

DECONTAMINATION DES ŒUFS COQUILLES PAR LE PROCEDE DE LUMIERE PULSEE

**Auteur(s) : Levy Caroline¹, Gatt Gérard¹, Busnel Morgane¹, Chemaly Marianne²,
Coignard Muriel³, Valette Marie-Anne³**

¹CLARANOR, ZI St Joseph, 182 avenue Blaise Pascal, 04100 Manosque, ²AFSSA, UHQAP, BP 53 22440 Ploufragan, ³ASEPT, Rue des Docteurs Calmette et Guérin - BP 2047 - 53020 LAVAL

RESUME

La problématique de la contamination des œufs par des microorganismes pathogènes est un sujet sensible pour une filière à laquelle très peu de solutions technologiques sont offertes. Une étude, menée en collaboration entre l'entreprise CLARANOR, l'AFSSA et le laboratoire ASEPT, visait à évaluer l'efficacité d'un procédé de décontamination par lumière pulsée d'œufs coquille calibrés (60 - 70g) et mirés mais naturellement contaminés en germes totaux aérobies mésophiles (contamination > 10⁴ germes totaux par œuf). La lumière pulsée est une technologie de décontamination de surface qui met en œuvre l'action bactéricide des rayons UV, appliqués aux surfaces sous la forme de flashes de lumière de grande intensité. Un lot d'œufs témoin a servi à déterminer la contamination initiale du lot. Les œufs présentant des salissures, souillures, ou traces de liquide séché ont été écartés, ainsi que les œufs fêlés, déformés, auréolés ou avec une coquille poreuse. Trois lots d'œufs ont été traités selon trois modalités différentes (1 flash de lumière à 3kV ; 3 flashes à 3 kV et 4 flashes à 2 kV) puis ont été analysés pour déterminer l'efficacité du procédé. La contamination résiduelle en flore totale aérobie mésophile a été dénombrée. L'analyse statistique des résultats a permis de montrer que les trois traitements par lumière pulsée permettent une réduction microbienne d'au moins 2 log UFC par œuf. Les traitements 1 flash et 3 flashes à tension 3kV présentent une meilleure efficacité que le traitement 4 flash à 2 kV, mais ne sont pas significativement différents entre eux. Le procédé de décontamination par lumière pulsée testé permet donc une réduction microbienne de la surface de la coquille d'œuf de plus de 3 Log UFC par œuf.

Suite à cette phase d'essais, un équipement industriel de traitement en ligne permettant d'atteindre les mêmes performances de décontamination que celles obtenues lors des essais a été mis au point. L'unité industrielle met en œuvre 13 lampes installées en sortie de calibreuse et permet de traiter les œufs à une cadence de 60 000 / heure.

ABSTRACT

Egg contamination by pathogenic microorganisms is a sensitive issue for a sector to which very few technological solutions are offered.

A study, led in collaboration between CLARANOR company, AFSSA and ASEPT laboratory, aimed at assessing the efficiency of a decontamination process of calibrated (60-70g) and mirrored but naturally contaminated in aerobic total mesophilic germs (contamination > 10⁴ total germs per egg) shell eggs with pulsed light. Pulsed light is a technology for surface decontamination which implements the bactericidal action of UV rays, applied to surfaces in the form of very intense light flashes. A control egg lot was used to determine the initial contamination of the complete lot. Eggs with soilings, stains, or tracks of dried liquid were set aside, as well as the cracked or deformed ones, and the eggs with rings or a porous shell. Three egg lots were treated according to three different modalities (1 light flash in 3kV; 3 flashes in 3 kV and 4 flashes in 2 kV) and then were analyzed to determine the process efficiency.

The residual contamination in total aerobic mesophilic flora was counted. The statistical analysis of the results enabled to show that the three treatments by pulsed light allow to reach a microbial reduction of at least 2 log UFC per egg. The treatments with 1 flash and 3 flashes in voltage 3kV present a better efficiency than the treatment with 4 flashes in 2 kV, but are not significantly different between them. Pulsed light decontamination process allows a microbial reduction of the egg shell surface of more than 3 log UFC per egg.

Further to this trial stage, an industrial equipment of on-line treatment allowing to reach the same decontamination performances as those obtained during the trials was designed. The industrial unit implements 13 lamps installed in exit of grading machine and allows to treat eggs at a rate of 60000 eggs/hour.

INTRODUCTION

L'une des préoccupations essentielles des entreprises agroalimentaires est de concilier au mieux les impératifs de conservation des produits et la préservation de leurs qualités organoleptiques et nutritionnelles, pour répondre aux attentes du consommateur.

Les résultats pour la France d'une étude menée au niveau européen sur la prévalence de *Salmonella* dans les élevages de poules pondeuses montrent que plus de 17% des élevages sont contaminés, principalement par *Salmonella enteridis* et *S.typhimurium*. 38% de ces élevages sont contaminés, en moyenne de façon très faible (0.89% d'œufs contaminés) mais ponctuellement de façon importante (maximum de contamination des œufs retrouvés : supérieurs à 8%)

La France, de par l'obligation de prophylaxie qui a cours, est dans une situation favorable parmi les pays producteurs d'œufs.

La problématique de la contamination des œufs par des microorganismes pathogènes demeure cependant un sujet sensible pour une filière à laquelle très peu de solutions technologiques sont offertes.

La lumière pulsée est une technologie nouvelle de décontamination de surface, qui utilise l'efficacité bactéricide des UV, et qui respecte les contraintes de ce secteur (pas d'utilisation de produits chimiques ni d'eau, traitement non pénétrant). Des études antérieures ont déjà permis de montrer l'efficacité des UV sur la décontamination de coquilles d'œufs (De Reu et al, 2005).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité d'un procédé de décontamination par lumière pulsée sur des œufs coquille, naturellement contaminés en germes totaux aérobies mésophiles.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Principe de la Lumière Pulsée

La Lumière Pulsée consiste en des flashes lumineux très courts et intenses produits par une lampe à arc. Un arc est généré par l'ionisation du gaz contenu dans la lampe (ici le Xénon), entre les bornes de laquelle une haute tension est appliquée. Les flashes présentent un spectre lumineux continu et riche en UV. La lumière pulsée se distingue significativement des technologies UV continu existantes par :

- un spectre continu de lumière blanche délivré. Il a cependant été démontré que ce sont les longueurs d'onde correspondant aux UV-C qui sont responsables de l'action germicide (Wang et al, 2005). L'inactivation est maximale au voisinage de 270 nm, ce qui correspond au maximum d'absorption de l'ADN ;
- un temps de traitement très court : 0,3 milliseconde par flash ; les surfaces traitées ne

sont en général pas exposées à plus de 5 flashes, le temps de traitement d'une surface dépasse donc rarement la seconde ;

- une intensité bien supérieure à celle d'un traitement UV continu : 1 à 2 J/cm² pour les équipements développés par CLARANOR, pouvant aller jusqu'à plus de 4 J/cm² avec plusieurs lampes.

Les résultats obtenus avec la technologie de lumière pulsée ne sont donc pas comparables avec ceux obtenus avec des UV continus.

Les dispositifs de traitement par lumière pulsée sont composés :

- d'une baie électronique permettant la génération des flashes (tiroirs électroniques de charge, décharge et de contrôle),
- d'une zone de traitement abritant la ou les lampes et les réflecteurs en aluminium, qui permettent d'orienter les rayonnements de façon optimale vers la surface à traiter,
- d'un dispositif de refroidissement des lampes si nécessaire,
- selon l'application, d'un système d'interface avec la ligne de production.

1.2. Paramètres d'essais

- Type de produits analysés :

90 Œufs en coquille « propres » sont utilisés :

- calibre : entre 60 et 70g
- Mirage pour écarter les œufs avec : salissures, souillures, traces de liquide séché, fêlures, micro fissures, surface poreuse, déformée, auréolée.
- Contamination naturelle à un taux élevé en flore totale.

- Paramètres de décontamination :

Une unité pilote 4 lampes (disposées tous les 90°) CLARANOR est utilisée. Chaque lampe est équipée d'un réflecteur à 45° afin d'éclairer la totalité des œufs ainsi que les apex. La quantité d'énergie reçue par l'œuf est exprimée en J/cm², et mesurée à l'aide d'un joulemètre (GENTEC ED 200, Quebec, Canada). Chaque lampe est réglée de manière à avoir une fluence de 1.5 J/cm² par flash (à 3kV) sur toute la surface de l'œuf, en considérant un diamètre moyen de 4.5cm pour les œufs.

3 Modalités de traitements sont testées :

- 1 flash à 3kV, soit une fluence totale de 1.5 J/cm²
- 3 flashes à 3kV soit une fluence totale de 4.5 J/cm²
- 4 flashes à 2kV La Fluence est de 0.83 J/cm² par flash lorsqu'on passe à une tension de 2kV. La fluence totale est donc de 3.3 J/cm² pour ce traitement.

1.3. Réalisation

Un lot témoin de 30 œufs non traités est utilisé pour estimer la contamination naturelle des œufs et

calculer le taux de réduction logarithmique suite aux traitements de décontamination.

Un lot de 30 œufs est utilisé pour chaque modalité de traitement.

L'œuf est déposé sur la plaque de quartz située au milieu des lampes, maintenu par un film Aclar (les 2 matériaux étant totalement transparents aux UV). Le traitement par lumière pulsée est réalisé. L'œuf est ensuite mis en sachet stérile contenant 50mL de diluant tryptone-sel et frotté pendant 2 minutes. Le dénombrement est ensuite réalisé selon la norme ISO 4833 (1 boîte par dilution). Une filtration sur membrane cellulosique (porosité 0.45mm) de la totalité des 50ml de la suspension-mère restante est ensuite réalisée en parallèle (afin de s'affranchir du seuil de détection de >50 UFC/œuf de la méthode). La membrane est ensuite déposée sur gélose PCA et incubée 72h à 30°C.

Les colonies sont dénombrées après incubation. Le taux de réduction logarithmique est calculé en se basant sur la contamination du lot témoin comme contamination initiale.

1.4. Analyse statistique

L'analyse des données consiste à comparer les groupes témoin et traités entre eux afin d'identifier celui ou ceux qui sont significativement différents du témoin ou des autres groupes. Le traitement statistique est réalisé à l'aide du logiciel Statgraphics. L'unité statistique retenue est l'œuf (n=30). Le test non paramétrique de Kruskal-Wallis est utilisé lorsque les critères de normalité et d'homogénéité des variances ne sont pas validés. Il est complété par le diagramme de box et Whisker (figure 1) pour visualiser les différences entre les groupes, et par le test de Mann et Whitney pour les comparaisons des groupes deux à deux.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

L'équation utilisée pour calculer le taux de réduction logarithmique est la suivante :

$$\text{Log réduction} = \text{Log} (\text{No}/\text{N})$$

Avec :

N=contamination moyenne en UFC par œuf sur le lot traité

No = contamination moyenne en UFC par œuf sur le lot témoin

Le taux de réduction logarithmique est de 3.7log pour le traitement 3flashes - 3kV (4.5J/cm²), de 3.3log pour le traitement 1flash - 3kV (1.5J/cm²) et de 2log pour le traitement 4flashes - 2kV (3.3J/cm²) (tableau 1).

Les résultats obtenus sont hétérogènes, la distribution des individus au sein de chaque groupe ne correspond pas à une distribution normale, et les variances sont significativement différentes entre

chaque groupe (données non présentées). Des tests non paramétriques sont pour cette raison utilisés afin de comparer ces résultats.

Les résultats obtenus par ces tests montrent que les 3 lots traités sont significativement différents du lot témoin (p=0.000), ce qui signifie qu'il existe une réduction significative du nombre de microorganismes par œuf après chaque traitement de Lumière Pulsée. En ce qui concerne les comparaisons entre les traitements, aucune différence n'a été mise en évidence entre les 2 traitements à 3kV (p=0.15). Par contre, le traitement à 2kV diffère significativement des 2 autres (p=0.000) ; une moins bonne décontamination est obtenue avec un traitement de 3.3J/cm² à 2kV. La Tension détermine l'allure du spectre de lumière incidente. En effet, plus on diminue la tension, plus on limite le pourcentage d'UV contenus dans la lumière. Il apparaît donc que la tension utilisée a une importance primordiale dans l'efficacité du traitement, supérieure à celle du nombre de flashes. C'est une autre différence par rapport aux traitements par UV continu ou le temps d'exposition est le paramètre le plus impactant sur le résultat.

CONCLUSION

Les traitements statistiques utilisés pour l'analyse des données obtenues sur les quatre groupes, en considérant l'œuf entier, montrent que les différents traitements par lumière pulsée appliqués ont permis une réduction bactérienne allant de 2 log avec 4 flashes à 2kV, à plus de 3 log avec les traitements de 1 flash et 3 flashes à 3kV.

Chaque traitement de lumière pulsée entraîne une diminution significative de la contamination microbiologique des œufs au seuil de 5%. Les deux traitements à 3kV ne présentent pas de différence significative entre eux, mais ils provoquent une meilleure décontamination que le traitement à 2kV.

Une forte décontamination est obtenue avec 1 à 4 flashes, ce qui est très différents de la plupart des résultats bibliographiques. Certains traitements vont jusqu'à des centaines de flashes pour obtenir des réductions comparables (Rowan, MacGregor et al. 1999).

Il est cependant très difficile de comparer ces résultats, car de nombreux facteurs peuvent intervenir, aussi bien physiques (propriétés des machines différentes), que biologiques (microorganismes traités). La cible a aussi une importance capitale, et chaque conformation de produit nécessite une réelle adaptation des réflecteurs pour avoir un traitement sur la totalité de la surface à traiter. Il est donc évident qu'une plus grande variabilité est observée sur les œufs traités par rapport aux œufs témoins.

La technologie apparaît donc comme un potentiel moyen de réduire la contamination des œufs. Elle

n'a pas d'impact sur les éventuelles contaminations internes puisque le traitement n'est efficace qu'en surface. Cet aspect peut constituer une limitation de la technologie mais aussi un atout dans des secteurs comme la pharmacie, où des œufs sont utilisés pour produire des vaccins, et où l'intégrité du contenu de l'œuf doit être préservée.

Suite à cette phase d'essais, CLARANOR a initié le développement d'un équipement industriel de traitement en ligne permettant d'atteindre les mêmes performances de décontamination que celles

obtenues lors des essais. Cette unité industrielle met en œuvre 13 lampes en parallèle, qui couvrent la largeur de douze œufs d'une calibreuse Moba Omnia 300. Des réflecteurs spécifiques ont été conçus afin d'optimiser le traitement de la surface des œufs, dont toutes les faces sont exposées au flash, grâce à la rotation des rouleaux sur lesquels ils sont transportés. La cadence de traitement atteint les 60 000 œufs par heure.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Rapport AFSSA – ASEPT « Rapport d'essais de décontamination d'œufs par lumière pulsée » : 2008
Enquêtes européennes sur Salmonella en filières avicoles ; Isolation of Salmonella enterica in laying hen flocks and assessment of eggshell contamination in France ; M. Chemaly, AFSSA Ploufragan ; 2007 ?
Décontamination par lumière pulsée : Etat de l'art ; Claranor ; 2008
Rowan, N. J., S. J. MacGregor, et al. (1999). "Pulsed-light inactivation of food-related microorganisms." Applied and Environmental Microbiology **65**(3): 1312-1315.
Wang, T., MacGregor, S.J., Anderson, J.G. and Woolsey, G.A. (2005). Pulsed ultra-violet inactivation spectrum of Escherichia coli. Water research, 39, 2921, 2925
Norme ISO 38433

Figure 1 : Diagramme de Box et Whisker, comparaison des moyennes des différents groupes étudiés

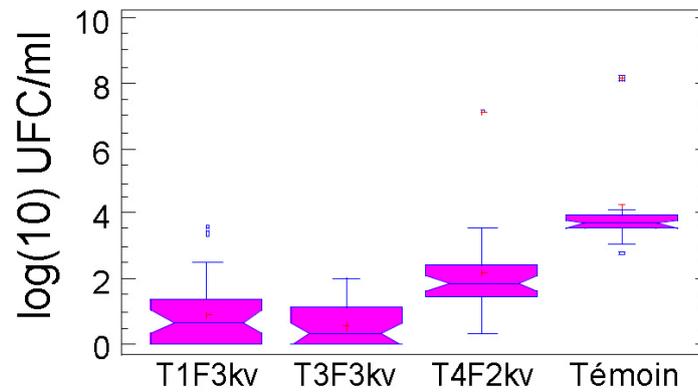


Tableau 1: Taux de contamination moyen des œufs témoins positifs et taux de réduction microbien pour les différents traitements

| Echantillon | Modalités de traitement LP | Contamination moyenne en UFC/œuf | Contamination moyenne en Log UFC/œuf | Ecart-type | Taux de réduction moyen en log UFC/œuf |
|----------------|--|----------------------------------|--------------------------------------|------------|--|
| témoins (n=30) | / | 1.60E+04 | 4.2 | 1.6 | |
| lot 1 (n=30) | 3 flash - 3kV (4.5 J/cm ²) | 3 | 0.5 | 0.6 | 3.7 |
| lot 2 (n=30) | 1 flash - 3kV (1.5 J/cm ²) | 8 | 0.9 | 1 | 3.3 |
| lot 3 (n=30) | 4 flashes - 2 kV (3.33 J/cm ²) | 159 | 2.2 | 1.5 | 2.0 |