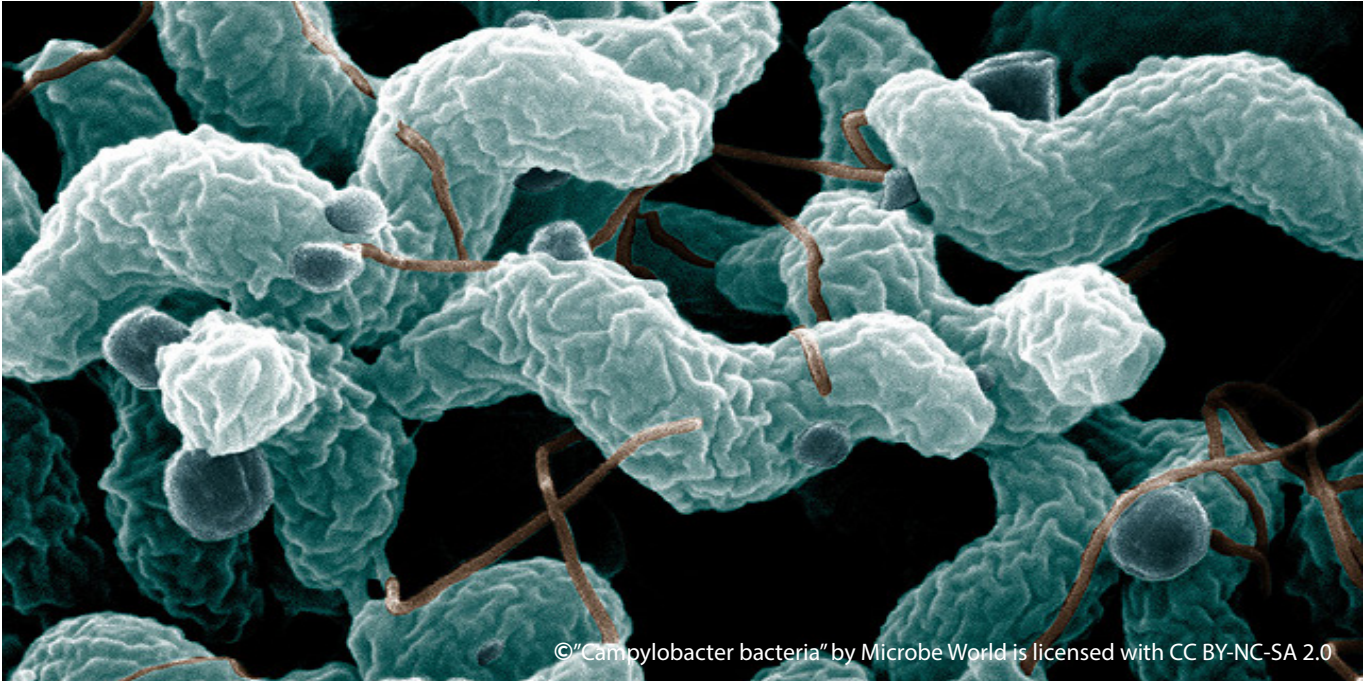
En savoir plus :

<https://www6.angers-nantes.inrae.fr/secalim/Thematiques-de-Recherche/Comprendre-le-comportement-bacterien>

Personne référente à contacter :
Nabila Haddad

Objectif de Performance et santé du consommateur :

Application à *Campylobacter* dans la filière volaille



Une évaluation de l'exposition du consommateur qui tient compte de la variabilité des souches et de l'histoire cellulaire

L'évaluation des risques sanitaires liés à l'alimentation est une des expertises de l'UMR SECALIM. Ses compétences en microbiologie prévisionnelle sont utilisées pour quantifier la croissance et l'inactivation des micro-organismes à l'aide de modèles mathématiques et évaluer les risques microbiologiques associés aux bactéries pathogènes dans les aliments. *Campylobacter jejuni* est l'un des principaux agents pathogènes d'origine alimentaire et la viande de poulet de chair est considérée comme la principale source de cas de campylobactériose chez l'homme.

Le but de cette étude était d'évaluer l'effet des étapes de chauffage et de réfrigération appliquées au cours du procédé d'abattage des volailles, sur la capacité de *C. jejuni* à

survivre ensuite sur le produit fini dans le réfrigérateur du consommateur.

L'objectif était ainsi de prédire le niveau de contamination de *C. jejuni* avant la préparation et la consommation au domicile en tenant compte de cette histoire cellulaire, puis de tester la conformité du niveau prédit par rapport à une valeur à ne pas dépasser en fin de fabrication, appelée objectif de performance (OP), dont la valeur théorique est déterminée par un groupe d'experts internationaux. Des filets de poulet inoculés avec trois souches de *C. jejuni* ont été chauffés, réfrigérés puis conditionnés sous atmosphère protectrice et stockés à 6 ° C jusqu'à la Date Limite de Consommation. Les résultats ont montré que l'histoire cellulaire liée à l'application de ces différentes étapes de procédé, conditionnait et influençait le comportement des bactéries différemment selon les souches. Les prévisions tenant compte de cette variabilité ont montré que la viande de poulet prête à être cuite était conforme à l'OP fixé pour la viande avant son arrivée chez le consommateur.

Cette étude ouvre la voie à une évaluation des risques associés à *C. jejuni* dans la viande de volaille qui tient compte de l'histoire cellulaire et plus particulièrement des étapes du procédé, susceptibles d'influencer le comportement du pathogène au domicile du consommateur.

Partenaires :

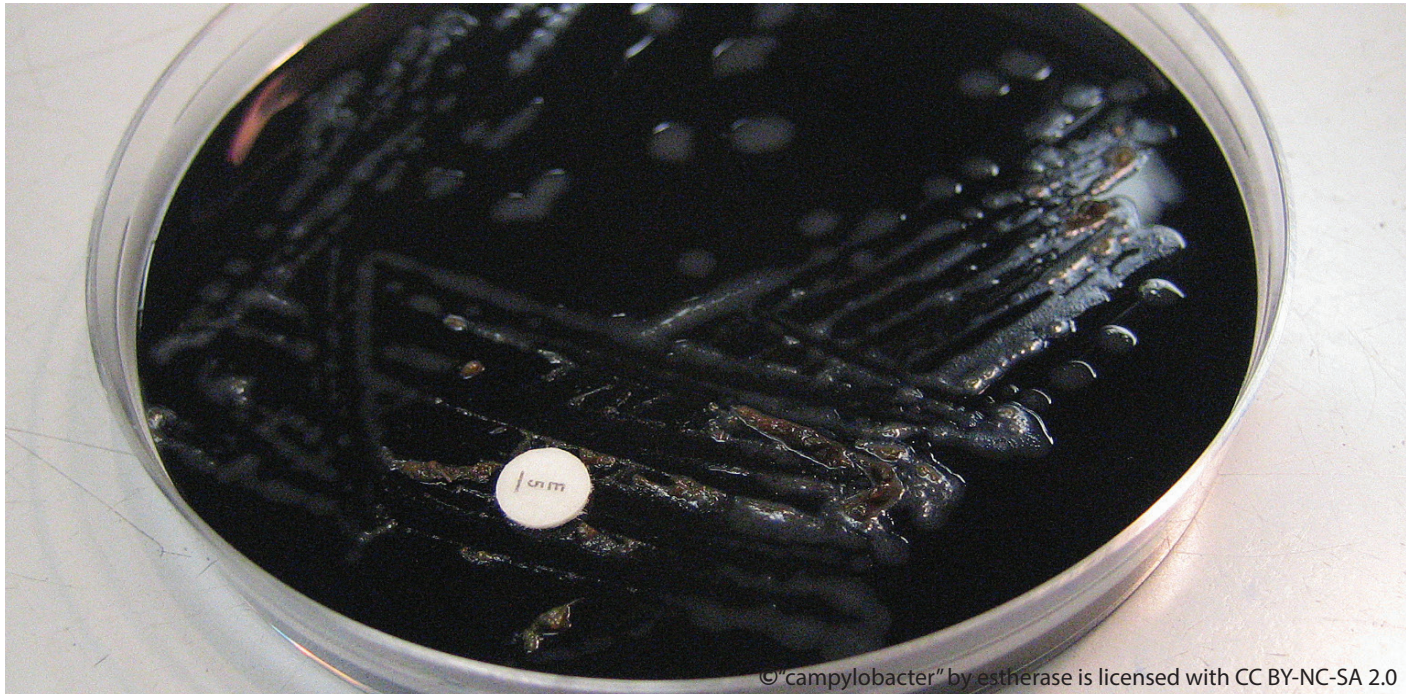
Cette étude a été réalisée par l'UMR INRAE-Oniris SECALIM dans le cadre du projet BIOMICS porté par le Pôle Agronomique Ouest récemment intégré à Valorial, avec le soutien financier des régions Bretagne et Pays de la Loire.

Contact : Jeanne-Marie Membré

Publication associée :

Duqué, B., J. Canon, N. Haddad, S. Guillou and J.-M. Membré 2021. Quantitative approach to assess the compliance to a performance objective (PO) of *Campylobacter jejuni* in poultry meat in France. *International Journal of Food Microbiology* 336: 108916. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108916.

Adaptation moléculaire de Campylobacter aux stress



© "campylobacter" by estherase is licensed with CC BY-NC-SA 2.0

Application aux stress rencontrés au cours du procédé d'abattage

La campylobactériose est une zoonose c'est à dire une maladie transmise aux hommes par des animaux ou des produits animaux contaminés par une bactérie pathogène, *Campylobacter*. La viande de poulet est considérée comme le principal aliment responsable des campylobactérioses. La maîtrise de ce pathogène est un enjeu de santé publique et peut conduire à des mesures envisagées depuis l'élevage jusqu'au procédé de transformation des produits avicoles. Une meilleure compréhension du comportement de cette bactérie est nécessaire pour identifier des moyens de maîtrise. Dans cette étude, les chercheurs de l'unité SECALIM ont examiné l'influence des étapes du procédé d'abattage sur la réponse moléculaire de *Campylobacter jejuni*. Ces étapes associées à des

trempages dans l'eau chaude (échaudage) et à des réfrigérations accélérées (ressuage), constituent des stress pour les bactéries susceptibles d'induire des mécanismes d'adaptation qui peuvent résulter de modifications dans l'expression des gènes bactériens. L'expression d'une sélection de 44 gènes de 3 souches de *C. jejuni* a ainsi été quantifiée par RT-qPCR, après l'application de stress inspirés du processus d'abattage des volailles. Les principaux résultats indiquent que l'expression de 26 gènes variait en fonction des stress thermiques successifs appliqués, selon trois profils d'expression différents en fonction des souches et des conditions de stress. Parmi ces gènes, certains surexprimés correspondaient principalement à des gènes impliqués dans la réponse au choc thermique, tandis que des gènes sous-exprimés appartenaient aux métabolismes des lipides et des acides aminés. Quatre gènes dont la surexpression était similaire pour les trois souches, pourraient représenter des indicateurs de la réponse au stress thermique à l'échelle de l'espèce. Les avancées dans la compréhension moléculaire de la réponse

au stress des bactéries pathogènes, comme *Campylobacter*, en conditions réelles de procédé permettront d'identifier les leviers technologiques afin de mieux maîtriser le risque microbien et diminuer ainsi l'incidence des campylobactérioses.

Partenaires :

Cette étude a été menée par l'unité SECALIM, en collaboration avec le Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne, l'Université Bretagne Ouest, ADRIA Quimper et des industriels et le Pôle Agronomique Ouest

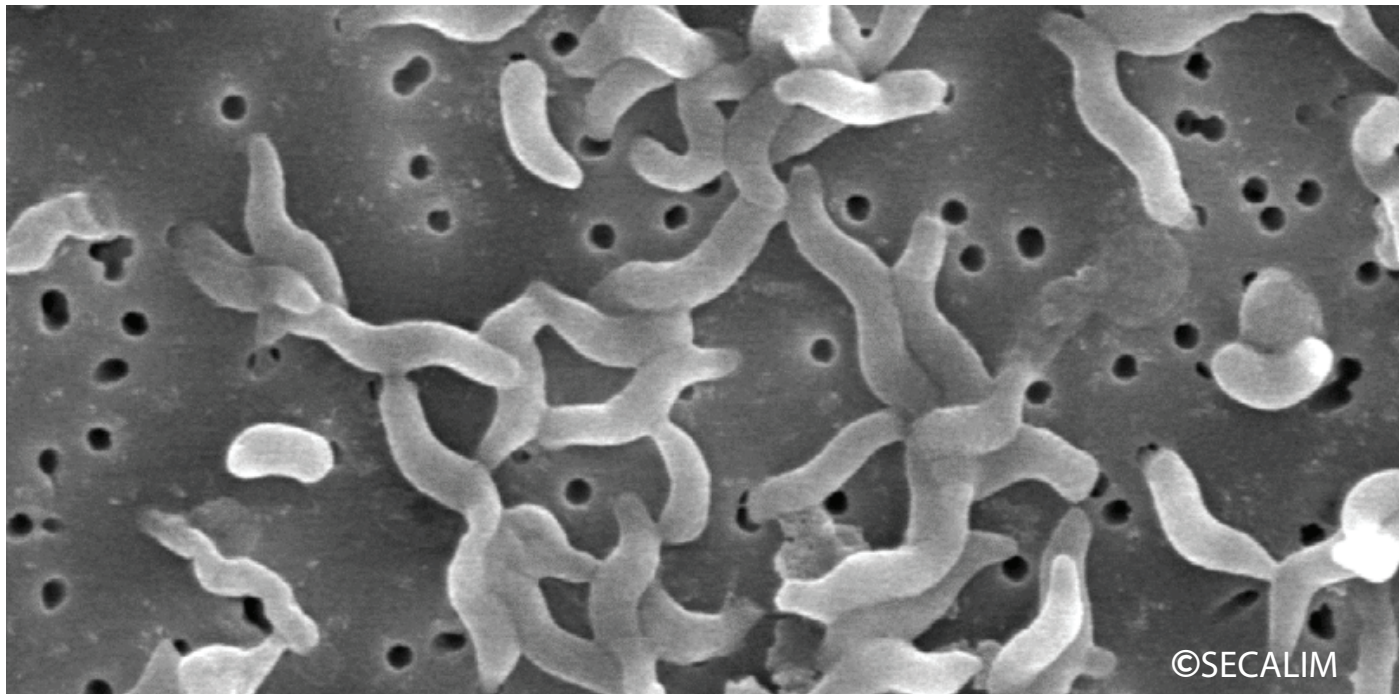
Financement :

Projet inter-régional BIOMICS financé par les Régions Bretagne et Pays de la Loire

Contact : Nabila Haddad

Publication associée : Duqué B, Rezé S, Rossero A, Membre J-M, Guillou S, Haddad N. Quantification of *Campylobacter jejuni* gene expression after successive stresses mimicking poultry slaughtering steps. *Food Microbiol.* 2021 doi: 10.1016/j.fm.2021.103795

Et si Campylobacter nous était compté...



Quantification de la contamination en Campylobacter des carcasses de poulet en France

Campylobacter est une bactérie pathogène qui est la première cause de gastro-entérite d'origine alimentaire. La viande de poulet représente le principal vecteur de contamination de Campylobacter. Depuis 2017, les industriels européens de la filière volaille doivent se soumettre à de nouveaux critères microbiologiques* : les carcasses de poulet doivent présenter une contamination inférieure à 1000 UFC (Unité Formant Colonie) de Campylobacter par gramme. Dans ce contexte il est important de connaître précisément la contamination en Campylobacter sur les carcasses de poulet.

L'objectif de cette étude était de quantifier le niveau de contamination de carcasses

de poulet en sortie de ressuage (étape de refroidissement) dans plusieurs abattoirs français, en utilisant des outils statistiques innovants.

Cinq cent trente données comprenant des données censurées (concentration inférieure à un seuil de 10 UFC /g) ont été analysées, et plusieurs facteurs ont été considérés : la méthode d'élevage des poulets (standard versus certifiée), le mois et la localisation de l'échantillonnage (peau de cou versus peau de cuisse).

La localisation de l'échantillonnage ainsi que la période se sont avérées avoir un effet significatif sur le niveau de contamination de Campylobacter. La contamination était plus élevée sur la peau de cou que sur la peau de cuisse et pour la période de juin à décembre. En revanche, aucune conclusion n'a pu être apportée concernant l'influence du mode d'élevage.

La probabilité de dépasser le critère réglementaire de 1000 UFC/g (soit 3 log₁₀ UFC/g) a été estimée à 35.3% et 12.6%, respectivement pour le cou et la cuisse.

Cette quantification précise doit permettre aux industriels d'adapter leurs procédé et

pratiques hygiéniques, afin de répondre au mieux aux exigences réglementaires.

* (RÈGLEMENT (UE) 2017/1495)

Partenaires :

Cette étude a été menée par l'unité SECALIM, en collaboration avec le Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne, l'Université Bretagne Ouest, ADRIA Quimper et des industriels et le Pôle Agronomique Ouest

Financement :

Projet inter-régional BIOMICS financé par les Régions Bretagne et Pays de la Loire

Contact : Jeanne-Marie Membré

Publication associée :

Duqué, B., Daviaud, S., Guillou, S., Haddad, N., & Membré, J.-M. 2016. Quantification of Campylobacter jejuni contamination on chicken carcasses in France. Food Research International. doi: 10.1016/j.foodres.2017.12.017

La bactérie *Campylobacter* est fragilisée après un choc thermique chaud



Sa survie au cours du stockage réfrigéré dépend des stress liés à l'abattage de volailles

A l'échelle mondiale, les infections à *Campylobacter* sont la principale cause d'entérite bactérienne humaine. La viande de poulet de chair est considérée comme la source de contamination la plus fréquente. Afin de réduire le niveau de contamination par *Campylobacter*, ce travail étudie l'influence des conditions de stress rencontrées pendant l'abattage des volailles sur l'inactivation ultérieure au froid de *Campylobacter jejuni* dans les produits emballés sous atmosphère protectrice.

Reproduisant les conditions rencontrées au cours de l'abattage, trois souches de *C. jejuni* ont été successivement soumises à un stress chaud assimilé à l'échaudage (46, 50 ou 54 °C pendant 4 min) et un stress froid assimilé au ressuyage (-4 ou 3 °C

pendant 2h) par immersion dans des bains thermostatés. Les bactéries ont ensuite été placées à 6 °C pendant sept jours dans l'une des deux atmosphères protectrices les plus utilisées pour le conditionnement des produits pré-emballés de volaille (70% O₂ / 30% CO₂ ou 50% CO₂ / 50% N₂).

L'inactivation de *C. jejuni* au cours du stockage réfrigéré dépend de manière significative de la température appliquée au cours du stress chaud et de l'atmosphère protectrice utilisée au cours du stockage. Elle est maximale dans l'atmosphère enrichie en oxygène lorsque *C. jejuni* est soumis préalablement à la température de 54 °C. L'inactivation varie également en fonction de la souche bactérienne.

Ces résultats montrent que les stress appliqués successivement influencent le comportement futur de la bactérie. Ainsi, les stratégies visant à contrôler le niveau de contamination par *C. jejuni* des produits prêts à cuire devraient, outre les conditions de conservation au cours du stockage réfrigéré, intégrer les conditions thermiques

rencontrées par les bactéries au cours du procédé de transformation des volailles.

Partenaires :

Cette étude a été menée par l'unité SECALIM, en collaboration avec le Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne, l'Université Bretagne Ouest, ADRIA Quimper et des industriels et le Pôle Agronomique Ouest

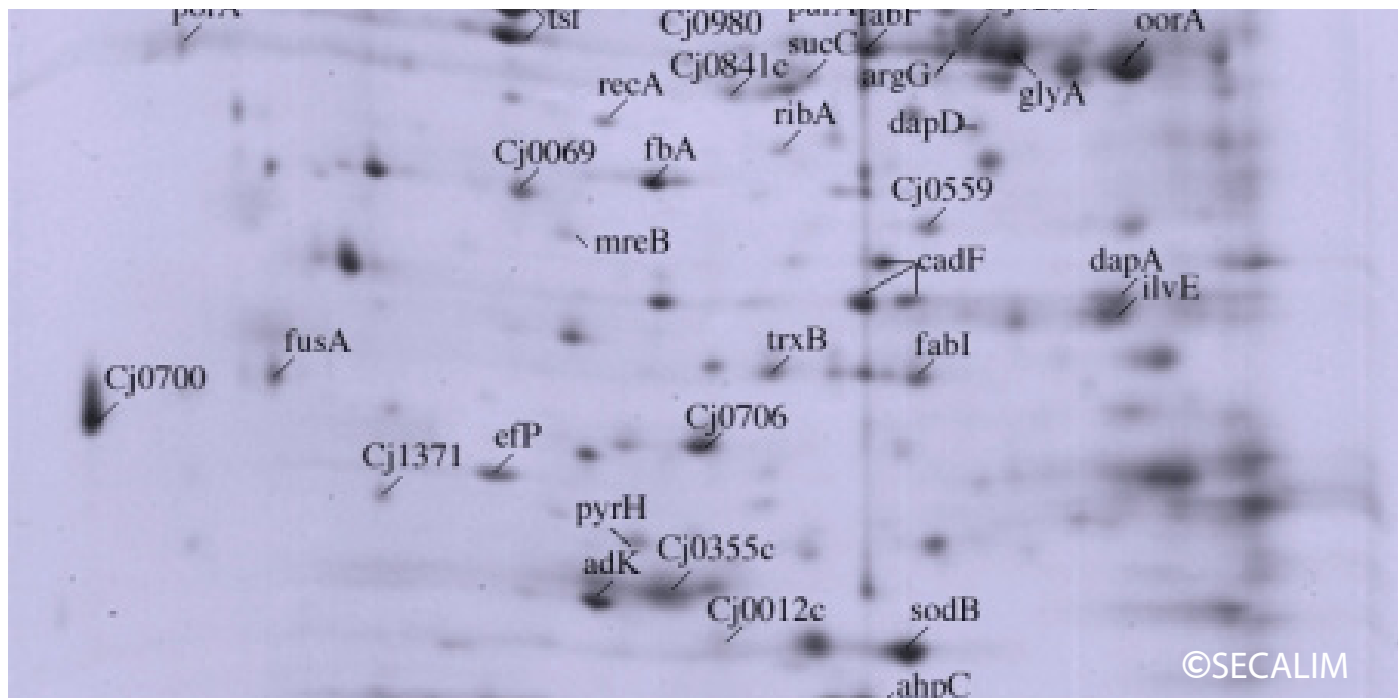
Financement :

Projet inter-régional BIOMICS financé par les Régions Bretagne et Pays de la Loire

Contact : Sandrine Guillou

Publication associée : Duqué, B., N. Haddad, A. Rossero, J.-M. Membré and S. Guillou 2019. Influence of cell history on the subsequent inactivation of *Campylobacter jejuni* during cold storage under modified atmosphere. *Food Microbiology* 84: 103263. doi: 10.1016/j.fm.2019.103263

Infections à *Campylobacter jejuni*- Gouvernance de la transition de la phase de croissance



Une comparaison des protéomes de *C. jejuni* en phase exponentielle et en phase stationnaire pour comprendre son mécanisme d'adaptation au stress

Campylobacter *jejuni* est l'agent pathogène le plus répandu parmi les infections bactériennes d'origine alimentaire en Europe, avec plus de 200 000 cas recensés pour un coût estimé à 2,4 milliards d'euros par an. Cette bactérie se retrouve majoritairement sur la viande de volaille au cours de l'éviscération. Elle a la capacité d'activer des mécanismes qui lui permet de résister et donc de persister tout au long de la mise en œuvre des procédés agroalimentaires. Pour développer des stratégies de prévention, il est utile de mieux connaître ce pathogène et ses mécanismes d'adaptation. Une des étapes clef associée à l'adaptation des bactéries est le passage de la phase exponentielle

de croissance à la phase stationnaire. Des mécanismes moléculaires conduisant cette transition chez de nombreuses bactéries ne sont pas présents chez *C. jejuni*.

En comparant le protéome (technique utilisée 2D-SDS-PAGE) et l'expression de gènes (technique utilisée qRT PCR) en phase exponentielle et en phase stationnaire de croissance de *C. jejuni*, un facteur de régulation nommé CosR, surexprimé en phase stationnaire, a été mis en évidence. L'augmentation transitoire du nombre de transcrits de CosR lors du passage de la phase exponentielle à la phase stationnaire pourrait être à l'origine d'une autorégulation négative du gène codant ce régulateur. Il a été démontré dans cette étude que la protéine CosR se fixait sur sa propre région promotrice, confirmant cette hypothèse. Des analyses bio-informatiques menées sur le génome complet de plusieurs souches de *C. jejuni* ont permis d'affiner la séquence consensus de liaison à l'ADN de cette protéine dans la région promotrice de ces gènes. Ces travaux consistent maintenant à déterminer le régulon de CosR afin de comprendre les

voies métaboliques contrôlées par cette protéine en phase stationnaire.

Partenaires :

Ce travail a été réalisé en collaboration avec l'University of Chemistry and Technology de Prague dans le cadre du réseau Européen Cost BacFoodNet et du projet Hubert Curien SARPAC.

Contact : Odile Tresse & Nabila Haddad

Publication associée :

Turonova, H., Haddad, N., Hernould, M., Chevret, D., Pazlarova, J., & Tresse, O. (2017). Profiling of *Campylobacter jejuni* Proteome in Exponential and Stationary Phase of Growth. *Frontiers in Microbiology*, 8, 12. doi: 0.3389/fmicb.2017.00913

Les volailles sous l'aile d



Campylobacter ne manque pas d'air

L'emballage sous atmosphère protectrice est un procédé couramment utilisé pour conserver les denrées périssables. La compréhension du comportement de *Campylobacter* au contact de l'oxygène permettra d'affiner la composition de ces atmosphères. Aussi, le génome d'une souche de *Campylobacter* particulièrement résistante à l'oxygène a été séquencé, afin d'identifier les gènes qui lui confèrent cette particularité. Il est étudié aussi sous l'angle de sa capacité à adhérer aux surfaces inertes (planches à découper, lames de couteau) et à former des biofilms.

Publication associée :

Bronnec, V., Turoňová, H., Bouju, A., Cruveiller, S., Rodrigues, R., Demnerova, K., Tresse, O., Haddad, N., Zagorec, M. 2016. Adhesion, Biofilm Formation, and Genomic Features of *Campylobacter jejuni* Bf, an Atypical Strain Able to Grow under Aerobic Conditions. *Frontiers in Microbiology* 7:1002. doi: 10.3389/fmicb.2016.01002

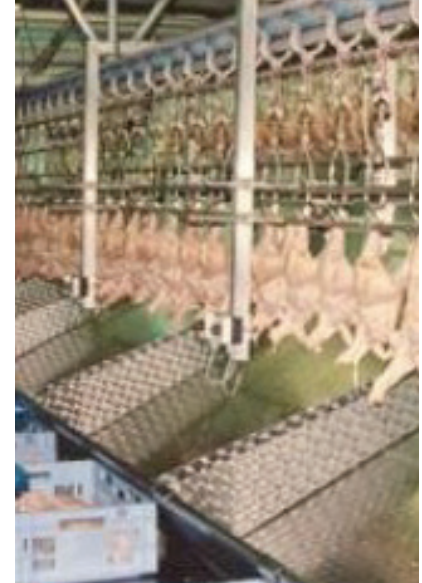


Un poulet hébergeant moins de *Campylobacter*

Une souche d'une bactérie lactique *Lactobacillus salivarius* a démontré au laboratoire son activité probiotique et anti-*Campylobacter*. Désormais il faut déterminer si cette souche, apportée dans l'alimentation des volailles en conditions expérimentales puis en situation d'élevage, défavoriserait l'implantation de *Campylobacter* dans leur tube digestif.

Publication associée :

Saint-Cyr, M.J., Haddad, N., Taminiau, B., Poezevara, T., Quesne, S., Amelot, M., Daube, G., Chemaly, M., Dousset, X., Guyard-Nicodème, M. 2017. Use of the potential probiotic strain *Lactobacillus salivarius* SMXD51 to control *Campylobacter jejuni* in broilers. *International Journal of Food Microbiology* 247:9-17. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.003.



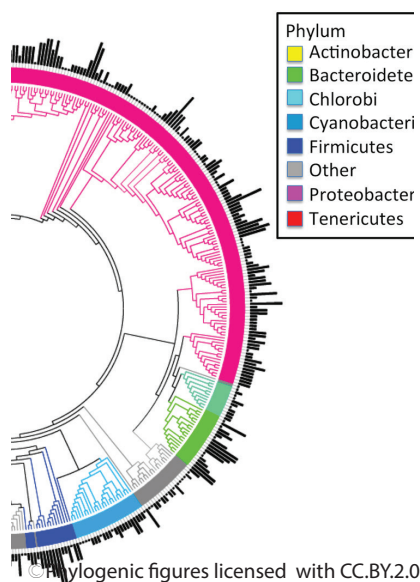
Les services officiels ont l'œil sur l'abattoir

L'inspection sanitaire intègre des missions de maîtrise de la sécurité et de la qualité des viandes, de surveillance de la santé et de la bien-être animales motivant en cas de non-conformité un retrait de la chaîne alimentaire. Selon un processus d'analyse scientifique des risques, une définition des 4 tâches associées, leur moment, les modalités et indicateurs de leur réalisation ont été construits et sont en cours de test à l'échelle nationale.

Publication associée :

Salines, M., V. Allain, C. Magras and S. Le Bouquin 2018. Rethinking inspection in slaughterhouses: Opportunities and challenges arising from a shared risk management system in poultry slaughterhouses. *Food Control* 93: 48-55. doi: 10.1016/j.foodcont.2018.03.022.

e la sécurité des aliments



Campylobacter et ses co-locataires

Campylobacter n'est pas la seule bactérie présente sur la viande. La biodiversité de l'écosystème microbien de la viande de poulet a été caractérisée par des techniques de séquençage d'ADNr 16S. A l'aide d'une viande contaminée modèle, les facteurs qui influencent les équilibres entre les dangers bactériens, les bactéries d'altération et la flore positive seront identifiés et quantifiés.

Publication associée :

Rouger, A., B. Remenant, H. Prévost and M. Zagorec 2017. A method to isolate bacterial communities and characterize ecosystems from food products: Validation and utilization in as a reproducible chicken meat model. *International Journal of Food Microbiology* 247: 38-47. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.04.028.

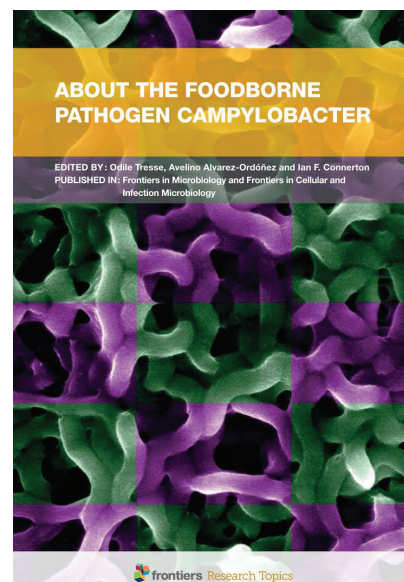


Les bactéries sous pression !

L'effet destructeur des Hautes Pressions, un traitement alternatif de conservation (conservateurs, atmosphères protectrices, chaleur), a été quantifié, modélisé puis intégré dans le calcul de la durée de vie de saucisses de volaille. Une approche décisionnelle comprenant les critères des trois dimensions : sécurité, hygiène et caractéristiques sensorielles, a permis de prolonger la durée de vie des saucisses de volailles ainsi traitées de sept jours en toute sécurité.

Publication associée :

Guillou, S., Lerasle, M., Simonin, H., Anthoine, V., Cheret, R., Federighi, M., Membre, J.-M. 2016. Multi-criteria framework as an innovative tradeoff approach to determine the shelf-life of high pressure-treated poultry. *International Journal of Food Microbiology*, 233: 60-72. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.027



Ouvrage électronique

La perspective de cet ouvrage est de mieux comprendre et maîtriser ce pathogène dans l'agrofourrière et les chaînes de transformations/conservations des aliments issus de la volaille.

Au total, 19 articles scientifiques sur les deux espèces les plus pathogènes, *C. jejuni* et *C. coli*. Thèmes abordés : épidémiologie et portage animal, interactions hôte - pathogène, stratégies de contrôle, métabolisme et régulation, et notamment réponse au stress oxydant, amélioration des méthodes culturales, microbiote du poulet en concurrence avec *Campylobacter*.

Ouvrage électronique

Tresse O, Alvarez-Ordóñez A, Connerton IF, editors. *About the foodborne pathogen Campylobacter: Frontiers in Microbiology and Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*; 2018. <https://www.frontiersin.org/research-topics/4959/about-the-foodborne-pathogen-campylobacter>.

(en collaboration avec I. Connerton de l'Univ. of Nottingham, UK) et A. Alvarez-Ordóñez (Universidad de León, Espagne).

18 permanents
12 chercheurs & enseignants-chercheurs, 6 personnels techniques & administratifs

Effectif

Sécurité microbiologique des aliments
Réduction du gaspillage alimentaire

Enjeux

Laboratoires L2, challenge-test & micro-fabrication, biologie moléculaire, culture cellulaire, bioréacteurs, station anaérobie

Équipements

Caractérisation & maîtrise du risque microbien dans les produits carnés et les produits de la mer

Thème d'intérêt

DU : Marie-France Pilet
marie-france.pilet@inrae.fr

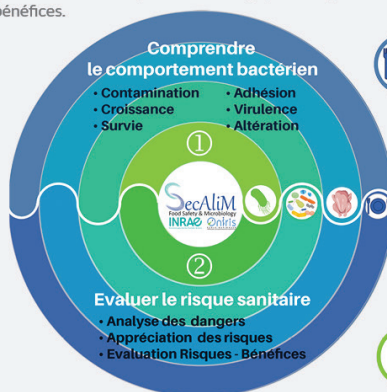
DUA : Sandrine Guillou
sandrine.guillou@inrae.fr

► **Thèmes de recherche**

- **Comprendre le comportement des bactéries** tout au long de la chaîne alimentaire : réponses individuelles et des communautés bactériennes aux modifications abiotiques (atmosphère protectrice, Hautes Pressions) et biotiques (interactions bactériennes et biopréservation) – Deux bactéries modèles : *Campylobacter jejuni* (pathogène) et *Brochothrix thermosphacta* (altération).
- **Évaluer le risque sanitaire** : analyse des dangers, quantification de l'exposition aux dangers bactériens (microbiologie classique, microbiologie prévisionnelle et approches omiques), appréciation quantitative des risques microbiologiques et approches risques – bénéfiques.

► **Compétences disciplinaires**

- Physiologie du comportement bactérien
- Écologie microbienne, NGS, bioanalyse
- Procédés innovants (biopréservation)
- Modélisation et microbiologie prévisionnelle
- Appréciation des risques microbiologiques
- Évaluation des risques et bénéfices de santé
- Expertise et appui aux politiques publiques



Consommateur

Pratiques & comportement du consommateur
Régimes alimentaires



Aliment : Volaille, porc, produits de la mer

Formulation : additifs et conservateurs
Caractéristiques physico-chimiques aw, pH, sel, etc.
Procédés physiques & Biopréservation



Microbiote : Aliment et Usine

Caractérisation des communautés bactériennes
Dynamique et fonctions : Expression génétique et production de métabolites



Bactéries modèles

Campylobacter jejuni : risque de campylobactériose
Brochothrix thermosphacta : altération des produits
Lactococcus piscium : biopréservation

Secalim - UMR INRAE Oniris 1014 - Route de Gachet - CS40706 - 44307 Nantes - Cedex 3 - France
Contacts : tel +33 (0)2 40 68 77 07 - Courriel : contact-secalim@oniris-nantes.fr
Site web : www6.angers-nantes.inrae.fr/secalim

Personne référente sur la thématique Campylobacter

Nabila Haddad, Enseignant-chercheur à SECALIM
nabila.haddad@oniris-nantes.fr

Autres personnes impliquées à SECALIM :

- Jean-Michel Cappelier, Professeur à Oniris
jean-michel.cappelier@oniris-nantes.fr
- Sandrine Guillou, Chercheuse à SECALIM
sandrine.guillou@inrae.fr
- Raouf Tareb, Enseignant-chercheur à Oniris
raouf.tareb@oniris-nantes.fr
- Jeanne-Marie Membré, Chercheuse à SECALIM
jeanne-marie.membre@oniris-nantes.fr

Avril 2021



@ INRAESecalim



@ Inrae_Secalim



<https://www.linkedin.com/company/secalim>



<https://www6.angers-nantes.inrae.fr/secalim>