



Mots-clés : Traitement thermique, Contamination microbienne, Méthode, Analyse

REGLES TECHNIQUES POUR L'EVALUATION DE L'EFFICACITE BACTERIOLYTIQUE D'UNE LIGNE DE GRANULATION OU DE TRAITEMENT THERMIQUE

Les mises en œuvre des règlements européens 183/2005 du 12/01/05 établissant les exigences en matière d'hygiène des aliments pour animaux et 2160/2003 du 17/11/03 sur le contrôle des salmonelles présentes dans la chaîne alimentaire se sont traduites, notamment par la publication au JO français de l'arrêté du 23 avril 2007 relatif à l'agrément des établissements du secteur de l'alimentation animale. Cet arrêté met en place un agrément « Salmonelles » et le rend obligatoire, à brève échéance, à tout fabricant d'aliments livrant des élevages de poules reproductrices. Son annexe IV indique notamment que « Les aliments composés distribués aux reproducteurs de l'espèce *Gallus gallus* subissent un traitement validé comme garantissant une réduction minimale de la contamination microbienne en entérobactéries de 3 log ». Les aliments ainsi produits ne doivent pas contenir plus de 1000 entérobactéries par grammes.

Afin de pouvoir valider que, dans certaines conditions, le procédé de granulation permet d'atteindre ces objectifs de décontamination, un programme de recherche a été effectué par Tecaliman et financé par les organismes suivants : Office de l'élevage, Onidol, ONIC, Dgal, Inaporc, Cidef, CIP, et Tecaliman.

Ce programme a démontré qu'il est possible de granuler 4 types d'aliments dans des conditions permettant d'obtenir une diminution de 3 log de la population en entérobactéries. Il a ainsi permis de déterminer des paramètres indicatifs de granulation qui pourront être affinés sur chaque site industriel pour obtenir cette même diminution.

L'efficacité des conditions choisies sera ensuite vérifiée à l'aide du protocole décrit dans ce document. Bien que le programme ait porté sur la granulation, le protocole peut être appliqué également de manière satisfaisante pour évaluer l'efficacité de tout traitement thermique.

1. Objectif

Il s'agit d'évaluer l'efficacité bactériolytique d'une ligne de traitement thermique dans des conditions de traitement définies entre l'entrée de la ligne de traitement et la sortie du refroidisseur.

Il convient de démontrer que la ligne de traitement, dans les conditions d'essais, est capable de générer :

- Une diminution de la population en entérobactéries de 3 log dans l'aliment
- Une contamination en entérobactéries sortie refroidisseur inférieure à 1000 entérobactéries/g d'aliment (Arrêté du 23 avril 2007).

2. Principe

La méthode consiste à :

- Choisir une ligne de traitement
- Choisir un type d'aliment dont un lot sera produit
- Définir des conditions de traitement (température, débits ou temps de traitement, ...)
- Effectuer des prélèvements stériles avant et après traitement (sortie de sécheur/refroidisseur)
- Traiter les échantillons et dénombrer les entérobactéries sur des prises d'essais représentatives
- Traiter les résultats et les interpréter

3. Matériel

3.1. Traceur

Il s'agit des entérobactéries naturellement présentes dans l'aliment choisi. Les salmonelles ne sont pas recherchées en raison de leur faible prévalence et de l'absence de norme pour leur numération.

3.2. Le lot

Il s'agit d'un aliment donné. Le lot peut être constitué de plusieurs charges de mélangeur s'il constitue globalement « le lot traité ». Compte tenu de la variabilité des résultats en fonction des types d'aliments (distribution des temps de séjour, effet de la composition sur l'échauffement, ...), les conditions de traitement ne seront validées que pour le type d'aliment choisi.

3.3. La ligne

Elle doit être bien caractérisée et identifiée au moment des essais. Il conviendra donc de noter la date des essais, le type de matériel entre les deux points de prélèvements extrêmes et, en cas de nouvel essai sur une ligne déjà validée, les modifications et interventions effectuées sur la ligne entre les deux essais. Il conviendra de noter si des interventions de nettoyage ou de désinfection ont été effectuées récemment sur la ligne.

Pour les lignes de granulation, une attention particulière sera portée à la filière :

- Son état
- Son âge
- Le nombre et le diamètre des trous
- La longueur de compression (retirer la longueur de

contre perçage)

3.4. Mesures

3.4.1. En ligne

3.4.1.1. Température

Les sondes de température utilisées en ligne doivent être contrôlées et validées. Dans leur emploi quotidien, elles doivent être nettoyées régulièrement et placées dans le flux du produit (Les adhérents de Tecaliman se référeront à la fiche technique n° 26).

3.4.1.2. Vapeur

La pression de vapeur devra être vérifiée et enregistrée.

3.4.2. Débit

Le débit instantané en production doit être déterminé au plus près. Il convient de l'estimer en retirant les périodes de montée en charge, et d'estimer la proportion et la période de recyclage des fines. Moins bonne sera l'estimation de ce débit, plus grande devra être la marge prise sur le barème choisi.

3.4.3. Gestion des essais

3.4.3.1. Temps

Les prélèvements sont effectués à des temps précis déterminés avant le lancement du lot en granulation. Deux chronomètres sont alors nécessaires. Le premier indique à l'opérateur, sortie presse, ses temps de prélèvements. Le deuxième est utilisé par l'intervenant sortie sécheur/refroidisseur.

3.4.3.2. Température

La température de l'aliment granulé ou non peut être mesurée en tout poste, à l'aide d'un récipient adiabatique de type thermos et d'une sonde mobile.

En l'état actuel des techniques, il est très difficile de mesurer, en ligne, la température des granulés en sortie de presse. La technique utilisant un thermos et une sonde mobile est pratique, mais ne donne qu'une image ponctuelle, et peut être légèrement biaisée, de cette température des granulés.

3.4.3.3. Temps de séjour

Dans le cas de la granulation, pour déterminer le temps de séjour dans la filière, il est nécessaire de disposer des caractéristiques de la filière. La masse de 1 cm de granulés est estimée par une mesure à partir d'une tige en verre graduée dans laquelle des granulés sont enfilés. La masse de 20 cm de granulés est alors mesurée.

Dans le cas de lignes sans granulation, le temps de séjour pourra être estimé et la valeur estimée sera complétée par une évaluation de la distribution des temps de séjour (Les adhérents de Tecaliman se référeront aux fiches techniques n° 53 à 56).

3.5. Echantillonnage

3.5.1. Matériel de prélèvement

Les prélèvements sont effectués avec des pelles métalliques puis sont introduits dans des sachets stériles pour stomacher à fermeture métallique closure T.

3.5.2. Matériel de désinfection

Un désinfectant est employé pour traiter le matériel qui entre en contact avec les échantillons.

Pour le séchage/désinfection du matériel, un décapeur thermique peut être employé afin d'éliminer toute trace liquide de désinfectant qui pourrait décontaminer l'aliment directement. en prêtant attention à l'effet de la température élevée sur les matériaux employés pour l'échantillonnage.

3.6. Traitement des échantillons

Avant envoi au laboratoire, les échantillons sont reconditionnés. Cette étape nécessite l'utilisation de diviseurs à rifles. Cette étape peut être effectuée par le laboratoire s'il dispose du matériel et des méthodes pour l'effectuer. Il est également possible de réaliser les analyses sur tous les prélèvements, mais avec une conséquence sur les coûts d'essais.

3.7. Stockage et Transport

Les prélèvements sont stockés lors des journées d'essai :

- en réfrigérateur, si l'usine dispose d'un matériel facilement accessible
- en caisses isothermes réfrigérées (p.e. à l'aide de sachets eutectiques congelés). Il ne doit pas y avoir de contact direct entre la source froide et les échantillons.

Le stockage s'effectue dans des conditions de froid positif (+ 4°C). Les envois des échantillons au laboratoire d'analyse sont effectués en caisses isothermes contenant un mode de refroidissement interne. Il est recommandé qu'un indicateur « chronotemps » soit placé à chaque envoi dans les caisses, afin de valider l'absence de passage à une température autorisant la croissance bactérienne (au dessus de +4°C).

4. Méthode

4.1. Taille des lots

Afin d'assurer la prise de tous les échantillons en sortie presse et sortie refroidisseur, le lot traité doit permettre une production d'au moins trente minutes en régime nominal.

4.2. Nombre de lots

Un lot traité peut correspondre à plus d'une charge de mélangeur.

4.3. Echantillonnage

4.3.1. Lieu de prélèvement

La contamination initiale est déterminée par des prélèvements effectués en sortie mélangeur ou de mélasseur. Si plusieurs charges constituent le « lot traité », les incréments seront répartis sur l'ensemble des charges. La contamination après traitement est déterminée par des analyses effectuées sur des échantillons prélevés en sortie de refroidisseur.

Eventuellement, des prélèvements seront effectués en sortie du traitement thermique dans le cas de l'étude de la décontamination de la seule ligne de traitement sans prendre en compte les risques de recontamination. Dans ce cas, les prélèvements devront être séchés et refroidis individuellement en dehors du circuit de production. Ce refroidissement devra être effectué en prenant garde à toutes possibilités de recontamination.

4.3.2. Mode de réalisation des prélèvements

Le matériel de prélèvement et de traitement des échantillons doit être désinfecté et séché avant utilisation (quelques secondes avec le décapeur thermique). Les prélèvements sont effectués dans un flux de produit en prenant soin de couper le flux de manière variable à chaque incrément. Il convient également de faire attention à ne pas souiller les échantillons par des dépôts présents dans l'environnement du point de prélèvement.

4.3.3. Nombre et taille des échantillons

Pour obtenir une bonne représentativité du lot, au minimum quatre incréments de 50 g sont prélevés à

chaque poste étudié. Les essais menés par Tecaliman ont montré que la contamination en entérobactéries était assez homogène et que 4 prélèvements permettent d'obtenir un échantillon global d'environ 200g représentatif du lot avec une variabilité inférieure à 5 %.

4.3.4. Périodicité

La périodicité des prélèvements est déterminée afin de répartir les prélèvements sur l'ensemble des charges mélangées ou du lot traité pendant la production en régime nominal. Il convient donc d'estimer le temps de passage (débit) à chaque poste de prélèvement avant la réalisation des essais.

A chaque point de prélèvement, le premier incrément est toujours prélevé après une période donnée et une période équivalente doit exister après le prélèvement du dernier incrément.

En cas de prélèvements avant et après sécheur/refroidisseur, les prélèvements des incréments seront décalés dans le temps. Dans le cas d'un refroidisseur vertical, les prélèvements sont plus rapprochés et coïncident avec des cycles de vidange. Les granulés issus du premier et du dernier cycle sont à éviter.

4.3.5. Autres prélèvements

A chaque poste, des prélèvements ponctuels pourront être effectués pour obtenir des données permettant l'interprétation des résultats :

- Caractéristiques physiques initiales de l'aliment
- Humidité
- Durabilité/dureté/taux de fines

4.4. Réalisation des essais

4.4.1. Succession des lots dans le circuit de fabrication

De préférence, les essais ne devront pas être effectués sur une ligne ayant traité un aliment médicamenteux ou tout produit ayant une conséquence probable sur la croissance bactérienne. Si tel était le cas, au moins trois lots sans de tels produits devront être fabriqués dans le même boisseau de presse avant d'effectuer l'essai, afin de limiter tout effet des contaminations croisées.

4.4.2. Mesures

En cas de prélèvements en sortie de traitement, la température du produit à ce poste peut être mesurée à l'aide d'une sonde portable et d'un récipient adiabatique de type « Thermos ».

4.4.3. Données à relever

Afin d'interpréter les résultats et de déterminer les conditions précises des essais, les données suivantes sont nécessaires :

- Taille du lot (fiche(s) de pesées)
- Débit global du lot
- Débit instantané du lot en production nominale (durées des phases de montée en puissance, de production nominale, et de recyclage), un enregistrement de la puissance appelée par la presse peut être utilisé. S'il est indiqué par l'automate, il convient de prêter attention à son mode d'évaluation.
- Température de traitement obtenue par la régulation
- Pression de vapeur
- Température de consigne (si la ligne dispose d'enregistrements, ceux-ci peuvent être collectés)

- Caractéristiques de la filière
- Nature des 3 lots fabriqués sur la ligne avant l'essai
- Intensité de la presse en fonctionnement nominal et d'éventuelles variations

4.5. Traitement des échantillons et analyses

Les incréments prélevés en un même point doivent être regroupés et divisés de manière aseptique. Les aliquotes sont conditionnées en conditions propres dans la mesure où les reconditionnements sont ordonnés dans le sens croissant de la contamination supposée.

Une fraction est conservée en réserve en froid positif (+4°C) sur le lieu de division s'il est différent du lieu d'analyse, afin de disposer de doubles en cas de problème de conditions de stockage pendant le transport. Le transport doit être effectué en 24 h maximum dans des conditions assurant leur conservation (froid positif).

4.6. Analyses

Des dénombrements d'entérobactéries sont effectués sur chaque échantillon. Ces dénombrements sont effectués selon la Norme NF V08-054 (37°C) avec une limite de quantification de 10 UFC/g pour les échantillons sortie mélangeur et avec une limite de 1 UFC/g pour les autres. Cette norme sera appelée à être modifiée dans les mois à venir pour les normes ISO 21528-1 et 2.

En cas d'emploi de produits désinfectants dans le process avant les essais ou de suspicion de présence d'antibiotiques dans les échantillons, il conviendra que le laboratoire emploie un neutralisant du produit considéré.

4.7. Expression et interprétation des résultats

Deux types de résultats caractérisent les essais :

- Les conditions de réalisation
- Les résultats microbiologiques

4.7.1. Les conditions de réalisation

Il s'agit ici de caractériser les conditions qui ont permis l'obtention des résultats de décontamination, afin de démontrer, par la suite, que les traitements sont toujours effectués dans ces conditions (conditions de maîtrises), de définir des tolérances sur ces conditions et de prévoir des mesures correctives à prendre en cas de perte de maîtrise. Les conditions essentielles sont :

- L'aliment traité
- La température de traitement
- Le temps de séjour

Dans le cas de la granulation, le temps de séjour dans la filière est déterminé (en seconde) par les formules suivantes :

- Temps de séjour = Masse de granulés dans la filière (kg) / Débit instantané (kg/s).
- Masse de granulés dans la filière = Masse de 1 cm de granulés x Nombre de cm dans la filière
- Nombre de cm de granulés dans la filière = Longueur comprimante des canaux en cm x Nombre de canaux

Le temps de séjour dans le préparateur de presse a un impact potentiel sur la flore, mais dans le cas des

lignes de granulation classiques, il apparaît moins important que celui dans la filière.

Dans le cas des traitements thermiques, il est rappelé que le débit est un élément, mais que des mesures de distributions de temps de séjours doivent être effectuées.

Les conditions d'essais sont donc également déterminées à l'aide d'enregistrements faits lors des essais :

- Date de l'essai
- Débit global du lot
- Débit instantané du lot en production nominale
- Température de conditionnement
- Pression de vapeur
- Caractéristiques de la filière
- Nature de l'aliment (formule)
- Caractéristiques physiques initiales de l'aliment (Granulométrie, masse volumique, humidité, ...)
- Masse d'un cm de granulés

Des paramètres supplémentaires permettent d'interpréter les résultats et d'envisager des mesures correctives ou préventives :

- Température en sortie de traitement si elle est différente de la température de conditionnement
- Durabilité
- Humidité en tous points de prélèvement

4.7.2. Les résultats microbiologiques

Les résultats des numérations d'entérobactéries seront interprétés sur la base :

- de la contamination initiale
- de la variation de contamination d'au moins 3 log entre l'entrée dans le traitement et celle en sortie du sécheur/refroidisseur.
- de la contamination finale qui doit être inférieure à 1000 UFC/g en sortie de sécheur/refroidisseur.

En cas de décontamination insuffisante, plusieurs causes, non exclusives, peuvent être envisagées :

- Une contamination initiale très élevée de l'aliment (qui peut être différente de la contamination individuelle des matières)
- Une recontamination significative entre le traitement et le point de prélèvement du lot ou des échantillons
- Des conditions de préparation/transport des échantillons ayant entraîné leur non-représentativité
- Un barème de traitement insuffisant

5. Conclusion

Ces essais doivent être inclus dans une démarche HACCP (les adhérents de Tecaliman se référeront à la Fiche technique n° 5). Les résultats sont inclus dans le cadre de la gestion du traitement thermique en tant que point critique (CCP1) dans un objectif de qualité microbiologique défini. Après les essais sur une ligne ciblée, le traitement devra être géré dans le cadre d'un CCP et la démonstration de la maîtrise du traitement dans les conditions d'essai devra pouvoir être apportée à tout moment (temps de séjour, débit, température, ...). Le

traitement d'un lot en dessous des consignes établies sur une ligne donnée ne pourra plus être possible sans courir le risque de contaminer la ligne en aval. Si cela était réalisé, des procédures devraient être mises en place après de tels lots, pour diminuer les risques de recontaminations en aval du circuit. Des mesures préventives et correctives devront être prévues et mises en place dans ce cadre. Dans le cas de la granulation, le concept de qualité microbiologique ciblée constitue donc une différence avec les pratiques actuelles et demande une certaine sensibilisation des opérateurs afin de la garantir. Elle demande également une gestion des risques de recontaminations en aval du traitement (CCP2) jusqu'au chargement des camions, puisque c'est ce point qui est cité dans l'arrêté du 23 avril 2007 (Les adhérents de Tecaliman se référeront au bulletin spécial n°38 et à la fiche technique n° 40).

6. Bibliographie

Bulletin spécial n° 38, 1999. Eléments de maîtrise des recontaminations par les salmonelles en alimentation animale.

Fiche technique n° 5, 1996. Des clés pour l'utilisation de l'HACCP en alimentation animale.

Fiche technique n° 26, 1999. Vérification des sondes de température.

Fiche technique n° 40, 2002. Proposition d'une méthode de contrôle de l'état de propreté d'un site industriel de l'alimentation animale.

Fiche technique n° 53, 2004. mesure de la dureté des traitements – notion de distribution des temps de séjour.

Fiche technique n° 54, 2004. Mesure de la distribution des temps de séjour – les traceurs.

Fiche technique n° 55, 2004. Mesure de la distribution des temps de séjour – protocole.

Fiche technique n° 56, 2004. Mesure de la distribution des temps de séjour par injection-impulsion – traitement des données.