

Botulisme lié à la consommation de saucisson, France, 2003

Eléments d'information concernant le procédé de fabrication des saucissons contaminés:

Les saucissons ont été fabriqués par l'entreprise Bouod, située à Marseille.

Produits commercialisés dans les boucheries-charcuteries « Halal ».

Les lots incriminés ont été fabriqués en juillet 2003.

Produits dont la DLC était parfois supérieure à 6 mois et conservés à température ambiante sur les points de vente.

Les saucissons de bœuf ont été fabriqués à partir d'un mélange de viande de bœuf (moins de 10%) et de viandes de volailles séparées mécaniquement, auquel ont été ajoutés des épices et des additifs (polyphosphates).

Ils ont été cuits au bain-marie (15 minutes à 73°C) mais avec une montée en température longue et variable, de 45 minutes à plus de 3 heures. Le refroidissement se faisait dans un premier temps par immersion des produits dans un mélange eau-glace qui permettait d'atteindre une température à cœur de 40°C en environ 20 minutes, puis passage en chambre froide de façon à atteindre normalement une température inférieure à 7°C après 4 heures.

Expertise AFSSA p.1

Analyse de l'objet à expertiser suivant la méthode d'expertise décrite**- Etat actuel des connaissances :**

Concernant la survie et la croissance de *C. botulinum* dans les aliments, les données synthétisées dans le rapport de l'AFSSA (2002) sont les suivantes :

- température : *Clostridium botulinum* A et les souches protéolytiques B ont une température optimale de croissance de 37-40°C, une limite inférieure de 10°C et une limite supérieure de 45-50°C. Les souches non protéolytiques de *Clostridium botulinum* B et E ont une température optimum de 30-35°C, une limite inférieure de 3,3°C et une limite supérieure de 40-45°C. Quatre souches de *Clostridium botulinum* E étudiées étaient capables de se multiplier et de produire de la toxine à 3,3°C en 36 jours. Le temps requis pour la croissance et la toxinogénèse est fonction du substrat, de la taille de l'inoculum en spores, des traitements thermiques préalables, de la température d'incubation et des conditions d'anaérobiose.
- pH : le pH optimal se situe autour de 7, avec une limite supérieure à 8-9 et une limite inférieure 4,5-4,8 pour les souches protéolytiques et 5 pour les souches non protéolytiques
- activité de l'eau : la limite inférieure est 0,95
- oxydoréduction : le potentiel d'oxydo-réduction optimal est autour de -350 mV, la limite supérieure est entre 30 et 250 mV. La germination peut intervenir à des potentiels d'oxydoréduction plus élevés, mais elle s'accompagne généralement d'une baisse de ce potentiel redox permettant la croissance bactérienne.

Il existe également des inhibiteurs de croissance de *Clostridium botulinum*.

- nitrites : l'activité inhibitrice des nitrites est fonction du pH et de la concentration en NaCl. Par exemple, la concentration inhibitrice des nitrites vis-à-vis des souches de *Clostridium botulinum* A et B, passe de 300 à 40 µg/g pour des concentrations respectives de NaCl de 1,8 et 3,5%.
- acide sorbique : le sorbate de potassium est inhibiteur à 2,6 g/kg et peut être utilisé à la place des nitrites dans les aliments. L'acide sorbique et les sorbates sont plus efficaces à pH acide (pH<6).
- anti-oxydants phénoliques : ils sont inhibiteurs à des concentrations de 200-400 µg/mL.
- polyphosphates : les diphosphates sont plus efficaces que les triphosphates. Ils inhibent la croissance de *Clostridium botulinum* à des concentrations de 1 à 3 g/kg.
- ascorbates : ils augmentent l'activité inhibitrice des nitrites. L'isoascorbate 200 µg/g et le nitrite à 50 µg/g sont aussi efficaces que le nitrite seul à 156 µg/g.

Pour des températures de traitement thermique qui sont celles communément utilisées pour le type de produits visés par le présent avis, la survie des spores de *Clostridium botulinum* éventuellement présentes est la règle. De plus, la durée de refroidissement (à 4°C) sur des produits de 120 mm de diamètre ne peut que difficilement être inférieure à 6H (données de J.L. Vandoeuvre du CTSCCV), temps qui permet au maximum une croissance de 0,5 Log de *Clostridium botulinum*. La sécurité du produit ne peut donc être assurée que par la combinaison d'une concentration en sel, d'un inhibiteur (par exemple les nitrites), d'un pH approprié et d'une température de conservation adéquate.

A titre indicatif, l'outil de modélisation de la Food Safety Agency développé par l'institute of Food Research de Norwich (version juin 2003) cité par J.L. Vandoeuvre du CTSCCV a retenu pour la croissance les valeurs suivantes :

	Tmin	Tmax	pHmin	pHmax	Aw min
C. <i>botulinum</i> Non Protéolytique	4°C	30°C	5,1	7,5	0,974
C. <i>botulinum</i> Protéolytique	14°C	40°C	4,7	7,2	0,954

Les combinaisons possibles pour assurer l'inhibition de croissance de *C. botulinum* ne peuvent être toutes définies dans le présent avis. Les services vétérinaires ayant à apprécier l'aptitude d'un procédé eu égard au risque peuvent se référer aux bases de données existant dans le domaine et très bien documentées comme par exemple ComBase (<http://wyndmoor.arserrc.gov/combase/>) ou encore Microfit (<http://www2.ifr.bbsrc.ac.uk/MicroFit/>) voire très prochainement sur le site Sym'Previous (<http://www.symprevious.net/>).

Les matières premières ne subissent apparemment pas de contrôles bactériologiques, du moins dans le cas de la Société Bouod. Comme préconisé dans le rapport d'audit, l'ensemble des matières premières, y compris les épices, devraient après échantillonnage faire l'objet d'analyses bactériologiques comprenant entre autre une recherche de bactéries anaérobies sulfite-réductrices et une recherche spécifique de *Clostridium botulinum*. Les recommandations essentielles concernent la conservation des produits finis.

Comme déjà indiqué dans le rapport d'audit, un procédé de refroidissement rapide à une température de 4°C après cuisson s'impose. Par la suite, la meilleure garantie du risque botulisme consisterait à respecter

scrupuleusement cette température de conservation jusqu'à la consommation du produit. Un étiquetage clair et nettement lisible devrait rappeler cette consigne, notamment pour le consommateur.

La durée limite de consommation (DLC) qui peut atteindre plus de 6 mois, semble trop longue. Une DLC d'autant plus courte minimiserait le risque de botulisme. Une DLC de 40 jours devrait s'appliquer comme pour les autres produits réfrigérés.

Une alternative à la conservation à basse température consiste à l'addition de conservateurs tel les nitrites. Les concentrations et conditions d'utilisation des nitrites pour réprimer la croissance de *C. botulinum* ont fait l'objet d'études détaillées et des normes sont disponibles. Les produits de la société Bouod qui contenaient 1.5% de NaCl pour un pH de 6.2; étaient additionnés de 300 ppm de nitrite. Or cette concentration en nitrite est bactéricide si la teneur en NaCl est de 1.8% à pH 5. Le respect de ces normes devrait être respecté;

En conclusion, les produits à base de viande séparés mécaniquement et traités par la chaleur à une température ne dépassant pas 75°C devraient être considérés soit comme des produits à conservation par réfrigération, soit comme des produits à conservation à température ambiante après addition de conservateurs en concentration et pH adéquats.

Le cahier des charges des achats devrait comprendre la vérification de la qualité microbiologique des matières premières, et notamment la définition d'un seuil acceptable pour les spores aérobies et anaérobies mésophiles et *Clostridium perfringens*. Pour la mesure directe du danger *C. botulinum*, des techniques basées sur une approche de biologie moléculaire et relativement fiables ont été décrites (à titre d'exemple voir Appl. Environ. Microbiol. 20002, 68:5870-5876). Bien que ce type d'analyse par échantillonnage ne permette pas de détecter de façon fiable une contamination par *C. botulinum*, qui peut être très hétérogène, elle devrait apporter un élément d'appréciation de la qualité des matières premières.

Chaque fois que le non respect des conditions de température d'entreposage à respecter est probable, l'ajustement de la formulation de la recette (pH, aw, nitrite, autres acides organiques,...) aux conditions raisonnablement prévisibles de la mise en marché pour éviter d'observer la croissance et la toxogénèse au stade de la commercialisation et jusqu'à la consommation devra être assuré. Ces options de maîtrise combinent de nombreux facteurs, vraisemblablement avec interactions.

Dans le cas de la conservation par réfrigération, il faut s'assurer d'un respect rigoureux de la température de conservation (4°C) chez le commerçant et le consommateur. La DLC devrait être ramenée à une durée moindre ou être validée pour le risque de rupture de chaîne du froid, y compris avec des passages à température ambiante s'il apparaît que ce comportement anormal est prévisible chez les consommateurs.

La conservation à température ambiante après addition de nitrite ou de combinaisons de conservateurs n'est possible qu'après respect strict des normes d'utilisation des nitrites ou d'autres conservateurs (voir supra). Une validation expérimentale de l'effet bactéricide vis à vis de *C. botulinum* pour chaque type de process de fabrication ayant des spécificités particulières de concentrations en nitrite (ou autres conservateurs), NaCl et de pH, devrait être préconisé si un doute subsiste quant à l'interprétation des données disponibles.