

Université de Montréal

Traitement à l'eau chaude des viandes destinées à la fabrication de saucissons secs dans le but d'augmenter la réduction d'*Escherichia coli* O157:H7 en cours de fabrication – impacts organoleptiques et microbiologiques

Par

Samia Chérifi

Département de pathologie et microbiologie
Faculté de médecine vétérinaire



Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maître ès science (M.Sc.)
en sciences vétérinaires
option microbiologie

Janvier, 2005



© Samia Chérifi, 2005

SF

607

U54

2005

v.014

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé

Traitement à l'eau chaude des viandes destinées à la fabrication de saucissons secs dans le but d'augmenter la réduction d'*Escherichia coli* O157:H7 en cours de fabrication – impacts organoleptiques et microbiologiques

Présenté par
Samia Chérifi

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Dr Alain Houde, président du jury
Dr Gabriel Piette, directeur de recherche
Dr Serge Messier, co-directeur de recherche
Dr Daniel Perron, membre du jury

Mémoire accepté le

RÉSUMÉ

Mots clés: Décontamination, *Escherichia coli* O157:H7, eau chaude, saucissons fermentés-séchés.

Dans le but ultime de réduire le risque de toxi-infections à la bactérie *E. coli* O157:H7 lié à la consommation de saucissons fermentés-séchés, un traitement à l'eau chaude à 85°C a été appliqué aux pièces de viande destinées à la fabrication de saucissons fermentés-séchés (temps de trempage de 30, 60, 90, 120, 150 et 180 s). L'observation visuelle de pièces de viande traitées montrait une décoloration qui restait superficielle pour les temps de trempage jusqu'à 120 s. Dans ces conditions, la couleur des saucissons fabriqués à partir de ces pièces était généralement significativement différente ($p < 0.0001$) de celle des témoins pour les composantes L^* et a^* , mais seulement quand les deux types de viande avaient été traités. Ces différences n'étaient toutefois pas perceptibles à l'œil nu. Par ailleurs, l'intensité du traitement (temps, bœuf seulement ou porc et bœuf) avait un effet non significatif ($p > 0.05$) sur la rancidité des saucissons fermentés-séchés à 0 et à 14 jours post-fabrication. Donc, un traitement à l'eau chaude des pièces de viande jusqu'à 120 s est envisageable pour les saucissons fermentés-séchés, vu que les qualités organoleptiques sont conservées.

Des expériences préliminaires avec la souche non pathogène *E. coli* ATCC 25922, inoculée à la surface de pièces de viande de 9 cm² à la concentration de 6.45 log₁₀ UFC/g ont indiqué que des temps de trempage à l'eau chaude de 60 s et 120 s causaient une réduction cellulaire respective de 4.09 log₁₀ UFC/g et de plus de 4.50 log₁₀ UFC/g. La réduction cellulaire était beaucoup moins importante (1.43 et 1.85 log₁₀ UFC/g pour

les temps de trempage de 60 et 120 s respectivement) lorsque la viande était inoculée en surface avec la souche pathogène O157:H7 5-1 et entreposée 7 jours au froid avant traitement à l'eau chaude. Après fermentation et séchage, le niveau de réduction atteignait $3.03 \log_{10}$ UFC/g (60 s de trempage) et $3.34 \log_{10}$ UFC/g (120 s de trempage) et l'atteinte d'un niveau de réduction élevé ($> 5 \log_{10}$ UFC/g) n'était possible que par l'ajout d'une période d'entreposage des produits finis de deux semaines à température pièce. L'utilisation du traitement des viandes à l'eau chaude reste potentiellement intéressante puisqu'elle permet de raccourcir le temps d'entreposage à température pièce nécessaire à l'atteinte de la réduction de $5 \log_{10}$ UFC/g, diminuant d'autant les besoins en infrastructure et les coûts liés à l'immobilisation du produit pendant plusieurs semaines.

ABSTRACT

Key words: Decontamination, *Escherichia coli* O157:H7, hot water, fermented-dried sausages.

In order to reduce the risk of food borne disease caused by *E. coli* O157:H7 related to the consumption of dried-fermented sausages, a hot water (85°C) treatment (30, 60, 90, 120, 150 and 180 s) was applied to the meat pieces to be used in the manufacture of sausages. The visual observation of treated meat pieces showed a superficial colour change for treatment up to 120 s. In these conditions, the colour of sausages manufactured using treated pieces was significantly different ($p < 0.0001$) compared to the control for L^* and a^* components only when the two types of meat (beef and pork) were treated. These differences were however not perceptible to the naked eye. On the other hand, the treatment intensity (treatment duration, beef only or beef and pork) had a non significant effect ($p > 0.05$) on rancidity of fermented-dried sausages at 0 and 14 days post-manufacturing. Consequently, a hot water treatment of meat pieces up to 120 s is an alternative to consider for fermented-dried sausages since the organoleptic qualities were conserved.

Preliminary experiments using a non-pathogenic strain of *E. coli* (ATCC 25922) to inoculate the surface of meat pieces (9 cm²) at a concentration of 6.45 log₁₀ UFC/g indicated that a 60 s and a 120 s hot water treatment induced a bacterial reduction of 4.09 log₁₀ UFC/g and more than 4.50 log₁₀ UFC/g respectively. The cell reduction was less important (1.43 and 1.85 log₁₀ UFC/g for 60 and 120 s treatments respectively) when meat was surface inoculated with the pathogenic 5-1 strain of *E. coli* O157:H7 and

refrigerated during 7 days before the hot water treatment. After fermentation and drying, the level of reduction reached $3.03 \log_{10}$ UFC/g (60 s dip) and $3.34 \log_{10}$ UFC/g (120 s dip). Obtaining a higher level of reduction ($5 \log_{10}$ UFC/g) was only possible by the addition of a two weeks storage of sausages at room temperature. The use of hot water treatment of meat remains potentially interesting since it makes it possible to shorten the time of storage at room temperature necessary to reach the reduction of $5 \log_{10}$ UFC/g. This fact allows the decrease in infrastructure requirements and the costs related to the immobilization of sausages during several weeks.

TABLE DES MATIÈRES

IDENTIFICATION DU JURY.....	ii
RÉSUMÉ.....	iii
ABSTRACT.....	v
TABLE DES MATIÈRES.....	vii
Liste des tableaux.....	xi
Liste des figures.....	xii
Liste des abréviations.....	xiii
REMERCIEMENTS.....	xvi
I. INTRODUCTION.....	1
II. REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	5
II.1. Connaissances relatives à <i>E. coli</i> O157:H7.....	5
II.1.1. <i>Escherichia coli</i> et ses propriétés.....	5
II.1.1.1. Généralités.....	5
II.1.1.2. Facteurs de pathogénie.....	6

II.1.2. <i>Escherichia coli</i> O157:H7	9
II.1.3. Toxi-infections alimentaires provoquées par <i>E. coli</i> O157:H7.....	12
II.1.3.1. Produits d'origine animale.....	13
II.1.3.1.1. Viande.....	13
II.1.3.1.2. Produits laitiers.....	14
II.1.3.1.3. Ovoproduits.....	14
II.1.3.1.4. Saucissons fermentés-séchés.....	14
II.1.3.2. Produits d'origine non animale.....	15
II.1.4. Les facteurs qui affectent la croissance de <i>E. coli</i> O157:H7.....	15
II.1.4.1. pH et tolérance à l'acidité.....	15
II.1.4.2. Sel et nitrites.....	17
II.1.4.3. Activité de l'eau.....	17
II.1.4.4. Température.....	17
II.2. Problèmes associés aux procédés de fabrication de saucissons fermentés-séchés.....	19
II.2.1. Description générale du produit.....	19
II.2.2. Procédé de fabrication des saucissons fermentés-séchés.....	20
II.2.3. Réglementation pour la fabrication des saucissons fermentés-séchés.....	22
II.2.4. Études de validation.....	24
II.3. Éléments clés de la qualité sensorielle des saucissons fermentés-séchés.....	29
II.3.1. Couleur.....	29
II.3.1.1. Étude chimique des pigments.....	29
II.3.1.2. Structure biochimique.....	29
II.3.1.3. Méthodes de mesure de la couleur de la viande.....	31

II.3.2. Rancidité.....	32
II.3.2.1. Le gras des saucissons.....	32
II.3.2.2. Altération des lipides.....	32
II.3.2.3. Mesure de la rancidité.....	33
II.4. L'eau chaude et la vapeur pour réduire la contamination à <i>E. coli</i> O157:H7.....	34
II.5. Conclusion.....	36
III. MÉTHODOLOGIE.....	37
III.1. Déroulement général du projet.....	37
III.2. Les bactéries.....	38
III.3. La viande.....	38
III.4. Traitement de la viande.....	40
III.5. Fabrication des saucissons.....	41
III.6. Analyses physico-chimiques et sensorielles.....	42
III.6.1. Analyse des protéines, de l'humidité, du pH et de l' a_w	42
III.6.2. Évaluation de la couleur.....	43
III.6.3. Évaluation de la rancidité.....	45
III.7. Analyses microbiologiques.....	45
III.8. Statistiques.....	46
IV. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS.....	47
IV.1. Présélection des meilleurs temps de trempage de la viande dans l'eau chaude (85°).....	47
IV.2. Effet des temps de trempage présélectionnés sur la couleur des saucissons fermentés-séchés.....	49

IV.3. Effet des temps de trempage présélectionnés sur la rancidité des saucissons fermentés-séchés.....	59
IV.4. Effet des temps de trempage sur la réduction de la flore non pathogène <i>E. coli</i> ATCC 25922, inoculée en surface de pièces de boeuf.....	61
IV.5. Effet des temps de trempage sur la réduction de la flore pathogène <i>E. coli</i> O157:H7 5-1, inoculée en surface de pièces de bœuf, en cours de fabrication.	63
V. DISCUSSION	66
VI. CONCLUSION.....	71
VII. BIBLIOGRAPHIE.....	73
VIII. ANNEXES.....	xvii

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Effet du trempage à l'eau chaude (85°C) sur la population viable de <i>E.coli</i> ATCC 25922 inoculée à la surface de pièces de bœuf.....	62
Tableau A.1: Analyse de variance des résultats de la figure 5.....	xviii
Tableau A.2: Valeurs moyennes de L* de la première et de la deuxième répétition prises dans les zones claires et foncées des tranches de saucissons fermentés-séchés.....	xix
Tableau A.3: Analyse de variance des résultats de la figure 6.....	xx
Tableau A.4: Valeurs moyennes de a* de la première et de la deuxième répétition prises dans les zones claires et foncées des tranches de saucissons fermentés-séchés.....	xxi
Tableau A.5: Analyse de variance des résultats de la figure 7.....	xxii
Tableau A.6: Valeurs moyennes de b* de la première et de la deuxième répétition prises dans les zones claires et foncées des tranches de saucissons fermentés-séchés.....	xxiii
Tableau A.7: Analyse de variance des résultats de la figure 9.....	xxiv
Tableau A.8: Valeurs moyennes de TBA (mg de malonaldéhyde/kg de viande) de la première et de la deuxième répétition prises à 0 et 14 jours.....	xxv
Tableau A.9: Analyse de variance des résultats de la figure 10.....	xxvi
Tableau A.10: Effet du trempage à l'eau chaude (85°C) sur la population viable de <i>E. coli</i> O157:H7 5-1 inoculée à la surface de pièces de bœuf et dénombrée à différentes étapes de la production des saucissons.....	xxvii

LISTE DES FIGURES

Figure 1: La myoglobine.....	30
Figure 2: Conformation spatiale de la myoglobine.....	30
Figure 3: Schéma représentant le dispositif de prise de photographies.....	44
Figure 4: Visualisation de l'effet du temps de trempage sur la couleur des pièces de viande immergées dans l'eau chaude à 85°C (3 échantillons par temps)...	48
Figure 5: Effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la couleur (composante L*) des saucissons fermentés-séchés.....	50
Figure 6: Effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la couleur (composante a*) des saucissons fermentés-séchés.....	52
Figure 7: Effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la couleur (composante b*) des saucissons fermentés-séchés.....	53
Figure 8: Photographies des tranches de saucissons provenant de viandes traitées à 30, 60, 90 et 120 s (Essai 1 et 2).....	55
Figure 9: Effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la rancidité des saucissons fermentés-séchés au temps 0 et après 14 jours d'entreposage à l'air à 20°C.....	60
Figure 10: Dénombrement (\log_{10} UFC/g) de <i>E. coli</i> O157:H7 5-1 à différentes étapes du procédé de fabrication des saucissons fermentés-séchés (mêlée, après fermentation, après séchage, 15 jours après entreposage à température pièce).....	65

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACIA	Agence Canadienne d'Inspection des Aliments
ADN	Acide désoxyribonucléique
A/E	Attachement-effacement
a_w	Activité de l'eau
BHI	<i>Brain heart infusion</i>
BL II	Niveau II de biosécurité
bp ou BNT-PNT	Bœuf non traité, porc non traité
btp ou BT-PNT	Bœuf traité, porc non traité
btpt ou BT-PT	Bœuf traité, porc traité
°C	Degré centigrade
CDC	<i>Centers for Disease Control</i>
CFA	<i>Colonization factor antigen</i>
CIE	Commission Internationale de l'Éclairage
CRDA	Centre de Recherche et de Développement sur les Aliments
DAEC	<i>Diffusely adherent E. coli</i>
DHEC	<i>Diarrhea-associated hemolytic E. coli</i>
eae	<i>E. coli attaching and effacing</i>
EAF	<i>EPEC adherence factor plasmid</i>
EaggEC ou EAEC	<i>E. coli</i> entéroaggrégatif
EHEC	<i>E. coli</i> entérohémorragique
EIEC	<i>E. coli</i> entéroinvasif
EPEC	<i>E. coli</i> entéropathogène
esc	<i>E. coli secretion</i>

Esp	<i>E. coli secreted proteins</i>
ETEC	<i>E. coli entérotoxigène</i>
FRI	<i>Food Research Institute</i>
FSIS	<i>Food Safety Inspection Service</i>
Gb3	Globotriasyleramide
HACCP	<i>Hazard Analysis Critical Control Point</i>
HR	Humidité relative
kDa	Kilodalton
kPa	Kilopascal
LEE	<i>Locus of enterocyte effacement</i>
LT	Thermo-labile
Ma	Malonaldéhyde
µl	Microlitre
mM	Millimolaire
MPR	<i>Moisture Proteine Ratio</i>
N	Normal
NaCl	Chlorure de sodium
NCBA	<i>National Cattlemen's Beef Association</i>
PAI	<i>Pathogenicity island</i>
pb	Paire de base
PB	<i>Poultry extract broth</i>
Per	<i>Plasmid encoded regulator</i>
ppm	Partie par million
PTT	Purpura thrombotique thrombocytopénique
RPM	Rotation par minute
SAS	<i>Statistical Analysis Software</i>
SHU	Syndrome hémolytique urémique
SLT	<i>Shiga-like toxin</i>
SSTT	Système de sécrétion de type III
ST	Thermo-stable
TBA	Acid thiobarbiturique

TCC	<i>Total coliform counts</i>
Tir	<i>Translocated intimin receptor</i>
TSB	<i>Tryptic soy broth</i>
UFC	Unité formant des colonies
USDA	<i>United-States Department of Agriculture</i>
VTEC	<i>E. coli</i> vérotoxigène

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout d'abord toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce projet et particulièrement mon directeur de recherche, le docteur Gabriel Piette, de m'avoir accueillie au Centre de Recherche et de Développement sur les Aliments (CRDA), pour sa compétence et sa patience.

Je remercie mon co-directeur, le docteur Serge Messier, de m'avoir reçue dans les laboratoires de la Faculté de Médecine Vétérinaire (FMV).

Je tiens à remercier plus particulièrement mon oncle, Rachid Chérifi Ph. D., pour son soutien continu, son encouragement et son aide.

Je remercie mes parents, ma famille et mes amis pour leurs encouragements.

Je remercie également le CORPAQ pour son appui financier, le personnel et les étudiants du CRDA. Et enfin, les étudiants de la FMV pour leur gentillesse.

CHAPITRE I

INTRODUCTION

Escherichia coli O157:H7 a été reconnu comme bactérie pathogène en 1982. Les trois maladies majeures qui peuvent être causées par ce pathogène sont: la colite hémorragique, le syndrome urémique hémolytique et le syndrome thrombotique thrombocytopenique (Getty et al., 2000). La consommation de bœuf haché, de lait, de cidre de pomme, de laitue, de radis ou d'eau a été reliée à tous les épisodes causés par *E. coli* O157:H7.

Le premier épisode de toxi-infection alimentaire à la bactérie *E. coli* O157:H7 qui a été lié à la consommation de saucisson sec (salami) a eu lieu aux États-Unis en 1994 (CDC, 1995). En réponse à cette première implication du saucisson fermenté-séché dans une toxi-infection alimentaire et vu que *Escherichia coli* O157:H7 résiste au procédé de fermentation-séchage, le comité d'étude *Blue Ribbon Task Force* on *E. coli* O157:H7 de la *National Cattlemen's Beef Association* (NCBA), qui devait évaluer les besoins immédiats de recherche en vue de trouver des solutions à ce nouveau problème, a chargé un groupe de chercheurs du *Food Research Institute* (FRI) de l'Université du Wisconsin d'effectuer des recherches sur la destruction de *E. coli* O157:H7 dans les saucissons secs et semi-secs. Les paramètres considérés étaient le diamètre des saucissons, la température, l'intensité de la fermentation et le degré de séchage. Ils ont fini par conclure que:

- 1) En général, la fermentation et le séchage combinés ont amené des réductions de 2.0 à 2.5 log₁₀ UFC/g du pathogène;

2) Le maintien pendant sept jours à une température de fermentation relativement élevée, avant de passer à l'étape de séchage, a considérablement augmenté l'efficacité des procédés vis-à-vis la destruction de *E. coli* O157:H7 et a généralement permis d'obtenir la réduction de 5D (1D correspond à une destruction de 90% de la population de l'agent pathogène) recherchée (32.2°C pour les petits diamètres; 43.3°C pour les petits et les gros diamètres);

3) Une cuisson modérée des produits avant séchage a presque toujours suffi pour obtenir la réduction recherchée du pathogène;

4) Les procédés à risque élevé sont ceux utilisant des produits bovins, un pH élevé, et un compte initial élevé de coliformes totaux (Nickelson et al., 1996)

Par la suite, le *Food Safety Inspection Service* (FSIS) et l'*United States Department of Agriculture* (USDA) ont adopté une réglementation pour contrôler *E. coli* O157:H7 en 1996 exigeant des manufacturiers de saucissons secs contenant de la viande de bœuf, de mettre en place un procédé qui réalise une réduction de 5 log₁₀ UFC/g du pathogène (1999). Ce règlement comprend 5 options qui consistent à:

- Inclure dans le procédé de fabrication des saucissons l'un des procédés thermiques reconnus pour contrôler *E. coli* O157:H7 (option 1; ACIA, 2000);

- Utiliser un procédé de fabrication (combinaison de fermentation, chauffage, chambrage et/ou séchage) qui a été scientifiquement validé pour assurer une réduction de 5D dans le cas de *E. coli* O157:H7 (option 2; ACIA, 2000);

- Échantillonner et procéder à un dépistage microbiologique des produits finis de chaque lot de production avant l'expédition et retenir les produits en attendant les résultats (option 3; ACIA, 2000);

- Mettre en place, dans l'établissement, un système HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*) incluant l'analyse de la viande et de la mûlée crues et en employant un procédé de fabrication (fermentation et chambrage, chauffage et/ou séchage) qui est

scientifiquement validé pour assurer une réduction d'au moins 2D dans le cas d'*E. coli* O157:H7 (option 4; ACIA, 2000);

- Employer un procédé de fabrication qui est scientifiquement validé comme étant efficace garantissant une réduction de 5D de *E. coli* O157:H7 (option 5; ACIA, 2000).

Pour satisfaire aux exigences de la nouvelle réglementation, de nombreuses études de validation ont été effectuées pour différents produits de saucissons secs et semi-secs, pour évaluer les procédés existants et les améliorer. Ces études ont permis de conclure que la fermentation et le séchage résultent en une destruction totale de 0.3 à 2.1 log₁₀ UFC/g (Calicioglu et al., 2001; Faith et al., 1998-a; Faith et al., 1998-b; Hinkens et al., 1996; Nissen et Holk, 1998; Riordan et al., 1998). Seul l'entreposage à température pièce ou un traitement thermique allant jusqu'à 60 min à des températures situées entre 46 et 63°C et précédant le séchage ont permis d'atteindre les 5 log₁₀ UFC/g requis (Calicioglu et al., 1997; Calicioglu et al., 2001; Chikthimmah et al., 2001; Ellajosyula et al., 1998; Getty et al., 2000; Hinkens et al., 1996; Naim et al., 2003). Ces deux solutions fonctionnent mais ont des inconvénients. Effectivement, l'entreposage induit un coût additionnel non négligeable pour les manufacturiers de saucissons secs ou semi-secs en immobilisant une quantité importante de produits. Le traitement thermique, quant à lui, a des effets néfastes sur la texture, la couleur et la rancidité des produits qui ne tolèrent pas le chauffage (produits de tradition européenne comme le salami de Gêne).

Par ailleurs, plusieurs chercheurs (Barkate et al., 1993; Cabedo et al., 1996; Davey, 1989, 1990; Davey et Smith, 1989; Dorsa et al., 1996, 1997; Gill et al., 1997, 1999, 2000; Gorman et al., 1995; Kochevar et al., 1997; Smith, 1992; Smith et Graham, 1978; Sofos et al., 1998; Thompson et al., 1979) ont pu obtenir une réduction moyenne de 1-3 log₁₀ des bactéries *E. coli* sur des échantillons d'agneau, de mouton, de carcasses de bœuf ou de carcasses d'agneau, inoculés en surface, en utilisant l'eau chaude par immersion, jet, aspersion ou à l'aide de vapeur.

Ces études nous suggèrent que l'utilisation de l'eau chaude pourrait être une alternative intéressante au chauffage ou à l'entreposage des saucissons fermentés-séchés. Nous avons donc entrepris une étude pour évaluer la faisabilité d'inclure un traitement des

viandes à l'eau chaude à 85°C avant l'entrée en fabrication et pour en évaluer l'efficacité.

CHAPITRE II

REVUE DE LA LITTÉRATURE

II.1. Connaissances relatives à *E. coli* O157:H7

II.1.1. *Escherichia coli* et ses propriétés

II.1.1.1. Généralités

Escherichia coli (*E.coli*) a été découverte par le docteur allemand Theodor Escherich, (Bell et Kyriakides, 1998), lors de ses travaux sur les bactéries dans les selles des nouveaux-nés. Son nom actuel lui a été donné en 1919 par Castellani et Chalmers (Grimont, 1987). Le genre *Escherichia* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Son nom provient du fait qu'il a été fréquemment isolé du tube digestif ou des fèces des mammifères (Greathorex et Thorne, 1994).

E. coli fait partie de la microflore bactérienne normale du tractus digestif de l'homme ainsi que de celle de la plupart des animaux à sang chaud (Ghebru, 1988). Chez l'homme, on retrouve *E. coli* principalement dans le gros intestin (Laskin et Lechevalier, 1994). *E. coli* représente près de 80 % de la microflore aérobie (Ghebru, 1988). Même si la majorité des souches sont commensales, quelques unes sont à l'origine de pathologies intestinales (Levine, 1987) ou extra-intestinales (Vernozy-Rozand et Montet, 2001).

E. coli, et plus globalement les coliformes, sont recherchés dans les aliments comme indicateurs de contamination fécale; leur présence fournissant une indication sur l'éventuelle contamination de l'aliment par des bactéries pathogènes d'origine digestive, notamment les salmonelles (Laskin et Lechevalier, 1994).

E. coli est une bactérie à coloration Gram négatif, non sporulée, possédant des flagelles péritriches. Elle est aéro-anaérobie facultative, sa température optimale de croissance est de 37°C. Tous les isolats d'*E. coli* réduisent les nitrates en nitrites, tous sont oxydase négatifs et catalase positifs (Bell et Kyriakides, 1998; Sussman, 1985). Selon Doyle (1989), 93 % des *E. coli* isolés chez l'homme fermentent le sorbitol en moins de 24 h.

Il existe une grande diversité génétique à l'intérieur de l'espèce *E. coli*. On retrouve environ 700 sérotypes (Sungsu et al., 1999). Le classement en sous-groupes dans cette espèce est basé sur des analyses antigéniques, sérotypiques ainsi que sur la composition de l'ADN (acide désoxyribonucléique). Le schéma de sérogroupage proposé par Kauffman (1930) est basé sur les antigènes somatiques O, capsulaires K, flagellaires, H. Actuellement on dénombre 173 antigènes O, 103 antigènes K et 56 antigènes H.

II.1.1.2. Facteurs de pathogénie

Comme pour les autres bactéries pathogènes, de nombreux facteurs interviennent dans le pouvoir pathogène de *E. coli*, la combinaison d'un ensemble de facteurs étant le plus souvent en cause. Les gènes de virulence, comme les gènes encodant des adhésines, des toxines, des invasines, des systèmes de sécrétion, d'acquisition du fer, de synthèse d'antigène O ou de capsule, etc, sont contenus dans les « îlots de pathogénicité » (PAI: *pathogenicity island*) (Kaper et Hacker, 1999). Les îlots de pathogénicité sont des régions d'ADN, souvent instables, qui sont retrouvées chez les bactéries pathogènes, mais absentes chez leurs homologues non-pathogènes. (Slayers et Whitt, 1994).

Afin d'exercer leur pouvoir pathogène les *E. coli* doivent atteindre leurs cellules cibles qui sont les cellules épithéliales, adhérer à la muqueuse intestinale grâce à des adhésines (comme les fimbriae de type 4), la coloniser et s'y multiplier. La colonisation se fait en transitant à travers le tractus intestinal. Les bactéries pathogènes doivent donc être capables de résister à l'acidité de l'estomac, aux substances inhibitrices sécrétées par la flore normale et aux protéines solubles comme les lysosymes, les protéases, les lipases, les sels biliaires, les immunoglobulines IgA et à la phagocytose (Sussman, 1985).

La catégorisation des *E. coli* pathogènes qui causent les maladies intestinales en groupes spécifiques est basée sur les propriétés de virulence, les mécanismes de pathogénie, les syndromes cliniques et les groupes distincts O, H. Ces groupes incluent:

Les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC), entéro-hémorragiques (EHEC), entéro-toxinogènes (ETEC), entéro-invasifs (EIEC), entéro-aggrégatifs (EaggEC) ou (EAEC) et *diffuse-adhering E. coli* (DAEC) (Doyle et al., 1989).

Chacun de ces groupes possède des traits génétiques, des caractéristiques épidémiologiques spécifiques et regroupe plusieurs sérotypes (Bell et Kyriakides, 1998). Ils se caractérisent par la capacité de produire une entérotoxine dont l'action sur les entérocytes perturbe les fonctions d'absorption assurées normalement par la muqueuse intestinale.

Les souches EPEC, cause majeure de diarrhée dans les pays en voie de développement (Nataro et Kaper, 1998), colonisent la muqueuse de l'intestin grêle (jéjunum) et sont caractérisées par une particularité histopathologique: la formation de lésions de type attachant/effaçant (A/E) aux microvillosités intestinales, qui permet l'adhérence intime entre la bactérie et les cellules intestinales.

Les souches EHEC partagent le même caractère de pathogénie avec les souches EPEC, c'est-à-dire celui de l'attachement et effacement (A/E) à la surface épithéliale du gros

intestin (Tzipori et al., 1989). La différence entre ces deux souches concerne l'acquisition d'autres facteurs de virulence particuliers qui leur permettent de se distinguer l'une de l'autre. La capacité des souches EHEC à engendrer des lésions A/E est suffisante pour causer la diarrhée. La présence de la toxine (*Shiga-like*) (SLT ou Stx) serait nécessaire pour entraîner la diarrhée sanguinolente ou la colite hémorragique pouvant engendrer aussi des problèmes rénaux (Nataro et Kaper, 1998).

Pour ce qui est des souches ETEC, elles ont la capacité de produire au moins une toxine (thermo-stable: ST, ou thermo-labile: LT) codée par un plasmide de virulence. La bactérie colonise la surface de la muqueuse du petit intestin grâce à des fimbriae et cause la maladie (diarrhée) en synthétisant ses entérotoxines. La toxine LT est sensible à la chaleur et comporte une homologie de structure et de fonction avec l'entérotoxine cholérique (*Cholera toxin*). Certaines ETEC ont aussi d'autres facteurs de colonisation: les CFA (*colonization factor antigen*) qui sont spécifiques à l'humain (Nataro et Kaper, 1998).

Les souches EIEC sont très proches génétiquement et biochimiquement de l'espèce *Shigella* même pour ce qui est de leur mécanisme de pathogénie. En effet, elles pénètrent les cellules épithéliales de l'hôte, cette pénétration est suivie par la lyse de la vacuole endocytaire englobant la bactérie, elles s'y multiplient, se déplacent ensuite dans le cytoplasme pour finalement envahir les cellules épithéliales voisines (Nataro et Kaper, 1998). Quant aux souches EAEC, elles adhèrent aux cellules Hep-2 par une adhérence agrégative: elles s'agglutinent entre elles d'une façon très régulière et spécifique, dans une configuration qui rappelle un mur de pierres imbriquées les unes sur les autres (Clarke, 2001). Elles sécrètent une hémolysine ainsi qu'une entérotoxine, cette dernière cause une exfoliation des cellules intestinales et la mort cellulaire. Le mécanisme d'action des souches EAEC est peu connu, mais on sait toutefois qu'elles stimulent la sécrétion de mucus chez l'hôte (Nataro et al., 1998; Slayers et al., 1994). Très peu de choses sont connues en ce qui concerne le mécanisme de pathogénie du dernier groupe (DAEC) qui est connu sous le nom de DHEC (*diarrhea-associated hemolytic E. coli*). Toutefois, les souches DAEC ont la capacité d'induire des projections

(*finger-like projections*) qui entourent les bactéries et leur donnent une certaine protection contre la gentamycine (Nataro et Kaper, 1998).

II.1.2. *Escherichia coli* O157:H7

E. coli O157:H7 est le chef de file des *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) et possède plusieurs caractéristiques inhabituelles chez *E. coli*. Mentionnons entre autres l'incapacité de croître à 44.5°C, l'inhabilité à fermenter le sorbitol en 24 h et à produire la β -glucuronidase (c'est-à-dire inhabilité à hydrolyser le 4-methyl-umbelliferyl-D-glucuronide) (Doyle et al., 1989, 1991). L'origine de la virulence de *E. coli* O157:H7 serait l'insertion, dans son chromosome, d'un îlot de pathogénicité et de l'acquisition de deux toxines, la première par transduction et l'autre par l'insertion d'un plasmide (Sungsu et al., 1999; Donnenberg et Whittam, 2001).

La dose infectieuse de *E. coli* O157:H7 est très faible. Par exemple lors d'un épisode dans l'ouest américain, l'analyse du bœuf haché congelé associé à cet épisode a montré qu'il y avait entre 0.3 et 15 cellules/g (Doyle et al., 1997). Les principaux symptômes d'une infection à *E. coli* O157:H7 sont des crampes abdominales suivies un à deux jours plus tard par une diarrhée non sanguinolente qui se développe après un ou deux jours en diarrhée sanguinolente. Ces symptômes durent entre quatre et dix jours. Ils apparaissent un à deux jours ou même parfois trois à cinq jours après la consommation d'aliments contaminés et ils persistent de plusieurs jours à quelques semaines (Doyle, 1991; Tarr, 1995). Une infection à *E. coli* O157:H7 peut entraîner des conséquences graves, en particulier chez les jeunes enfants (5 ans et moins) et les personnes âgées (65 ans et plus) (Doyle et al., 1997) vu leur système immunitaire peu développé ou affaibli, respectivement. Chez les enfants, le syndrome hémolytique et urémique (SHU), principale cause d'insuffisance rénale, est caractérisé par une destruction des globules rouges, provoquant ainsi de l'anémie. On estime que 10 % des enfants de moins de 10 ans, exposés à *E. coli* O157:H7, développeront le SHU. Trois à 5 % de ces enfants décéderont et 10 % des survivants auront des complications rénales à vie. Chez les adultes, le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT), un syndrome ressemblant

histologiquement au SHU, est accompagné de troubles nerveux. (Sungsu et al., 1999; Doyle et al., 1997; Getty et al., 2000).

L'adhésion de *E. coli* O157:H7 à la paroi intestinale est importante car cette bactérie ne pénètre pas dans le système circulatoire (Riley et al., 1983). *E. coli* O157:H7 colonise le tractus intestinal, le caecum et le côlon essentiellement. La pathogénie de la colonisation de l'intestin comprend trois étapes (Vernozy-Rozand et Montet, 2001):

La première est la colonisation de l'intestin grâce à des adhésines bactériennes; la seconde est un réarrangement du cytosquelette de la cellule avec pour principale conséquence la disparition des microvillosités intestinales et la dernière consiste en l'adhérence intime de la bactérie à la cellule.

E. coli O157:H7 se lie de façon intime aux cellules épithéliales intestinales par formation de pili et probablement par d'autres fimbriae (fimbriae de type 4) (Doyle et al., 1989; Getty et al., 2000). L'adhérence de la bactérie déclenche un réarrangement du cytosquelette des cellules épithéliales incluant une augmentation de la concentration du calcium intracellulaire et la libération de l'inositol phosphate ainsi qu'une phosphorylation tyrosine de la protéine de la cellule épithéliale (90 kDa) qui mène à l'effacement des microvillies (Doyle et al., 1989). Les gènes responsables de la formation de lésions attachement-effacement (A/E) sont retrouvés dans un îlot de pathogénicité de 43 359 pb chez les EHEC: « *locus of enterocyte effacement* » ou LEE constitué de quatre opérons (Mc Daniel et al., 1995; Kaper et Hacker, 1999) et dont la régulation est contrôlée par le produit du gène *Per* (*Plasmid encoded regulator*), situé sur le plasmide EAF (*EPEC adherence factor plasmid*). Le gène *Per* serait impliqué dans la régulation des quatre opérons du locus LEE ainsi que des protéines sécrétées EspABD (*E. coli secreted proteins*). Une fois l'expression du premier opéron de LEE (LEE1) terminée, celui-ci code pour un régulateur nommé Ler (*LEE-encoded regulator*), qui à son tour activerait la transcription des autres opérons LEE soit LEE2, LEE3 et LEE4. Sur ce locus se trouve le gène *Tir* qui code pour la protéine Tir (*Translocated intimin receptor*) de 90 kDa. Cette protéine est transloquée dans la membrane de la cellule hôte via le

SSTT (Système de sécrétion de type 3) et qui après phosphorylation agit comme récepteur de l'intimine (Kenny et al., 1997; Frankel et al., 1998; Kaper et al., 1998; Kenny, 1999). C'est cette protéine sécrétée qui déclencherait également l'accumulation d'actine et serait à l'origine de différents changements physiologiques avec, entre autres, le relargage de Ca^{2+} et l'activation de différentes enzymes: Phospholipase C, protéine kinase C (Kaper et al., 1998). Les huit gènes *esc* (*E. coli secretion*) codants pour le système de sécrétion de type 3 se retrouvent également sur le LEE (Hartland et al., 1999; Kenny et al., 1997). On retrouve également sur le LEE le gène *eae* (*E. coli attaching and effacing*) qui encode une adhésine de (94-97 kDa) insérée dans la membrane externe et nommée intimine (Jerse et al., 1990; Jerse et Kaper, 1991). Cette intimine provoque une accumulation de microfilaments d'actine plus ou moins dépolymérisés, aux zones de contact cellules-bactéries causant des lésions d'attachement-effacement dans la muqueuse intestinale (Frankel et al., 1998; Kaper et al., 1998; Pearson et al., 1989; Zhao et al., 1995).

Parmi les protéines encodées par le LEE: la protéine EspA (protéine de 25 kDa) forme de grands filaments sur la surface bactérienne qui disparaissent une fois que les lésions A/E sont formées (Knutton et al., 1998). Les filaments EspA sont aussi nécessaires pour la translocation des protéines Tir, EspB et EspD. Les protéines EspB et EspD ont pour rôle de transloquer Tir à l'extérieur de la bactérie.

La majorité des souches *E. coli* O157:H7 produisent la toxine STX2 (*Shiga-Like Toxin*) avec ou sans la toxine STX1 (Sungsu et al., 1999). STX1 (ou VT1) est immunologiquement et génétiquement reliée à la toxine Stx produite par *Shigella dysenteriae* type1 (Doyle et al., 1989). Ces toxines sont composées de deux sous-unités A et B organisées en un seul opéron. Cette sous-unité A comprend deux parties: A1 (27 kDa) et A2 (4 kDa) (Sandvig et Van Deurs, 1996). L'unité A1 est une enzyme qui coupe le lien glycosidique au site 4234 de l'ARN ribosomal 28S appartenant à la sous-unité ribosomale 60S des cellules hôtes, bloquant ainsi l'élongation peptidique (Endo et al., 1988; Head et al., 1991; Igarashi et al., 1987; Ogasawara et al., 1988). Les 5 sous-unités

B (7.7 kDa) fixent, quant à elles, la toxine au niveau d'un glycolipide membranaire des cellules, appelé globotriacylcéramide (Gb3) (Kaper et Haker, 1999).

Les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins et les cellules épithéliales, particulièrement celles du côlon et des glomérules du rein, sont riches en globotriacylcéramide. Elles sont donc des cibles privilégiées des vérotoxines. Ainsi, dès que la toxine est attachée au récepteur cellulaire par les sous-unités B, elle rentre dans la cellule. Cette toxine est présente dans une vésicule qui fusionne avec les lysosomes, ce qui entraîne la dégradation de la toxine et la libération de la sous-unité A qui est dès lors scindée en deux parties (A1 et A2). L'unité A1 inhibe la synthèse protéique entraînant, dans certains cas, la mort cellulaire. Les gènes de structure codant les toxines STX1 et STX2 sont portés par les bactériophages. Les souches bactériennes lysogéniques acquièrent la capacité de produire la toxine correspondante. (Strockbine et al., 1988).

Dans le cas du SHU, les toxines STX, produites dans l'intestin, sont transloquées dans la circulation sanguine. Lorsqu'elles atteignent les tissus rénaux, ces toxines endommagent les cellules endothéliales des glomérules. La filtration par les glomérules est donc réduite et cause alors un mauvais fonctionnement des reins (Nataro et Kaper, 1998).

II.1.3. Toxi-infections alimentaires provoquées par *E. coli* O157:H7

Le tractus intestinal constitue l'habitat primaire de *E. coli* chez l'homme et les autres animaux à sang chaud. La majorité des sérogroupes sont considérés comme des habitants normaux de l'intestin mais plusieurs sérogroupes peuvent être des agents pathogènes. Les infections à *E. coli* sont transmises via trois voies: directement des animaux, incluant les animaux domestiques et les animaux de la ferme, de personne à personne ainsi que par l'ingestion d'aliments contaminés ou d'eau contaminée (eau de piscine) (Doyle et al., 1989; Bell et Kyriakides, 1998). Aux États-Unis, depuis les cinq dernières années, les différents mode de transmission se répartissent comme suit: alimentaire (66 %), inter humaine (20 %), par l'eau de boisson (8 %), lors de baignade

(4 %) et par contact avec les bovins (2 %) (Griffin, 2000). En ce qui concerne les pics de toxi-infections à *E. coli* O157:H7, ils ont été rapportés de mai à octobre. Pour ce qui est de la distribution géographique, on les retrouve dans le monde entier mais principalement en Amérique du Nord, en Europe, en Afrique du Sud et au Japon (Doyle et al., 1989).

II.1.3.1. Produits d'origine animale

II.1.3.1.1. Viande

La plupart des anadémies d'infections à *E. coli* O157:H7 ont été reliées épidémiologiquement à la consommation de denrées animales ou d'origine animale. Ainsi, plusieurs épidémies de colite hémorragique et de syndrome hémolytique et urémique dues à *E. coli* O157:H7 ont été associées à la consommation de viande de bœuf ou de préparations à base de viande de bœuf. Ce dernier semble constituer le principal réservoir de *E. coli* O157:H7 (Griffin et Tauxe, 1991; Tarr, 1999).

Ce sont des galettes de bœuf haché contenues dans des sandwiches qui ont été à l'origine des deux premières épidémies de 1982 aux États-Unis (Riley et al., 1983). La viande de bœuf continue à être la source la plus impliquée dans les toxi-infections alimentaires à *E. coli* O157:H7. Ainsi, la plus grande épidémie à *E. coli* O157:H7 est survenue en janvier 1993 dans l'état de Washington. Quelques cas ont également été mis en évidence dans le Nevada, en Californie et dans l'Idaho. Tous ces accidents étaient rattachés à une même origine alimentaire, des hamburgers commercialisés par des restaurants appartenant à une même chaîne de restauration rapide. Au total, 732 personnes ont été infectées dont 195 ont été hospitalisées et 55 ont développé un SHU ou un PTT; il y a eu quatre morts (CDC 1993). Depuis lors, d'autre épidémies à *E. coli* O157:H7 sont apparues aux États-Unis et ont mis également en cause du bœuf haché insuffisamment cuit (Bartleson et al., 1994; Grimm et al., 1995).

Malgré le fait que la plupart des toxi-infections à *E. coli* sont reliées à la consommation de bœuf haché, des études montrent que *E. coli* O157:H7 peut être isolé dans le porc (1.5 %), la volaille (1.5 %) et l'agneau (2.0 %) vendus au détail (Doyle et Schoeni, 1987).

II.1.3.1.2. Produits laitiers

Différents produits laitiers ont été responsables d'infections à VTEC (*E. coli* vérorotoxinogène): le lait cru mais également des produits transformés comme le beurre, les yogourts et des fromages frais. Dans l'ouest du Yorkshire, proche de Sheffield, le cas de 20 malades a été associé à de la crème non pasteurisée en octobre 1998 (Vernozy-Rozand et Montet, 2001).

II.1.3.1.3. Ovoproduits

Les ovoproduits ont également été impliqués dans des toxi-infections alimentaires. En effet, en mars 1993 dans l'État de l'Oregon (États-Unis), une quarantaine de personnes ont été malades après avoir dîné dans le même restaurant. L'enquête épidémiologique a relié cette toxi-infection alimentaire collective à la consommation de mayonnaise (Erickson, 1995; Vernozy-Rozand et Ray -Gueniot, 1997).

II.1.3.1.4. Saucissons fermentés-séchés

Des toxi-infections à *E. coli* O157:H7 liées à la consommation de saucissons fermentés-séchés ont été rapportées aux États-Unis en 1994. Vingt individus ont été indisposés à Washington dont trois ont été hospitalisés et un enfant de six ans a souffert du SHU. De même, trois individus ont été incommodés en Californie et tous ont été hospitalisés, parmi eux un enfant de quatre ans a souffert du SHU. L'aliment impliqué était un salami (Getty et al., 2000). En 1995, des cas d'infection ont été signalés en Australie, 23 enfants étaient du nombre et ont tous développé le SHU. L'aliment impliqué était un saucisson

fermenté semi-sec (Getty et al., 2000; Bell et Kyriakides, 1998). Des cas de toxi-infections associées aux saucissons fermentés-séchés ont été également déclarés au Canada, 39 cas en Ontario en 1998 et 38 cas en Colombie-Britannique en 1999 (MacDonald et al., 2001).

II.1.3.2. Produits d'origine non animale

Aux États Unis, des fruits et des légumes (cidre de pommes non pasteurisé, salade...) ont été impliqués dans 19 % des 75 anadémies survenues entre 1982 et 1995.

En 1985, en Angleterre, une infection d'origine alimentaire a été reliée épidémiologiquement à une préparation à base de pommes de terre. Celles-ci auraient pu être contaminées par des matières fécales d'origine bovine (Tarr, 1995).

II.1.4. Les facteurs qui affectent la croissance de *E. coli* O157:H7

II.1.4.1. pH et tolérance à l'acidité

E. coli O157:H7 est exceptionnellement tolérant à un environnement acide (Sungsu et al., 1999). *E. coli* O157:H7 peut croître à un pH se situant entre 4.0 et 4.5 (Buchanan et Bagi, 1994) et peut survivre dans le cidre de pomme à un pH situé entre 3.6 et 4.0 (Zhao et al., 1993). En effet, la première infection à O157:H7 confirmée, associée avec un aliment acide, s'est produite après consommation de cidre de pomme contaminé avec O157:H7 au Massachusetts en 1991 et a impliqué 23 cas (Sungsu et al., 1999).

Quand 10^5 UFC/mL de *E. coli* O157:H7 sont inoculés dans du cidre de pomme avec un pH situé entre 3.6 et 4, cette population demeure stable pendant 12 jours à 8°C. Et quand le lait est inoculé avec 10^3 et 10^7 UFC/mL de *E. coli* O157:H7, l'organisme survit au processus de fermentation du yogourt à 42°C pendant cinq heures et à un entreposage d'une semaine à 4°C (Sungsu et al., 1999).

La résistance de *E. coli* O157:H7 à l'acide est déclenchée par son passage en phase stationnaire, la privation de nutriments ou d'oxygène (anaérobiose) et, à un degré moindre, l'adaptation préalable à un environnement acide (Small et al., 1994; Arnold et Kaspar, 1995; Cheville et al., 1996). Il a été démontré dans plusieurs études que si une bactérie est soumise à plusieurs stress, elle développe une certaine protection. En fait, ces derniers lui permettent d'être protégée (protection croisée) contre d'autres stress éventuels (Cheville et al., 1996; Leyer et al., 1995). L'entrée en phase stationnaire, en particulier, provoque la fabrication d'une trentaine de protéines de stress, contrôlée par le gène *rpoS*, qui protègent l'organisme contre l'acidité, la pression osmotique (présence de sel) et la chaleur dans les saucissons fermentés (Cheville et al., 1996).

Chang et Cronan (1999) ont montré que, chez *E. coli* O157:H7, le principal facteur contribuant à la résistance à l'acidité, est une modification de la couche bi-lipidique de la membrane cellulaire. Il y a alors formation d'un groupement cyclopropane, suite à l'ajout d'un groupement méthylène sur la double liaison des phospholipides (acides gras insaturés, e.g., acide palmitoléiques, vaccéniques et oléiques). Cette modification réduit la perméabilité de la membrane cellulaire aux acides faibles non dissociés (e.g., butyrate, acétate, proprionate) et permet ainsi à la bactérie de tolérer un choc acide. La formation de cyclopropane est régulée par le facteur de transcription alternatif σ^s (*rpoS*) produit, normalement, au début de la phase stationnaire (Small et al., 1994; Lin et al., 1996; Cheville et al., 1996; Price et al., 2000). D'autres facteurs contribuant à la résistance à l'acidité incluent les mécanismes «*oxidate*», «*arginine-dependent*», et «*glutamate-dependent*». Ces trois mécanismes fournissent à *E. coli* O157:H7 une protection contre les effets bactéricides d'une multitude d'acides faibles (Lin et al., 1996) et plusieurs souches se sont avérées capables de survivre à de faibles pH (1.5-3.0), similaires au pH du jus gastrique (Arnold et Kaspar, 1995; Benjamin et Datta, 1995; Buchanan et Edelson, 1996). Normalement, les conditions acides des aliments et du jus gastrique constituent une barrière à l'entrée dans le corps des pathogènes sensibles à l'acidité, alors que la tolérance à l'acide de ce sérotype améliore sa capacité de survie dans les aliments acides et le jus gastrique (Sungsu et al., 1999).

II.1.4.2. Sel et nitrites

Conner (1992) a observé que les souches *E. coli* O157:H7 sont capables de croître dans du bouillon TSB (*tryptic soy broth*) et PB (*poultry extract broth*) à une concentration supérieure à 8 % de NaCl quand ils sont incubés à 37°C. Cependant, quand les souches sont incubées à 10°C la croissance est inhibée à une concentration supérieure à 4 % de NaCl dans le TSB et supérieure à 6 % de NaCl dans le PB. Glass et al. (1992) ont observé aussi que *E. coli* O157:H7 est incapable de croître dans du bouillon TSB contenant une concentration de sel supérieure à 6.5 %. Hinkens et al. (1996) ont démontré que *E. coli* O157:H7 est capable de survivre dans du pepperoni ayant un taux de 4.4 % de sel. Des résultats similaires ont été rapportés par Riordan et al. (1998) dans du pepperoni contenant 4.8 % de NaCl. La capacité de NaNO₂ à inhiber *E. coli* O157:H7 paraît plus dépendante du pH, de la concentration en sel et de la température que de la concentration en nitrite de sodium (Getty et al., 2000).

II.1.4.3. Activité de l'eau

L'activité de l'eau (a_w) est définie par le ratio de la pression de vapeur d'eau contenue dans l'aliment par rapport à l'eau pure à la même température (Dabin et Jussiaux, 1994).

Le taux de croissance maximum de la plupart des bactéries se réalise à une a_w se situant entre 0.990 et 0.995. L' a_w minimum pour la croissance de *E. coli* est de 0.95 (Sperber, 1983). Cependant, certaines souches de *E. coli* O157:H7 sont hautement résistantes à une a_w d'environ 0.9, tel que démontré dans l'épisode de toxi-infection alimentaire déclarée au Japon en 1996 (Sungsu et al., 1999).

II.1.4.4. Température

Selon Doyle et Schoeni (1984), la température maximale permettant le développement de *E. coli* est de 45°C. Quant à la température optimale de croissance, elle est de 37°C.

Les mêmes auteurs constatent que la croissance de *E. coli* O157:H7 est faible à 44-45.5°C. Cependant, la température la plus basse qui permet à *E. coli* O157:H7 de croître se situe entre 8 et 10°C (Buchanan et Bagi, 1994). *E. coli* O157:H7 peut survivre à des températures inférieures à -80°C dans le bœuf haché. La destruction cellulaire est très limitée lors d'un stockage pendant 9 mois à une température de -20°C (Doyle et Schoeni, 1984). Dans une autre étude, seulement 9 des 23 échantillons contenant *E. coli* O157:H7 ont été retrouvés positifs après un an de stockage à température de congélation (Milley et Sekla, 1993). Comme pour d'autres bactéries, l'intensité des lésions cellulaires ou la mort cellulaire générées par les températures en dessous de zéro dépend de la température de stockage et des éventuelles remontées en température.

Pour ce qui est de la réfrigération, les VTEC peuvent se développer en laboratoire à des températures situées entre 6.5 à 7.2°C lorsque les autres conditions sont favorables à la multiplication du germe (Alcock, 1987; Davies et al., 1992; Elliott, 1963). La croissance dans les aliments a également été observée à des températures de l'ordre de 8°C dans des cidres de pommes non fermentés ou à 12°C dans des salades (Abdul Raouf et al., 1993). Une réfrigération adéquate (inférieure à 5°C) devrait empêcher la multiplication d'*E. coli* O157:H7. Toutefois, le froid pourrait permettre la survie de cette bactérie lorsque les conditions de pH et les teneurs en NaCl sont défavorables à la croissance bactérienne (Zhao et al., 1993).

Les effets de la température, du pH et de la teneur en chlorure de sodium sur la thermorésistance d'*E. coli* O157:H7 peuvent actuellement être prédits en utilisant des modèles mathématiques. Betts et al. (1993) ont étudié la thermorésistance d'*E. coli* O157:H7 dans de la viande de porc et de poulet à des températures allant de 54 à 64°C. La plus haute valeur du «D» (durée nécessaire pour détruire 90 % du nombre de germes présents à une température de chauffage donnée) obtenue dans le poulet homogénéisé à 64°C était de 0.46 min. La valeur «z» (élévation de température nécessaire «en degrés» pour diviser par dix le temps requis pour inactiver complètement une population quelconque d'une bactérie donnée) était de 7.3°C. Dans une étude canadienne, il a été démontré que la pasteurisation du lait (72°C pendant 16.2 s) a permis d'éliminer plus de

10 000 *E. coli* O157:H7 par millilitre (D'Aoust et al., 1988). Bien qu'*E. coli* O157:H7 puisse se développer tout au long de la fabrication du fromage «*Cottage*», cette bactérie est détruite lors du chauffage du caillé à 57°C pendant 90 min (Arocha et al., 1992). À l'instar des autres bactéries, la thermorésistance d'*E. coli* O157:H7 peut être modifiée sous l'action de nombreux facteurs. Elle augmente en absence d'oxygène (Murano et Pierson, 1992). Les souches de VTEC sont thermorésistantes lorsqu'elles sont en phase stationnaire de croissance, d'après Todd et al. (1993). Comme beaucoup d'autres bactéries, la thermorésistance d'*E. coli* O157:H7 varie en fonction des aliments. Cette thermorésistance est plus importante dans des produits gras que dans les produits maigres. *E. coli* O157:H7 apparaît plus thermorésistante dans des solutions sucrées que dans des solutions salées ayant la même valeur d'activité en eau (a_w).

II.2. Problèmes associés aux procédés de fabrication de saucissons fermentés-séchés

II.2.1. Description générale du produit

L'utilisation du procédé fermentation-séchage concernant la préparation de produits carnés stables à température pièce remonte à l'antiquité. Cependant, la production de ces produits a beaucoup changé dans le temps (Dabin et Jussiaux, 1994). Dans l'industrie alimentaire moderne, on utilise des procédés similaires aux méthodes artisanales traditionnelles. Ces dernières sont par contre modifiées afin d'accélérer la fermentation, de renforcer l'innocuité et de standardiser les produits (Lacasse, 1995). En effet, le saucisson sec, comme le vin ou les fromages, a été fabriqué pendant longtemps sans l'apport de ferments extérieurs. Les micro-organismes présents dans les viandes triées suffisaient pour assurer la fermentation et la maturation. De temps à autre, celles-ci ne se déroulaient pas comme prévu et les produits pouvaient devenir impropres à la consommation. Pour limiter la reproduction de tels incidents, les fabricants ont été amenés à utiliser desensemencements de micro-organismes choisis et sélectionnés pour

certaines actions spécifiques et bénéfiques pour l'évolution des produits (Dabin et Jussiaux, 1994).

Les saucissons fermentés-séchés sont fabriqués partout dans le monde, mais l'Europe reste le producteur et le consommateur majeur de ces produits (Campbell-Platt et Cook, 1995). Ils sont classés en deux catégories: les saucissons secs et les saucissons semi-secs. Les plus répandus sont les saucissons secs tels que, le salami de Gêne, le salami séché d'origine italienne (Ricke et Keeton, 1997). En ce qui concerne les saucissons semi-secs, les plus connus sont le Saucisson d'été, le Mettwurst et le Cervelat (Getty et al., 2000). La différence entre ces deux catégories de saucissons est que le premier contient un taux d'humidité se situant entre 25 et 40 % et peut être conservé à température pièce ($a_w \leq 0.9$ et $pH \leq 5.3$) alors que le second a un taux d'humidité entre 45 et 50 % et doit être réfrigéré ($a_w > 0.9$ et $pH \leq 5.3$) (Getty et al., 2000; Jay, 2000).

II.2.2. Procédé de fabrication des saucissons fermentés-séchés

Les saucissons fermentés-séchés sont principalement fabriqués à base de viande hachée de porc et/ou de bœuf. Ils sont constitués aussi de sel, connu pour sa capacité à abaisser l'activité de l'eau. On retrouve également dans les saucissons fermentés-séchés des nitrates et des nitrites qui stabilisent la couleur rouge de la viande, donnent du goût et qui possèdent également certaines propriétés antimicrobiennes. En effet, les nitrates et les nitrites inhibent le développement de *Clostridium botulinum* « agent du botulisme » (Lacasse, 1995). De même, le sucre est un constituant dont le rôle est de donner les éléments nutritifs nécessaires au développement des ferments du saucisson sec et d'aider à diminuer le pH. Enfin, les épices (le poivre, la cardamome, le girofle, la muscade, le macis, l'ail et les piments) sont utilisées pour donner une saveur particulière aux saucissons (Dabin et Jussiaux, 1994).

Il existe une multitude de procédés de fabrication des saucissons fermentés-séchés. Cependant, dans tous les cas, la première phase du procédé consiste en une acidification

de la chair à saucisse par le biais d'une fermentation lactique. Cette fermentation lactique est contrôlée par l'utilisation de ferments lactiques bien caractérisés ajoutés à la chair à saucisse en plus d'une source de sucre fermentescible avant la mise en boyau (Campbell-Platt et Cook, 1995; Dabin et Jussiaux, 1994). Quand tous les ingrédients sont mélangés, la mêlée est poussée en boyaux qui peuvent être naturels ou synthétiques (cellulosique ou collagénique) qu'on attache avec des ficelles ou des attaches métalliques (Dabin et Jussiaux, 1994). Les saucissons sont par la suite fermentés et séchés. Au cours de la fermentation et du séchage, les saucissons subissent des modifications physiques, chimiques et bactériologiques permanentes qui sont profondément interdépendantes les unes des autres. Celles-ci varient évidemment en fonction des conditions d'étuvage et de séchage, c'est-à-dire, de la température, de l'hygrométrie, de la ventilation et de la durée (Dabin et Jussiaux, 1994).

Parmi les ferments utilisés, on note les Microcoques genre *Staphylococcus*, les Lactobacilles genre *Lactobacillus*, les Streptocoques genre *Pediococcus* et les levures (Dabin et Jussiaux, 1994). En Amérique du Nord, on préfère des souches de pédiocoques ou de microcoques et on fermente à 30-40°C jusqu'à un pH de 5.3 ou moins. Les européens préfèrent généralement utiliser des souches de Lactobacilles fermentant à plus basse température (20°C) et recherchent souvent des pH moins acides (5.5). La présence massive de bactéries lactiques dans un aliment est, en elle-même, un facteur d'inhibition important pour la croissance des autres bactéries. C'est l'une des raisons pour lesquelles on ajoute des cultures de bactéries lactiques au début de la fermentation, en plus de celles déjà présentes dans le produit (Lacasse, 1995). Les mécanismes d'inhibition incluent plusieurs facteurs comme l'acidification du milieu, une compétition nutritionnelle et la sécrétion de produits antimicrobiens. L'abaissement du pH, par suite de la production de grandes quantités d'acides organiques (acides lactique et acétique principalement), est le facteur le plus important. Cette acidité empêche la croissance de la plupart des bactéries indésirables, d'autant plus que d'autres caractéristiques du produit alimentaire fermenté diminuent la tolérance des bactéries aux pH faibles (présence de sel, déshydratation du produit, température d'entreposage...), (Lacasse, 1995). Ces acides organiques se retrouvent sous forme non

dissociée à l'intérieur du saucisson. Ils peuvent alors entrer dans les cellules des pathogènes en passant à travers la membrane cellulaire. Une fois à l'intérieur des cellules, ces acides se dissocient et augmentent la concentration interne en protons. Ceci a pour effet de perturber la force proton motrice et d'affecter les échanges de nutriments et d'acides aminés entre les cellules et leur environnement (Jay, 2000).

La fermentation est généralement suivie d'un séchage qui s'effectue à une température de 10 à 15°C en présence d'air humide (65-75 % HR) sur des périodes allant jusqu'à 90 jours pour les produits de gros diamètre. Le degré de séchage dépend des qualités organoleptiques recherchées et se mesure en activité de l'eau (a_w) en Europe et au Canada ou en ratio humidité : protéine (H : P) aux États-Unis. En fait, les conditions de fermentation-séchage dépendent du produit recherché et du diamètre du saucisson (Campbell-Platt et Cook, 1995). Le séchage a pour conséquence de rendre l'eau non disponible aux microorganismes néfastes et empêcher leur croissance. Donc au cours du séchage, une partie de l'eau contenue dans les saucissons sera éliminée (Dabin et Jussiaux, 1994). Il y a d'autres composés spécifiques qui servent à abaisser l' a_w dans un aliment tels que le sel et le sucre. Ces composés lient l'eau disponible dans le produit et la rendent alors non disponible aux microorganismes néfastes. La combinaison de tous ces facteurs doit permettre d'obtenir un produit stable à température pièce.

II.2.3. Réglementation pour la fabrication des saucissons fermentés-séchés

Quelques épisodes de toxi-infections alimentaires liées à la consommation de saucisson sec (Washington et Californie, 1994 (CDC, 1995); Australie, 1995 (CDC, 1995-a); Ontario, 1998 et 1999 (Powell, 1999)) ont semé le doute sur la capacité des procédés industriels courants de fabrication des produits fermentés-séchés à contrôler la croissance de la bactérie pathogène *E. coli* O157:H7 (Bell et Kyriakides, 1998). À la suite de l'épisode survenu aux États-Unis en 1994, le *Blue Ribbon Task Force* on *E. coli* O157:H7 du *National Cattlemen's Beef Association* (NCBA) et un groupe de chercheurs

du *Food Research Institute* (FRI) de l'Université du Wisconsin ont été chargés d'évaluer les besoins immédiats de recherche en vue de trouver des solutions à ce nouveau problème. Ils ont donc convenu qu'il fallait réaliser des recherches sur la survie et la destruction de *E. coli* O157:H7 dans les saucissons secs et semi-secs en fonction de la température de fermentation, du pH, du séchage et du diamètre des saucissons (Getty et al., 2000; Incze, 1998). Ils ont fini par démontrer que la plupart des procédés traditionnels utilisés en industrie réduisent la concentration initiale de *E. coli* O157:H7 d'environ $2 \log_{10}/g$ (Bell et Kyriakides, 1998) et qu'un niveau de destruction important ($\geq 5 \log_{10}$ UFC/g) pouvait être obtenu par chauffage modéré du produit en fin de fermentation. Le *Food Safety Inspection Service* (FSIS) et l'*United-States Department of Agriculture* (USDA) ont mis en place, en 1996, un nouveau règlement pour les manufacturiers de saucissons secs (Getty et al., 2000; Incze, 1998) auquel le Canada devait se conformer en 1999 sous peine de se voir interdire l'accès au marché américain. Ce règlement a été inclus dans le manuel d'hygiène des viandes (ACIA, 2000). Pour conformer leurs procédés à cette nouvelle réglementation, les fabricants canadiens de saucissons secs devaient opter pour l'une des cinq options suivantes:

- Inclure au procédé de fabrication des saucissons l'un des traitements thermiques reconnus pour contrôler *E. coli* O157:H7 (cuire la mée fermentée à 63°C à cœur pendant 4 min).
- Adopter un procédé de fabrication (combinaison de fermentation, de séchage, de chauffage) qui a été scientifiquement validé pour assurer une réduction de 5 D dans le cas de *E. coli* O157:H7.
- Échantillonner et procéder à un dépistage microbiologique des produits finis de chaque lot de production avant l'expédition et retenir les produits en attendant les résultats.
- Mettre en place dans l'établissement un système HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*) de gestion de la qualité, démontrer l'absence de *E. coli* O157:H7 dans la

mêlée crue par un programme approprié d'échantillonnage et analyser et démontrer que le procédé utilisé garantit une réduction de la concentration initiale d'au moins 2 unités logarithmiques.

- Employer un procédé de fabrication développé par le transformateur et qui est scientifiquement validé (selon la méthode de la FSIS) pour assurer une réduction de la concentration initiale en *E. coli* O157:H7 de 5 unités logarithmiques.

II.2.4. Études de validation

Plusieurs études de validation de procédés vis-à-vis de *E. coli* O157:H7 ont été entreprises de 1992 à nos jours. Elles ont été réalisées au moyen de chambres à environnement contrôlé (Glass et al., 1992), de fumoirs (Hinkens et al., 1996) et de tubes à essais (Ellajosyula et al., 1998). Glass et al. (1992) ont rapporté que *E. coli* O157:H7 peut survivre dans la pâte à saucisse commercialeensemencée initialement à l'aide d'un inoculum de *E. coli* O157:H7 de 4.68 log₁₀ UFC/g. Ils ont rapporté aussi que la fermentation et le séchage résultaient en une réduction < 1.16 log₁₀ UFC/g de *E. coli* O157:H7. Un entreposage additionnel de 2 mois à 4°C a permis d'obtenir une réduction additionnelle de 1 log₁₀ UFC/g.

Après un incident de toxi-infection impliquant le salami en 1994, l'Université de Wisconsin a conduit plusieurs études de validation pour satisfaire les exigences requises par la FSIS (Nickelson et al., 1996). Ces études avaient pour objectif de mettre au point un procédé qui peut être utilisé par l'industrie du saucisson sec et semi-sec afin de contrôler *E. coli* O157:H7. La sensibilité à l'acide a été évaluée à des taux de pH faible (4.4-4.6) et élevés (5.0-5.3) et à trois températures de fermentation (21.1, 32.2 et 43.3°C). *Lactobacillus plantarum* a été employé comme culture de départ pour la fermentation à 21.1°C, alors que *Pediococcus acidilactici* a été utilisé pour les températures de fermentation de 32.2 et 43.3°C. Les études ont évalué également plusieurs procédés de chauffage, deux tailles de boyaux (55 et 105 mm) et trois MPRs

(ratio humidité : protéine) (2.3, 1.9 et 1.6). Ces différentes études ont démontré que tous les procédés testés étaient incapables d'assurer une réduction de 5 log₁₀ UFC/g requise par la FSIS. Une fermentation à 32.2°C à un pH de 4.6 plus longue dans le temps et l'utilisation d'un procédé thermique ou un stockage du produit à 43.3°C durant au moins 4 jours a permis l'obtention d'une réduction de 5 log₁₀ UFC/g pour les deux diamètres de boyaux. Hinkens et al. (1996) ont observé une réduction de 1.2 log₁₀ UFC/g de *E. coli* O157:H7 dans des pepperoni (55 mm) contenant 75% de porc et 25% de bœuf (32% de gras) fermentés à 36°C jusqu'à un pH ≤ 5.0 et séchant à 13°C jusqu'à un MPR ≤ 1.6:1. Une phase de chauffage supplémentaire instantanée à une température interne de 63°C ou à 53°C appliquée pendant 60 min après la fermentation a permis d'atteindre des réductions de 5-6 log₁₀ UFC/g.

Faith et al. (1997) ont obtenu des réductions < 2.0 log₁₀ UFC/g lors d'études de validation de procédés dans le pepperoni fermentant à 36°C jusqu'à un pH ≤ 4.8 et séchant à un MPR ≤ 1.6:1. Après fermentation-séchage, d'autres recherches ont été entreprises afin de déterminer si l'emballage à l'air, sous-vide ou en présence de CO₂ des pepperoni et un entreposage à -20, 4 et 2°C peuvent de plus réduire le compte bactérien de *E. coli* O157:H7. La température a plus d'effet sur les comptes bactériens que l'atmosphère de l'emballage. Quand le produit a été entreposé à 21°C pendant 14 jours en présence d'oxygène ou sous-vide, une réduction additionnelle de 4 et 2 log₁₀ UFC/g respectivement a été observée. Cependant quand les tranches de pepperoni ont été entreposées durant la même période à -20°C ou à 4°C en présence d'oxygène, sous vide ou en présence de CO₂, seulement 1 à 2 log₁₀ UFC/g de réduction ont été obtenus.

Utilisant les mêmes paramètres de fermentation et de séchage que dans l'étude de 1997, Faith et al. (1998-a et 1998-b) ont évalué la survie de *E. coli* O157:H7 dans les pepperoni à un taux de gras faible ou élevé et les effets de l'entreposage et de la cuisson des tranches de pepperoni. Ils ont obtenu des réductions de 1.04, 1.31 et 1.62 log₁₀ UFC/g pour des pepperoni contenant 15, 20 et 32 % de gras respectivement après fermentation-séchage. Des réductions additionnelles ≥ 5.56 et ≤ 4.53 log₁₀ UFC/g ont été

obtenues après un entreposage à 21°C pendant 14 jours en présence d'oxygène ou sous-vide respectivement. Une cuisson durant 15 min à 246°C ou 20 min à 191°C des tranches congelées destinées à l'usage comme garniture de pizza a été requise pour réduire le nombre de bactéries sous le seuil de détection et réaliser une réduction $> 5 \log_{10}$ UFC/g.

Riordan et al. (1998) se sont intéressés à étudier l'effet de formulation avec variation du niveau de sel (2.5 à 4.8 %), nitrite de sodium (100 à 400 ppm) et le niveau de pH (4.4 à 5.6) sur la survie de *E. coli* O157:H7 dans le pepperoni. Dans les pepperoni contenant 2.5 % de sel, 100 ppm de nitrite de sodium et un niveau de pH de 4.8, des réductions $< 1 \log_{10}$ UFC/g ont été observées après le procédé de fermentation-séchage. Cependant, la combinaison de fortes concentrations de sel, de nitrite de sodium avec un pH bas a engendré une réduction de 3.3 et 1.43 \log_{10} UFC/g après fermentation et séchage respectivement.

Ellajosyula et al. (1998) ont évalué la survie de *E. coli* O157:H7 et *Salmonella typhimurium* dans de la bologna libanaise. La pâte a été placée dans des tubes à essai scellés, qui ont été placés dans un bain-marie à température contrôlable par un microprocesseur. Des réductions $< 2 \log_{10}$ UFC/g ont été obtenues quand la pâte a été fermentée 12 h à 26.7°C et gardée à 37.8°C jusqu'à l'obtention d'un pH de 5.2 ou 4.7. Des réductions $> 7 \log_{10}$ UFC/g ont été atteintes au moyen d'une combinaison fermentation-chauffage à des températures internes de 43.3°C pendant 20 h, 46.1°C pendant 10 h ou 48.9°C pendant 3 h.

Getty et al. (1999) ont obtenu également une réduction $> 5 \log_{10}$ UFC/g de *E. coli* O157:H7 dans de la bologna traitée dans un fumoir où le processus thermique comprenait 8 h à 26.7 °C, 24 h à 37.8 °C et 24 h à 43.3 °C.

Une réduction de 1.39 \log_{10} UFC/g de *E. coli* O157:H7 a été obtenue dans une étude de validation dans les saucisses d'été en fermentant à température croissante (de 29 à 41°C,

durant 13 h approximativement, jusqu'à un pH de 4.6 ou 5.0). Quand le produit ayant un pH de 4.6 subit un chauffage interne durant 3.6 h à 54°C, une réduction $> 7 \log_{10}$ UFC/g du nombre des pathogènes est obtenue alors que pour atteindre le même niveau de réduction avec les produits ayant un pH de 5.0, un chauffage additionnel de 30 à 60 min était nécessaire (Calicioglu et al., 1997).

Nickelson et al. (1996) ont noté une meilleure réduction de *E. coli* O157:H7 avec des produits de petit diamètre (55 mm) qu'avec des produits de grand diamètre (105 mm). Le nombre de bactéries pathogènes aurait pu être réduit plus par un taux de pénétration de la chaleur plus élevé dans les petits boyaux (Calicioglu et al., 1997). Cependant, des résultats opposés, en ce qui concerne les tailles des diamètres, ont été observés quand les températures de travail étaient basées sur la température interne du produit. Hinkens et al. (1996) et Calicioglu et al. (1997) ont observé de meilleures réductions avec les produits de 55 et 54 mm respectivement, que McCauley (1997) pour des produits de 36 mm de diamètre utilisant une fermentation, un procédé thermique, un séchage, un pH, et des paramètres MPR similaires. Cette même tendance a été observée par Getty et al. (1999) pour les produits de 115 et 90 mm.

La survie de *E. coli* O157:H7 a été étudiée dans des saucisses semi-secs du type soudjouk turque (Calicioglu et al., 2001) en présence (pH 4.8) ou en absence (pH 5.5) d'un mélange commercial de ferments (ca. $8.0 \log_{10}$ UFC/g). Des réductions de $1.96 \log_{10}$ UFC/g ont été obtenues en présence de ferments, comparés à $0.28 \log_{10}$ UFC/g pour le produit fermenté naturellement. La présence de ferments commerciaux affectait aussi la sensibilité des souches aux traitements thermiques. Des réductions jusqu'à un niveau indétectable par étalement sur gélose ($< 1.0 \log_{10}$ UFC/g) ont été obtenues après séchage, à partir d'un niveau initial de $5.69 \log_{10}$ UFC/g. Pour les saucisses fermentées naturellement, les réductions variaient entre 0.45 à $4.47 \log_{10}$ UFC/g, selon le temps de cuisson et la température d'entreposage.

Dans une étude plus récente, Naim et al. (2003), ont évalué l'influence de la méthode de préparation de l'inoculum, du niveau d'inoculation, et de la procédure d'inoculation sur

l'inactivation de *E. coli* O157:H7 durant la fabrication de saucissons secs. Ils ont étudié différentes conditions de fermentation (température, pH final, présence ou absence de phase de garde en pré-séchage) et de séchage (a_w 0.91 ou 0.79). Ils ont conclu que quelle que soit la température de fermentation, le procédé de fermentation-séchage a entraîné environ $2 \log_{10}$ UFC/g de réduction lorsque le séchage était interrompu à une valeur d'activité de l'eau (a_w) de 0.91. La réduction de la concentration de l'inoculum de 7.3 à $4.7 \log_{10}$ UFC/g n'a pas affecté le niveau de destruction de la bactérie. Une destruction additionnelle d'environ $1 \log_{10}$ UFC/g a été obtenue dans les populations de *E. coli* O157:H7 inoculées à la surface des morceaux de viande par rapport à celles introduites dans la mêlée crue. Une prolongation de 5 jours de la période de pré-séchage à température de fermentation augmente significativement ($p < 0.05$) l'inactivation du pathogène quand la fermentation a été réalisée à 37°C , mais pas à une température de 24°C . Cependant, d'importantes réductions (4 à $5 \log_{10}$ UFC/g) n'ont été obtenues que dans les saucisses intensément séchées (a_w 0.79).

L'ensemble de ces études ont démontré que la fermentation et le séchage n'assurent que des réductions jusqu'à $2 \log_{10}$ UFC/g du nombre de *E. coli* O157:H7. Pour atteindre $5 \log_{10}$ UFC/g de réduction, requise par les agences de réglementation, des processus thermiques additionnels et un entreposage sous différentes combinaisons d'emballage et de température étaient nécessaires. Cependant ces deux solutions apportées, ont des inconvénients. En effet, l'entreposage induit un coût additionnel non négligeable pour les manufacturiers de saucissons secs ou semi-secs en immobilisant une quantité importante de produits. En plus de cela, il faut aménager un espace dans l'usine qui impliquera également des coûts additionnels aux manufacturiers. Le traitement thermique, quand à lui, a des effets néfastes sur la couleur, la texture et la rancidité de certains produits qui ne tolèrent pas le chauffage (produits de tradition européenne comme le salami de Gêne).

II.3. Éléments clés de la qualité sensorielle des saucissons fermentés-séchés

II.3.1. La couleur

II.3.1.1. Étude chimique des pigments

La couleur de la viande fraîche est attribuée à la présence de deux pigments hémiques: la myoglobine musculaire et l'hémoglobine sanguine. Le principal pigment responsable de la coloration de la viande est la myoglobine qui représente plus de 80 % des pigments du muscle. Ce pigment est une chromoprotéine contenant un atome de fer. Selon l'état d'ionisation de ce dernier, cette molécule peut se trouver sous trois formes: oxymyoglobine rouge vif, myoglobine réduite rouge pourpre et metmyoglobine rouge sombre. La prépondérance de l'une des formes sur les autres est liée à de nombreux facteurs, tant intrinsèques (liés à l'animal) qu'extrinsèques (relatifs aux conditions de traitement et de conservation de la viande) (Rosset et Liger, 1979).

II.3.1.2. Structure biochimique

La myoglobine est une chromoprotéine, qui est un complexe comprenant: une partie protéique: la globine incolore (protéine globulaire) et une partie non protéique: l'hème ou groupement prosthétique contenant un atome de fer (Saheb, 1968) responsable de la couleur de la viande (Govindarajan, 1973).

L'hème est une chaîne plane porphyrique formée de 4 sous unités pyrroles reliées entre elles par des ponts méthyles et reliées à un atome de fer central (Clydesdale et Francis, 1971; Govindarajan, 1973; Lawrie, 1974; Luks et coll., 1973; Saheb, 1968) qui dans les conditions du muscle vivant, est bivalent (Boccard, 1972).

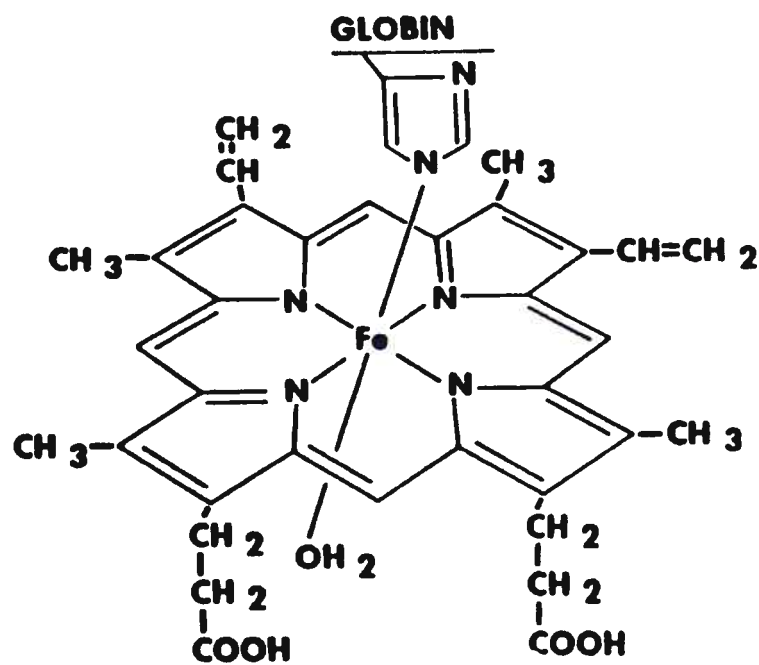


Figure 1: La myoglobine.

(Clydesdale et Francis, 1971; Saheb, 1968)

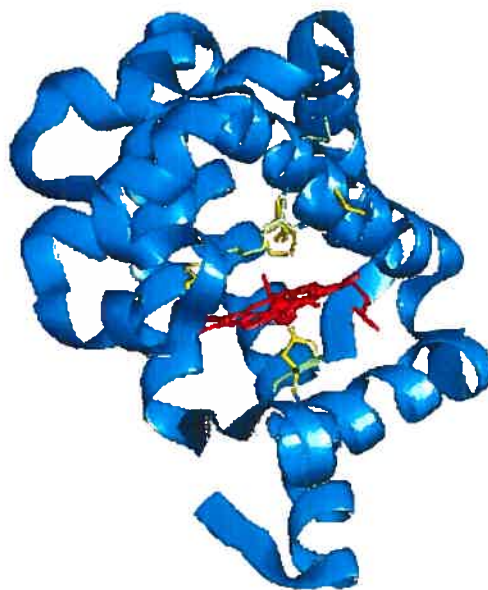


Figure 2: Conformation spatiale de la myoglobine.

(Kendrew, 1963 cité par Govindarajan, 1973)

C'est l'état d'ionisation du fer qui détermine la couleur. Le pigment est rouge à l'état ferreux (Fe^{++}) et brun à l'état ferrique (Fe^{+++}). Au contact de l'air, la myoglobine fixe l'oxygène et se transforme en oxymyoglobine (Fe^{++}) de couleur rouge vif que l'on peut observer à la surface d'une coupe fraîche de viande. Cette réaction est facilement réversible. Par oxydation du fer (Fe^{++}) en (Fe^{+++}) et fixation simultanée de NO provenant de la réduction du nitrite NO_2^- , il y a formation de nitrosometmyoglobine, de couleur brune, qui est ensuite réduite en nitroso-myoglobine, de couleur rouge, stable aux faibles a_w (au cours du séchage) (Dabin et Jussiaux, 1994).

II.3.1.3. Méthodes de mesure de la couleur de la viande

La couleur de la viande est une propriété de la surface du produit. Elle peut être évaluée soit subjectivement par un jury de dégustateurs, soit objectivement par des instruments. Govindarajan (1973), fait référence aux différentes méthodes de mesure de la couleur. L'impression visuelle d'un aliment est la résultante de son aspect, de la nature de la lumière qui l'éclaire, de l'observateur, en particulier de ses caractéristiques sensorielles et psychiques (conditionnement, mémoire) dans le cas d'une évaluation subjective (Rosset et Liger, 1979). Le système de nomenclature de couleur CIE (Commission Internationale de l'Éclairage) a été créé pour standardiser les mesures de couleur en définissant celle-ci en fonction des trois couleurs primaires standards. Les trois couleurs primaires sont le rouge, le vert, et le bleu, le pourcentage de chacune d'elle contribuant à une couleur est désigné respectivement par x, y, et z (Rosset et Liger, 1979). Il existe plusieurs systèmes de notation de la couleur, il y a le système de Munsell (teinte, éclat, saturation) et il y a le système Hunter-Gardner (L, a, b), ce système dérive du système CIE par des transformations mathématiques. La couleur est définie par les coordonnées L, a et b; L désigne la luminosité de l'échantillon, a (intensité du rouge) et b (intensité du bleu) précisent son aspect chromatique.

II.3.2. Rancidité

La rancidité est un problème sensoriel se manifestant par des saveurs et des odeurs indésirables et impliquant l'oxydation du gras.

II.3.2.1. Le gras des saucissons

Les gras utilisés en charcuterie correspondent aux tissus adipeux qui sont des réserves lipidiques. On distingue plusieurs types de gras: les gras externes, c'est-à-dire les gras de couverture des jambons, des épaules, des longes (bardières), etc., les gras internes (panne, ratis...) et les gras interstitiels, intermusculaires (veines grasses) ou intramusculaires (persillé) (Dabin et Jussiaux, 1994).

Le tissu adipeux se compose de cellules adipeuses enserrées dans une trame conjonctive faible pour les gras mous (panne, ratis) et dense pour les gras durs (bardière...) qui augmente avec l'âge.

Les gras utilisés pour la fabrication du saucisson sec proviennent essentiellement des gras externes. Le gras de bardière, qui est le gras de référence pour le saucisson sec, contient près de 85 % de lipides et environ 12 % d'eau. Sa trame conjonctive importante contribue à lui donner son aspect dur et ferme. Cependant, à l'exception des petits gras internes de parage, des mouilles et des pannes, tous les gras sont utilisés (Dabin et Jussiaux, 1994).

II.3.2.2. Altération des lipides

Les lipides sont essentiellement des triglycérides, c'est-à-dire des esters de glycérol et d'acide gras divers.

Les acides gras sont formés de longues chaînes hydrocarbonées, terminées par un groupement acide COOH. Les atomes de carbones sont reliés entre eux par des liaisons simples dans le cas des acides gras saturés et par des liaisons doubles dans le cas des acides gras insaturés. Un acide gras peut avoir une double liaison (monoinsaturé) ou plusieurs (polyinsaturés). Les acides gras saturés ont un point de fusion élevé et sont solides à température ambiante, alors que les acides gras insaturés ont un point de fusion plus bas, certains étant même liquide à température ambiante (Dabin et Jussiaux, 1994).

Parmi les étapes d'altération des lipides: l'oxydation, qui se fait par fixation de l'oxygène sur les doubles liaisons. Cette oxydation s'autocatalyse, et par la suite, s'accélère dans le temps. Elle donne naissance à des peroxydes et à des hydroperoxydes instables qui aboutissent à la formation:

- de diperoxydes par oxydation qui, en se polymérisant, donnent le goût et la couleur jaunâtre caractéristique du gras rance;
- d'aldéhydes et de cétones par rupture de chaînes ou déshydratation, qui contribuent à l'aromatisation et au bon goût caractéristique des jambons secs et des saucissons secs.

L'oxydation est favorisée par: les ions métalliques et notamment le cuivre, le fer et le manganèse, qui sont des catalyseurs de la réaction d'oxydation. Elle est également favorisée par l'air, l'ozone, le nitrate et le nitrite; la lumière et les rayons UV; la lipolyse et la température. On doit rappeler également qu'avant de subir le processus de transformation, nos pièces de viande subissent un traitement thermique, d'où risque d'altération du gras vu que la température est un facteur qui favorise la rancidité.

II.3.2.3. Mesure de la rancidité

La rancidité peut être évaluée subjectivement ou objectivement. Pour la première évaluation, elle se fait par un panel de juges, alors que pour la deuxième, il existe

plusieurs méthodes: la valeur du peroxyde (PV), la valeur de l'anisidine, la valeur du totox et le test de l'acide thiobarbiturique (TBA) (Allen et Hamilton, 1983). Le test de TBA est fréquemment utilisé pour la détection de l'oxydation des lipides, et est lié au niveau de malonaldéhyde présent dans l'échantillon. Le malonaldéhyde est l'un des produits de dégradation des gras en cours d'oxydation et la rancidité mesurée par la TBA est exprimé en mg de malonaldéhyde par kilogramme de viande.

II.4. L'eau chaude et la vapeur pour réduire la contamination à *E. coli* O157:H7

L'application d'un procédé de décontamination à l'eau chaude sur les pièces de viande est une des solutions envisageables car elle peut apporter une réduction bactérienne additionnelle. Les chercheurs ont utilisé l'eau chaude depuis longtemps, et ce sous plusieurs formes: jet, spray, cascade, immersion, vapeur etc.

Smith et Graham (1978) ont réalisé une réduction moyenne de 2-3 log des salmonelles et d'*E. coli* sur des échantillons d'agneau, de mouton, de carcasses de bœuf ou de carcasses d'agneau inoculés en surface. Le traitement consistait en une immersion de ces derniers dans une eau chaude à une température de 80°C pendant 10 s. Évaluant une nouvelle chambre de décontamination de quartiers de bœuf, Smith et Davey (1990) ont trouvé que l'application d'une cascade continue d'eau chaude (83.5°C, 20 s), sous une faible pression sur un quartier d'une carcasse de bœuf, réduit les comptes moyens d'*E. coli* par 3 log. La même réduction a été obtenue avec *Salmonella*, *E. coli*, *E. coli* entéropathogène, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas fragi* et *L. monocytogenes* inoculés sur les tissus frais «brisket» d'une carcasse de bœuf et traités avec une eau chaude à 80°C pendant 10 ou 20 s (Smith, 1992).

L'utilisation de l'eau chaude à 95°C dans le but d'élever la température de la surface des carcasses à 82°C durant environ 10 s a permis une réduction significative (1.3 log₁₀ UFC/cm²) du compte d'*E. coli* O157:H7 (Barkate et al., 1993). En plus d'enlever les

souillures visibles, un rinçage à l'eau chaude ($> 77^{\circ}\text{C}$, 138-152 kPa, 2.5 ou 8 s) réduit la moyenne des TCC (*Total coliform counts*) par 1.3-1.8 log UFC/cm² (Graves Delmore et al., 1997). Cabedo et al. (1996) ont constaté que même après une exposition aux contaminants pendant 2 à 4 h, un lavage par aspersion à l'eau chaude (74°C) donnait une meilleure réduction du décompte bactérien sur les tissus de bœuf que le lavage en jet à l'eau tiède (35°C) ou avec une solution de phosphate trisodique, de peroxyde d'hydrogène (5%) ou d'acide acétique (2%). Gorman et al. (1995) et Kochevard et al. (1997) ont rapporté qu'un jet d'eau chaude (74°C) sur des échantillons de bœuf et de mouton inoculés réduit les comptes bactériens moyens de 2 à 3 log₁₀ UFC/cm² approximativement.

Sous des conditions commerciales, un traitement à l'eau chaude (jet-rinçage) des carcasses de bœuf à une température de 74 à 87.8°C pendant 11 à 18 s et à une pression de 1310 à 2413 kPa réduit les comptes moyens des APC (*aerobic plate counts*) et des ECC (*Escherichia coli counts*) de 2 et 1.8 log₁₀ UFC/cm² respectivement (Reagan et al., 1996). Gill et al. (1997) ont montré qu'un trempage des lots de pièces de viande destinées à la préparation de galettes de viande hachée dans de l'eau chaude à 85°C pendant 15 s ou 60 s réduit le nombre des coliformes de 1 et 2 log respectivement.

Castillo et al. (1998) ont obtenu une réduction de 3.7 log₁₀ UFC/cm² des bactéries *E. coli* O157:H7 par l'application d'un traitement à l'eau chaude à 95°C des carcasses inoculées en surface au préalable à l'aide de fèces bovines à 5 log₁₀ UFC/cm².

Dans les travaux de Gill et al. (2001), l'application de l'eau chaude à 85°C pendant 45 ou 60 s réduit le nombre des coliformes et des *E. coli* de 2 log. Dans une autre étude de Gill et Badoni (2002), il a été démontré que la viande hachée provenant de viande traitée à l'eau chaude à 85°C pendant 60 s contenait moins (< 1 log) de bactéries par rapport à celle non traitée.

Un autre procédé de décontamination consiste à appliquer dans une première étape, grâce à un appareil, de la vapeur d'eau à une température de 82°C et à une certaine

pression et de l'aspirer dans une seconde étape. Cette méthode est très utilisée aux États-Unis et a été développée pour remplacer la méthode de parage. Une réduction de 1.7 à 2.0 \log_{10} UFC/cm² et de 1.4 à 1.6 \log_{10} UFC/cm² a été réalisée par le procédé de l'application de la vapeur et de l'aspiration et par le procédé de parage respectivement (Sofos et al., 1998).

II.5. Conclusion

L'étude des facteurs qui contrôlent la croissance de *E. coli* O157:H7 suggère que l'organisme survit bien au procédé classique de fermentation-séchage utilisé pour la fabrication de saucissons. Cette hypothèse a été confirmée par les incidents de toxico-infections survenues entre 1994 et 1999 et par le résultat des nombreuses études de validation.

Les études de validation ont indiqué que seul un traitement thermique modéré ou un entreposage à température moyenne des saucissons permettait une réduction importante (5 log) du pathogène, mais les deux traitements présentent des inconvénients.

Certains résultats d'études de décontamination à l'eau chaude où le traitement a été appliqué sur des carcasses suggèrent que le traitement des pièces de viande à l'eau chaude pourrait être une solution intéressante. En effet, les résultats obtenus montraient une réduction moyenne du pathogène de 1-3 \log_{10} UFC/g sans aucun impact sur la couleur.

CHAPITRE III

MÉTHODOLOGIE

III.1. Déroulement général du projet

L'étude, dans son ensemble, a impliqué la réalisation de quatre phases expérimentales successives. La première a consisté à tester différents temps de trempage afin de prédéterminer ceux qui n'altèrent pas la couleur des pièces de viande dans la masse. La seconde phase du projet a consisté à utiliser les temps de trempage sélectionnés afin d'évaluer l'effet sur la couleur et sur la rancidité des saucissons fermentés-séchés. La troisième phase avait pour but de déterminer l'effet des temps de trempage présélectionnés sur la réduction de *E. coli* générique (ATCC 25922), préalablementensemencée à la surface des pièces de viande. Les résultats combinés des trois premières phases ont permis de choisir les temps de trempage à utiliser dans la quatrième et dernière phase. Cette phase a consisté à fabriquer des saucissons fermentés-séchés à partir de coupes de viande inoculées en surface avec *E. coli* O157:H7 5-1 et de mesurer la contribution du trempage des coupes de viande à l'eau chaude à la réduction de cet agent pathogène en cours de fabrication.

III.2. Les bactéries

E. coli O157:H7 5-1 est la souche qui a été impliquée dans l'incident de Vancouver de 1999. Cette souche, isolée d'un salami, a été fournie par l'Agence Canadienne d'Inspection des Aliments (Burnaby Laboratory, British-Colombia, Canada), et a été conservée congelée à -80°C en suspension dans du Bouillon Tryptone Soya (TSB; Oxoid LTD., Basingstoke, Hampshire, England) contenant du glycérol à une concentration finale de 10 % [vol/vol]. La souche ATCC 25922 provient de la collection du Centre de Recherche et de Développement sur les Aliments (CRDA, St-Hyacinthe, Qc, Canada). Cette souche est conservée congelée à -80°C dans du bouillon de culture cœur cervelle (BHI; brain heart infusion; Difco Laboratories Inc. Detroit, MI) contenant 20 % de glycérol.

L'inoculum a été préparé en incubant des bactéries *E. coli* O157:H7 5-1 et ATCC 25922 pendant 24 h à 37°C avec agitation à 200 RPM dans des tubes à essai individuels contenant du bouillon TSBG (TSB auquel on a ajouté du glucose 1%), avec 2 transferts quotidiens. Les cellules ont été récupérées par centrifugation à $7970 \times g$ (rotor GSA, Sorval RC5C, Dupont) ou $3700 \times g$ (rotor JA18, Beckman J2-21) durant 30 min à 4°C , lavées 2 fois et suspendues dans de l'eau peptonée 0.1% avant leurs utilisation dans les expériences.

III.3. La viande

La viande maigre de porc (75 % maigre) et de bœuf (85 % maigre, provenant de l'épaule désossée) et le gras de dos de porc ont été achetés dans un marché d'alimentation local (Marché St-Jean, St-Hyacinthe, Qc, Canada). Les pièces de viande fraîche de bœuf ont été livrées sous vide dans des sacs en plastique, eux-mêmes placés dans des cartons scellés de 20 kg. Les pièces de viande fraîche de porc et les lanières de gras de dos de porc ont été livrées dans des cartons scellés de 27 kg. La taille des pièces de viande de bœuf était d'environ $20 \times 18 \times 18$ cm. Celle des pièces de viande de porc était de $33 \times 12 \times 8$

cm. Dès réception, la viande a été réfrigérée à 4°C, le gras de porc a été congelé à -40°C jusqu'à utilisation.

Le traitement des pièces de viande dépendait de leur utilisation subséquente. Dans les expériences destinées à pré-déterminer les temps de trempage à utiliser en production (phase 1), les pièces de viande ont été traitées telles quelles. Dans les trois phases ultérieures, toutes les pièces de viande ont été découpées avant leur traitement à l'eau chaude.

La découpe des pièces de viande de bœuf et de porc qui étaient destinées à évaluer l'effet des temps de trempage sur la rancidité et sur la couleur des saucissons fermentés-séchés a été réalisée dans une chambre à 8°C. La taille de ces pièces était de 14×14×6 cm, pesant environ 800 g. Les pièces de viande ont été placées dans des sacs à échantillons et conservées à 4°C à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation dans les 24 h.

La découpe des pièces de viande devant être contaminées en surface a été réalisée dans des conditions aseptiques (hotte à flot laminaire, excision d'une couche de surface de 1 cm avant la découpe). Les pièces de viande destinées à la phase 3 avaient une aire totale de 9 cm² et pesaient 10 à 13 g environ. Ces pièces étaient placées dans des sacs à échantillons et conservées dans une chambre froide à -1°C jusqu'à leur utilisation dans les 24 h. Par ailleurs, les pièces de viande qui étaient destinées à la phase 4 mesuraient 14×14×6 cm et pesaient 800 g environ. Ces pièces ont été placées dans des sacs à échantillons et conservées à 4°C jusqu'à leur utilisation dans les 24 h.

L'ensemencement des pièces de viande destinées à vérifier l'effet bactéricide du trempage à l'eau chaude a été réalisé dans une hotte à courant laminaire, par inoculation de surface au ratio de 0,01 mL par gramme de viande. La concentration de l'inoculum était de 9.41 log₁₀ UFC/mL dans le cas de la souche ATCC 25922 et de 10.92 log₁₀ UFC/mL pour la souche 5-1. Après inoculation, les pièces de viande de la phase 3 ont été gardées une demi-heure sous la hotte, avant leur traitement à l'eau chaude. Les pièces de viande de la phase 4 ont été placées dans des sacs à échantillons scellés et conservées à 4°C pendant une semaine.

III.4. Traitement de la viande

Un bain de capacité de 54 litres (Blue M, A Unit of General Signal, Blue Island, Illinois 60406 model: MW-1120 A-1), à l'intérieur duquel on a placé un panier, a été utilisé. Un agitateur intégré dans le bain permet de maintenir une température constante de 85°C. Un thermocouple a été utilisé afin de contrôler la température. Une des sondes a été placée autour d'une des pièces de viande, la seconde a été immergée dans le bain. Les pièces de viande ont été placées dans le panier qui a été plongé, à son tour, dans le bain pour différents temps.

Dans la première phase expérimentale, les pièces de viande ont été traitées pendant 30, 60, 90, 120, 150 et 180 s. À leur sortie du bain, les pièces de viande ont été enveloppées avec un film en plastique, placées dans des sacs à échantillons et conservées à 4°C jusqu'à leurs prises en photo le jour même.

Dans la phase 2, les pièces de viande ont été traitées pendant 30, 60, 90 et 120 s. Ces pièces ont été placées dans des sacs à échantillons dès leur sortie du bain et conservées à 4°C à l'abri de la lumière, avant leur hachage (Hachoir AE-G22S; American Eagle Food Machinery) dans les 24 h.

Les pièces de viande de la phase 3, qui étaient destinées à vérifier l'effet bactéricide du trempage à l'eau chaude, ont été traitées pendant 60 et 120 s. À leur sortie du bain, ils ont été placées dans des sacs à stomacher (VWR Scientific Inc, Ville Mont Royal, Qc, Canada) qui contenait 90 mL d'eau peptonée 0.1 % P/V. Cette eau peptonée était gardée au réfrigérateur dans un bac à glaçons. Les sacs à stomacher ont été conservés à 4°C jusqu'à utilisation le jour même.

Enfin, les pièces de viande de la phase 4, traitées à 60 et 120 s, ont été placées à leur sortie du bain dans des sacs à échantillons et mis dans un grand bac d'eau glacée afin d'assurer le refroidissement rapide des pièces de viande. Les sacs ont été scellés et conservés à 4°C avant le hachage dans les 24 h.

III.5. Fabrication des saucissons

Une partie des saucissons fermentés-séchés a été fabriquée à l'usine pilote de transformation des viandes du Centre de Recherche et de Développement sur les Aliments (CRDA, St-Hyacinthe, Qc, Canada). L'autre partie des saucissons fermentés-séchés, où la manipulation des pathogènes était requise, a été fabriquée à l'usine pilote BL II (Biosafety level II) de 65 m² de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal (Saint-Hyacinthe, Québec, Canada).

Les échantillons de viande de bœuf et de porc, d'environ 800 g, gardés pour l'élaboration de la formulation, sont d'abord hachés et sont ensuite homogénéisés dans un mélangeur (2 speed Super Chopper, Black & Decker, Brockville, Ontario) pour réaliser des analyses déterminant le taux d'humidité et le taux de protéines afin de pouvoir établir la formulation des saucissons à l'aide du logiciel LCFormulator (version 23.9), (Least Cost Formulations Ltd., Virginia Beach, VA), pour une quantité donnée de saucissons et ainsi connaître la quantité de chacun des ingrédients: bœuf, porc, gras de porc, épices, ferments et eau.

Neuf mêlées de 2 kg pour la deuxième phase du projet et neuf de 1.5 kg pour la quatrième phase du projet ont été préparées par la suite, en mélangeant la viande de bœuf, de porc et le gras pendant 1 min à l'aide du mélangeur Kitchen Aid K5SS (St-Joseph, MI). Les épices commerciales pour saucissons fermentés-séchés (Q11412; BSA Inc., St-Léonard, Québec) ont été ajoutées à chaque mûlée et ont été mûlées pendant une autre minute. Ensuite, les ferments commerciaux sous forme de poudre (Rosellac A, Rosell Institute Inc., Montréal, Québec, Canada) composés de *Lactobacillus plantarum*, *Micrococcus varians* et *Pediococcus spp.* ont été hydratés dans de l'eau distillée (1.5 g dans 7.5 mL d'eau pour chaque mûlée) et incorporés au mûlange d'épices et de viande et le tout a été mûlangué encore une fois pendant 1 min. Une fois le tout bien mûlangué, les mûlées ont été embossées en boyau de collagène de 30 mm de diamètre (BSA Inc., Québec, Canada) et attachés avec une ficelle pour former des saucissons d'une longueur d'environ 10 à 15 cm. Les saucissons ont été identifiés et gardés à 4°C avant fermentation-séchage.

La fermentation a été réalisée dans une étuve (CRDA: Modèle Arcos CT-100; FMV: Modèle Arcos Combi 30; Arcos Constructeur, St-Bénigne, France) (ACIA 2000). L'humidité relative du fermenteur était maintenue à 74 % et sa température à 23-24°C jusqu'à obtention d'un pH interne ≤ 5.3 .

Le séchage des saucissons a été réalisé à une température de 14°C jusqu'à ce que l'activité de l'eau (a_w) atteigne une valeur ≤ 0.9 . Une fois séchés, les saucissons qui étaient destinés à la prise en photo ont été photographiés dans une boîte à lumière. Les saucissons qui étaient destinés à l'analyse de la rancidité ont été placés dans des sacs sous vide. Ces derniers ont été gardés dans un réfrigérateur à 4°C avant de procéder à l'analyse de la TBA à 0 jour ou dans une étuve à 20°C pour l'analyse de la TBA à 14 jours. Les saucissons fermentés-séchés qui n'ont pas été analysés à temps ont été gardés à une température de -40°C jusqu'à leur analyse. Une partie des saucissons séchés qui ont été utilisés pour évaluer l'effet des temps de trempage sur la réduction de *E. coli* O157:H7 5-1 ont été placés dans des sacs scellés et gardés à 4°C pour le compte bactérien au jour 0. Le reste des saucissons a été gardé dans des sacs scellés à température pièce pour le compte bactérien à 15 jours.

III.6. Analyse physico-chimiques et sensorielles

III.6.1. Analyse des protéines, de l'humidité, du pH et de l' a_w

Les analyses d'humidité et de protéines de la viande crue ont été réalisées en accord avec les méthodes officielles de l'AOAC (AOAC, 1995). L'humidité a été déterminée avec la méthode rapide de four à micro-ondes analyseur d'humidité utilisant le CME AVC 80 (CME Corporation, Matthews, NC) sur trois échantillons de viande hachée et homogénéisée de bœuf et trois échantillons de viande hachée homogénéisée de porc d'environ 3 g. Cette méthode consiste à placer la portion de 3 g de viande hachée dans un four à micro-ondes pour en faire évaporer toute l'eau et de la peser pour déterminer le pourcentage d'humidité.

Le gras et les protéines ont été mesurés en utilisant les analyseurs TFE-2000 et FP-428 (Leco Corporation, St-Joseph, MI.) respectivement sur trois échantillons de viande hachée homogénéisée de bœuf et trois échantillons de viande hachée homogénéisée de porc d'environ 0.26 g.

Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH mètre Sentron (modèle 3001 Exeltec Inc., Québec Canada) muni d'une électrode (Sentron ion-sensitive field effect transistor surface or penetration probes) (Sentron Red-Line LanceFet probe, Sentron Integrets Sensor Technology Inc., Gig Harbour, WA) qui a été introduite au centre de deux saucissons.

Trois valeurs d' a_w ont été prises sur deux tranches de saucissons d'environ 5 mm d'épaisseur à l'aide d'un a_w -mètre à mesure de point de rosée (Aqualab CX-2, Decagon Devices Inc., Pullman, Wash.).

III.6.2. Évaluation de la couleur

L'étendue de la zone de cuisson, à l'intérieur des pièces de viande en fonction des temps de trempage, a été évaluée visuellement sur des photographies de coupes transversales. Les pièces ont été déposées sur un support, placé à son tour dans une enceinte (Macbeth Judge II portable lightbooth) (Prism Instruments, Pickering, Ont., Canada). La distance entre le support et la lumière (Lampe: MacBeth 6500, F20T12/65, 20W) était de 49 cm avec un angle de 36° entre la droite reliant la lampe au support et la droite perpendiculaire au support. Les photos ont été prises avec un appareil photo numérique (Nikon Digital Camera, Coolpix 995, 3.34 megapixels) placé à une distance de 30 cm du support avec un angle de 15° entre la droite le reliant au support et la droite perpendiculaire au support (voir figure 3 ci-dessous).

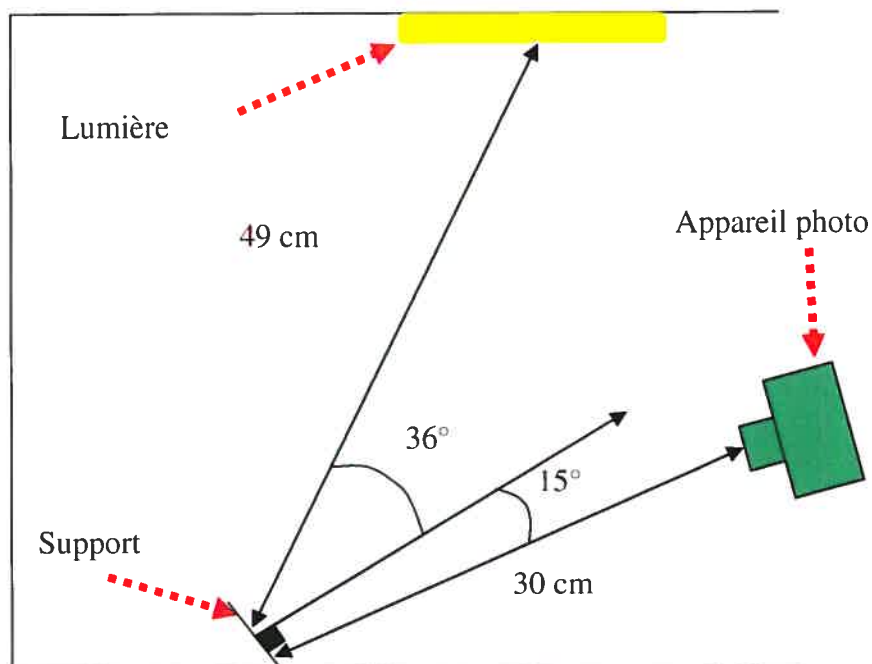


Figure 3: Schéma représentant le dispositif de prise de photographies

Pour évaluer la couleur des saucissons fermentés-séchés dans la deuxième phase expérimentale, trois saucissons ont été aléatoirement sélectionnés pour chacun des trois traitements (bp, btp, btpt) et pour chaque temps (30, 60, 90 et 120 s). De chaque saucisson, deux tranches ont été prélevées (une de chaque bout). La première tranche a été immédiatement prise en photo (même appareil, même enceinte, même lampe, même angle) alors que la seconde a été placée dans un sac qui a été immergé dans un bac d'eau glacée afin d'éviter toute modification de la couleur avant sa prise en photo ultérieurement. La méthode utilisée est celle de Hunter-Gardner où trois valeurs (L^* : luminosité, a^* : composante rouge de la couleur et b^* : composante jaune de la couleur) ont été prises sur chacune des photographies dans les zones claires et dans les zones foncées de la tranche de saucisse à l'aide du logiciel Adobe PhotoShop 7.01 (Adobe Systeme Inc.US).

III.6.3. Évaluation de la rancidité

La rancidité des saucissons fermentés-séchés a été évaluée au jour 0 et au jour 14. Le test utilisé est la mesure de TBA (Thiobarbituric acid, TBA = valeur indicatrice de rancidité). La TBA mesure la quantité de malonaldéhyde libérée dans l'échantillon. La fabrication du standard a consisté à placer 10 µl (9.2 mg) de malonaldéhyde bis (dihétyl acétate) (Aldrich) dans 10 mL de HCl 0.1 N, le tout a été versé dans un tube vissé de 50 mL, puis immergé dans une eau bouillante pendant 5 min. Le tube a été ensuite rapidement refroidi sous l'eau du robinet. Pour obtenir un volume final de 100 mL, 2.4 mL d'acétal hydrolysé ont été dilués dans de l'eau déionisée. L'absorbance du standard de malonaldéhyde a été mesurée à 245 nm et la concentration de la solution a été vérifiée par la loi de Beer-Lambert. La valeur de la concentration est ajusté en fonction de la concentration de la solution du standard de malonaldéhyde. Par la suite, le filtrat a été préparé en mélangeant 20 g de viande et 50 mL de TCA 5 % (Trichloroacetic acid, A&C) (filtré sur Whatman GF/C) homogénéisé pendant 1 min (Omni-Mixer) (Polytron, PT 3100) à vitesse maximum dans un contenant en acier inoxydable de 400 mL. Le contenant a été gardé dans de la glace pendant l'homogénéisation. Le tout a été versé sur un filtre Whatman #1 (24 cm) placé sur un entonnoir qui était installé sur une fiole jaugée. Une fois le tout filtré, le volume a été ramené à 100 mL. Cinq mL de TBA 80 mM ont été rajoutés à 5 mL de filtrat. Ce mélange a été versé dans un tube vissé, chauffé pendant 5 min et refroidit pendant 10 min dans une eau glacée. L'absorbance a été mesurée à 530 nm.

III.7. Analyses microbiologiques

Les comptes viables de l'inoculum initial de *E. coli* ATCC 25922 et de *E. coli* O157:H7 5-1 ont été réalisés à l'aide de la technique d'étalement sur gélose. Des dilutions en série de 1 : 10 ont été effectuées. Pour chaque dilution, 0.1 mL ont été étalés en duplicata sur des géloses McConkey pour *E. coli* ATCC 25922 et McConkey Sorbitol pour *E. coli* O157:H7 5-1. Une fois toutes étalées, les géloses ont été incubées à 37°C et le compte

des bactéries a été effectué 24 h après (colonies rose pour *E. coli* ATCC 25922 et des colonies blanche ne fermentant pas le sorbitol pour *E. coli* O157:H7 5-1).

L'analyse microbiologique a été faite à tous les niveaux de la production des saucissons fermentés séchés. C'est-à-dire, au temps zéro, à la fin de la fermentation, à la fin du séchage et après 15 jours d'entreposage.

La même technique a été utilisée pour l'analyse microbiologique. Pour cela, des échantillons de 10 g de viande ont été introduits dans des sacs en plastique (VWR Scientific Inc, Ville Mont Royal, Qc, Canada) contenant 90 mL d'eau peptonée 0.1 % P/V. Le mélange a été homogénéisé dans un stomacher type (Seward Laboratory Blender, Stomacher 400) pour *E. coli* ATCC 25922 et dans un stomacher (Lab-Blender 400 BA6021, A.J. Seward, Bury St-Edmunds, UK) pour *E. coli* O157:H7 5-1 pendant quatre minutes.

Des dilutions en série (1 : 10) ont été effectuées dans des tubes à essai et un volume de 0.1 mL de chaque dilution a été déposé sur des géloses McConkey pour *E. coli* ATCC 25922 ou sur des géloses de McConkey Sorbitol pour *E. coli* O157:H7 5-1. Tout cela a été réalisé dans des conditions aseptiques.

Une fois toutes étalées avec un râteau de verre, les géloses ont été incubées aérobiquement à 37°C et les comptes de *E. coli* ATCC 25922 et de *E. coli* O157:H7 5-1 ont été effectués après 18 à 24 h.

III.8. Statistiques

L'analyse de variance a été réalisée avec la procédure *GLM (General Linear Model)* du logiciel *SAS (Statistical Analysis Software, SAS Institute Inc. Cary, Caroline du Nord)* et les différences significatives entre effets étaient évaluées par le test de Duncan.

CHAPITRE IV

PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

IV.1. Présélection des meilleurs temps de trempage de la viande dans l'eau chaude (85°C)

L'immersion des pièces de viande de bœuf et de porc dans de l'eau chaude (85°C) à des temps de 150 et de 180 s provoquait une décoloration en profondeur jugée excessive. On s'est donc limité à des temps de trempage de 30, 60, 90 et 120 s. L'observation visuelle de photographies des pièces de viande traitées en coupe transversale (figure 4), permet de constater que même si les pièces de viande de bœuf et de porc étaient décolorées après leur retrait du bain, et ceci quel que soit le temps de trempage, la décoloration restait superficielle. La couche décolorée était plus importante après 120 s de trempage comparée aux autres temps de trempage (30, 60 et 90 s).

Figure 4: Visualisation de l'effet du temps de trempage sur la couleur des pièces de viande immergées dans l'eau chaude à 85°C (3 échantillons par temps)



Note : L'expérience a été réalisée deux fois et les deux répétitions ont donné des résultats similaires.

IV.2. Effets des temps de trempage présélectionnés sur la couleur des saucissons fermentés-séchés

L'effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la luminosité (composante L* de la couleur) des saucissons fabriqués à partir de ces pièces, mesurée dans les zones les plus foncées (ZF) ou les plus claires (ZC) des tranches, est représentée à la figure 5, en fonction de l'étendue du traitement (bœuf traité seulement, btp, ou bœuf et porc traités, btpt).

Les résultats de l'analyse statistique (voir annexe, Tableau A.1) ont révélé que les mesures de L* prises dans les zones les plus foncées des tranches de saucissons n'étaient pas affectées ($p>0.05$) par l'étendue du traitement (btp ou btpt) ou par la durée du trempage (0 à 120 s). Ceci indique que les saucissons fabriqués à partir de pièces de viande traitées à l'eau chaude n'étaient pas différents des saucissons témoins, fabriqués à partir de viande non traitée, en ce qui concerne la luminosité dans les zones sombres. Par contre, la luminosité dans les zones les plus claires (ZC) était influencée par l'étendue du traitement et la durée du trempage, et ces influences étaient dépendantes l'une de l'autre (interaction traitement*temps significative). Alors que le temps de trempage n'avait pas d'effet sur la luminosité des zones claires lorsque seulement la viande de bœuf avait été traitée à l'eau chaude ($p>0.05$), la luminosité des zones claires avait tendance à augmenter avec la durée de trempage quand le bœuf et le porc avaient été tous les deux traités. Les valeurs moyennes de luminosité pour les temps de trempage de 120, 90, 60 et 30 s étaient respectivement de 36.0(a), 34.5(ab), 33.3(b) -et 33.0(b), les moyennes affublées d'une lettre commune n'étant pas significativement différentes ($p>0.05$).

Par ailleurs, alors que la luminosité des zones claires n'était pas affectée par l'étendue du traitement pour un temps de trempage de 30 s ($p>0.05$), elle était toujours supérieure pour les saucissons fabriqués à partir de bœuf et de porc traités (plutôt que de bœuf traité et de porc non traité) lorsque les temps de trempage étaient de 60 s (33.3(a) et 31.6(b) respectivement pour les traitements btpt et btp), 90 s (43.5(a) et 32.3(b) respectivement) et 120 s (36.0(a) et 31.8(b) respectivement).

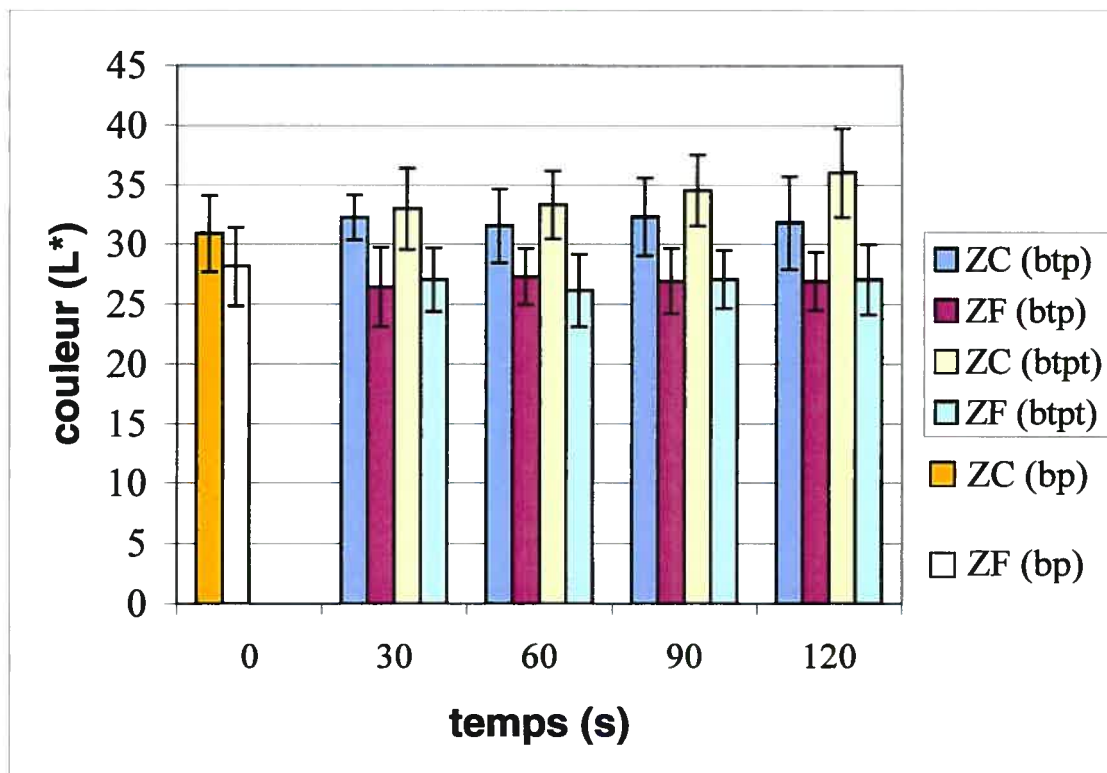


Figure 5: Effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la couleur (composante L*) des saucissons fermentés-séchés.

ZC = zone claire; ZF = zone foncée; bp = bœuf non traité porc non traité (témoin); btp = bœuf traité porc non traité; btpt = bœuf traité porc traité.

Note: Les résultats présentés proviennent de deux répétitions (les valeurs des moyennes et écarts types se retrouvent à l'annexe, Tableau A.2).

L'effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la composante rouge a^* de la couleur des saucissons, mesurée dans les zones foncées ou claires des tranches, est représentée à la Figure 6, pour des saucissons fabriqués à partir de bœuf traité et de porc non traité (btp), ou de bœuf et de porc traités (btpt). L'analyse statistique des résultats (voir annexe, Tableau A.3) a révélé que l'étendue du traitement avait un effet très significatif ($p < 0.0001$) sur la composante rouge de la couleur des saucissons, alors que le temps de trempage n'avait aucun effet ($p > 0.05$), que la couleur ait été mesurée dans la zone foncée ou dans la zone claire. Dans les deux cas, la composante rouge a^* de la couleur des saucissons avait tendance à diminuer avec l'étendue du traitement. Les valeurs moyennes de la composante a^* des zones les plus foncées pour les traitements bp, btp, btpt étaient respectivement de 34.1(a), 34.0(a) et 33.2(b). Les valeurs moyennes de la composante a^* des zones les plus claires pour les traitements bp, btp, btpt étaient respectivement de 25.8(a), 25.1(b) et 23.8(c), les moyennes affublées d'une lettre commune n'étant pas significativement différentes ($p > 0.05$).

L'effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la composante jaune b^* de la couleur des saucissons, mesurée dans les zones foncées ou claires des tranches, est représentée à la Figure 7, pour des saucissons fabriqués à partir de bœuf traité et de porc non traité (btp), ou de bœuf et de porc traités (btpt).

L'analyse statistique des résultats (voir annexe, Tableau A.5) a révélé que l'étendue du traitement n'avait pas d'effet significatif ($p > 0.05$) sur la composante jaune de la couleur des saucissons, que la couleur ait été mesurée dans la zone foncée ou dans la zone claire.

Par ailleurs, alors que le temps de trempage n'avait aucun effet ($p > 0.05$), quand la couleur a été mesurée dans la zone foncée, le temps de trempage avait un effet très significatif ($p < 0.0001$) sur la composante jaune de la couleur des saucissons dans la zone claire.

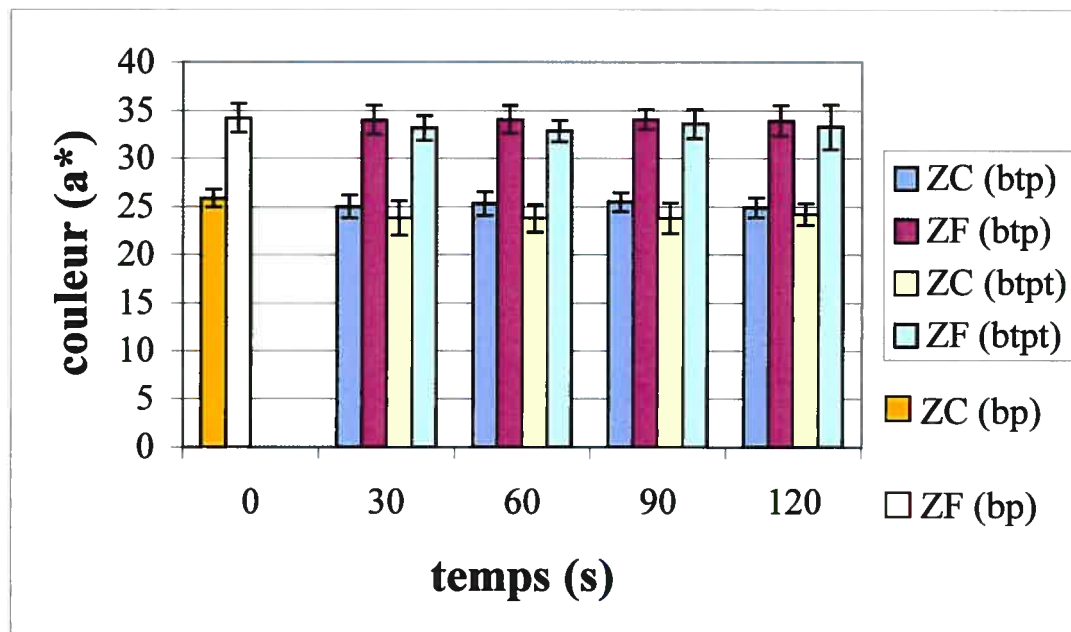


Figure 6: Effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la couleur (composante a*) des saucissons fermentés-séchés.

ZC = zone claire; ZF = zone foncée; bp = bœuf non traité porc non traité (témoin); btp = bœuf traité porc non traité; btpt = bœuf traité porc traité.

Note: Les résultats présentés proviennent de deux répétitions (les valeurs des moyennes et écarts types se retrouvent à l'annexe, Tableau A.4)

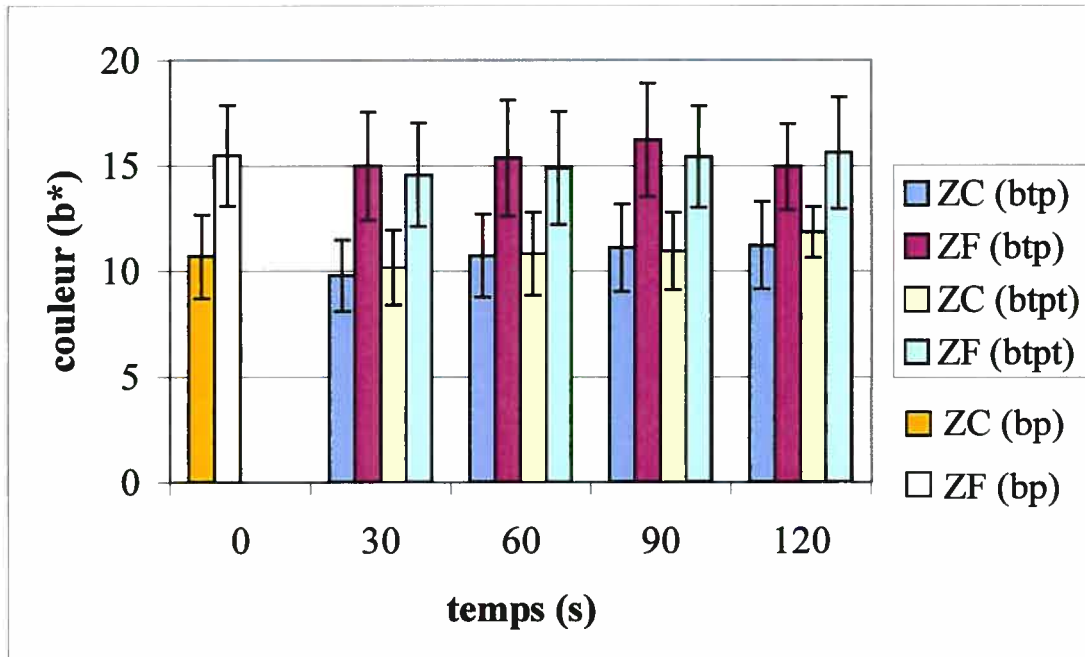


Figure 7: Effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la couleur (composante b*) des saucissons fermentés-séchés.

ZC = zone claire; ZF = zone foncée; bp = bœuf non traité porc non traité (témoin); btp = bœuf traité porc non traité; btpt = bœuf traité porc traité.
















Note: Les résultats présentés proviennent de deux répétitions (les valeurs des moyennes et écarts types se retrouvent à l'annexe, Tableau A.6)

La composante jaune b^* des zones claires avait tendance à augmenter avec la durée de trempage à partir de 60 s. Les valeurs moyennes de la composante jaune pour les temps de trempage de 0, 30, 60, 90 et 120 s étaient respectivement de 10.6(bc), 10.0(c), 10.7(bc), 11.0(ba) et 11.5(a).

L'effet des temps de trempage sélectionnés (30, 60, 90 et 120 s) sur la couleur des saucissons fermentés-séchés est représenté à la figure 8. L'observation visuelle de ces photographies ne montrait pas de différence appréciable entre le témoin et les traitements, que le bœuf seulement ou que le bœuf et le porc aient été traités.

Effet du trempage à 85°C sur la couleur d'un saucisson fermentée

Essai 4
















	<u>BNT-PNT</u>	<u>BT-PNT</u>			
		0.5 min.	1 min.	1.5 min.	2 min.
Saucisse1					
Saucisse 2					
Saucisse 3					
Zone claire					
Valeur de a	26,00	25,50	25,17	24,94	24,61
Valeur de L	31,11	33,11	31,78	33,28	33,67
Zone foncée					
Valeur de a	34,39	34,67	33,72	33,61	33,94
Valeur de L	29,44	29,17	27,78	27,94	27,89

BNT-PNT : Boeuf non traité - porc non traité
BT-PNT : Boeuf traité - porc non traité

Figure 8 : photographies des tranches de saucissons provenant de viandes traitées à 30, 60, 90 et 120 s (Essai 1 et 2)

Effet du trempage à 85°C sur la couleur d'un saucisson fermentée

Essai 1
















	BNT-PNT	BT-PT			
		0.5 min.	1 min.	1.5 min.	2 min.
Saucisse1					
Saucisse					
Saucisse 3					
Zone claire					
Valeur de a	26,00	24,89	24,72	25,00	24,83
Valeur de L	31,11	33,50	32,44	34,89	36,00
Zone foncée					
Valeur de a	34,39	33,17	32,67	33,28	33,00
Valeur de L	29,44	27,94	27,06	27,67	27,61

BNT-PNT : Boeuf non traité - porc non traité
 BT-PT : Boeuf traité - porc traité

Figure 8 : photographies des tranches de saucissons provenant de viandes traitées à 30, 60, 90 et 120 s (Essai 1 et 2)

Effet du trempage à 85°C sur la couleur d'un saucisson fermentée

Essai 2

	<u>BNT-PNT</u>	<u>BT-PNT</u>			
		0.5 min.	1 min.	1.5 min.	2 min.
Saucisse1					
Saucisse 2					
Saucisse 3					
Zone clair					
Valeur de a	25,72	24,78	25,39	26,00	25,28
Valeur de L	30,72	31,94	31,33	31,39	30,00
Zone foncée					
Valeur de a	33,94	33,28	34,39	34,50	33,94
Valeur de L	26,83	24,67	26,83	25,94	25,94

BNT-PNT : Boeuf non traité - porc non traité
 BT-PNT : Boeuf traité - porc non traité

Figure 8 : photographies des tranches de saucissons provenant de viandes traitées à 30, 60, 90 et 120 s (Essai 1 et 2)

Effet du trempage à 85°C sur la couleur d'un saucisson fermentée

Essai 2

	<u>BNT-PNT</u>	<u>BT-PT</u>			
		0.5 min.	1 min.	1.5 min.	2 min.
Saucisse 1					
Saucisse 2					
Saucisse 3					
Zone clair					
Valeur de a	25,72	22,61	22,78	22,50	23,50
Valeur de L	30,72	32,50	34,22	34,17	36,06
Zone foncée					
Valeur de a	33,94	33,16	33,06	33,94	34,11
Valeur de L	26,83	26,22	25,28	26,50	26,50
BNT-PNT : Boeuf non traité - porc non traité BT-PT : Boeuf traité - porc traité					

Figure 8 : photographies des tranches de saucissons provenant de viandes traitées à 30, 60, 90 et 120 s (Essai 1 et 2)

IV.3. Effet des temps de trempage présélectionnés sur la rancidité des saucissons fermentés-séchés

L'effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la rancidité des saucissons fabriqués à partir de ces pièces, mesurée au jour 0 et au jour 14, est représenté à la Figure 9, en fonction de l'étendue du traitement (bœuf traité seulement, btp, ou bœuf et porc traités, btpt).

Les résultats de l'analyse statistique (voir annexe, Tableau A.7) ont révélé, que ni le temps de trempage (30, 60, 90 et 120 s) ni l'étendue du traitement (btp ou btpt) ni l'entreposage (15 jours), n'avaient d'effet significatif sur la rancidité ($p > 0.05$).

Les témoins et les traitements avaient une rancidité comparable, comprise entre les valeurs moyennes de 1.59 et 2.93 mg de malonaldéhyde/kg (voir annexe, Tableau A.8).

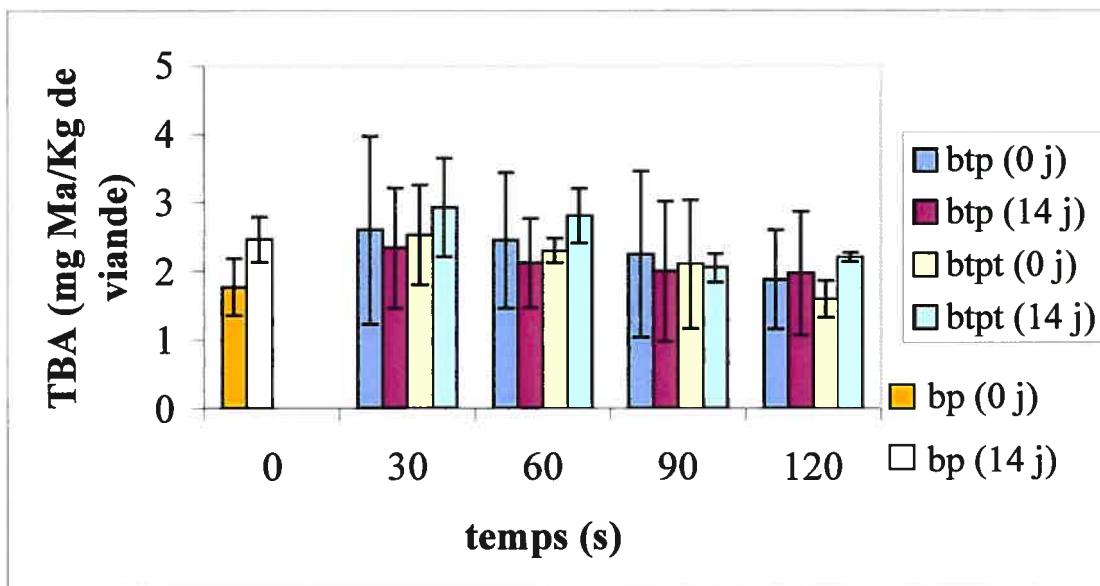


Figure 9: Effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la rancidité des saucissons fermentés-séchés au temps 0 et après 14 jours d'entreposage à l'air à 20°C.

Note: Les résultats présentés proviennent de deux répétitions (les valeurs des moyennes et écarts types se retrouvent à l'annexe, Tableau A.8)

IV.4. Effet des temps de trempage sur la réduction de la flore non pathogène *E. coli* ATCC 25922, inoculée en surface de pièces de bœuf

L'effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la réduction du compte bactérien initial évalué au temps 60 s et au temps 120 s a été représenté au tableau 1.

Le compte bactérien (Log_{10} UFC/g) diminuait de façon significative ($p < 0.05$) avec la durée de trempage. Les valeurs moyennes du compte de *E. coli* ATCC 25922 (log_{10} UFC/g) pour les temps de trempage de 0, 60 et 120 s étaient respectivement 6.4a, 2.3b et 1.9c, les moyennes affublées d'une lettre commune n'étant pas significativement différentes ($p > 0.05$). Après un trempage de 60 s, la réduction de *E. coli* ATCC 25922 atteignait 4.09 log_{10} UFC/g. Le degré exact de réduction après un trempage de 120 s, n'a pas pu être mesuré car la concentration résiduelle de *E. coli* ATCC 25922 était inférieure au seuil de détection de la méthode de mesure. La réduction était cependant supérieure à 4.50 log_{10} UFC/g.

Tableau 1: Effet du trempage à l'eau chaude (85°C) sur la population viable de *E. coli* ATCC 25922 inoculée à la surface de pièces de boeuf.

	Temps (s)	Population viable (Log ₁₀ UFC/g)		Niveau de réduction atteint (Log ₁₀ UFC/g)
		Moyenne	Écart type	Moyenne
Échantillon	0	6.45	0.40	0
Échantillon	60	2.36	0.62	4.09
Échantillon	120	< 1.95	n.a ¹	> 4.50
Témoin	0	< 1.95	n.a	n.a
Témoin	60	< 1.95	n.a	n.a
Témoin	120	< 1.95	n.a	n.a

1. Ne s'applique pas (toutes les valeurs sont inférieures au seuil de détection)

Note: Cette expérience a été répétée cinq fois et ces résultats représentent les valeurs des moyennes et écarts types des réductions.

IV.5. Effet des temps de trempage sur la réduction de la flore pathogène *E. coli* O157:H7 5-1, inoculée en surface de pièces de bœuf en cours de fabrication

L'effet du temps de trempage des pièces de viande dans l'eau chaude (85°C) sur la réduction du compte cellulaire de *E. coli* O157:H7 (exprimé en \log_{10} UFC/g) dans les saucissons après chaque étape de fabrication (mélange, fermentation, séchage et entreposage) est représenté à la figure 10.

On constate généralement que le compte cellulaire de *E. coli* O157:H7 (\log_{10} UFC/g) diminuait avec le temps de trempage et la progression de la fabrication, ce qui est confirmé par l'analyse statistique des résultats (voir annexe, Tableau A.9).

Au cours de la fabrication des saucissons faits de viande non traitée (0 s), la fermentation et le séchage ont respectivement entraîné des réductions de la concentration en *E. coli* O157:H7 de 0.60 \log_{10} UFC/g et de 1.02 \log_{10} UFC/g, pour un total de 1.62 \log_{10} UFC/g. L'entreposage des produits finis pendant 15 jours à température pièce entraînait une réduction supplémentaire plus importante (2.18 \log_{10} UFC/g), augmentant la réduction totale à 3.8 \log_{10} UFC/g.

La capacité du procédé traditionnel (fermentation et séchage seulement) à détruire *E. coli* O157:H7 n'était pas affectée par le traitement à l'eau chaude des pièces de viande avant la préparation des mêlées crues. En effet, l'étape de fermentation entraînait une réduction du nombre de *E. coli* O157:H7 de 0.59 \log_{10} UFC/g dans le cas d'un traitement à l'eau chaude de 60 s et de 0.66 \log_{10} UFC/g pour une durée de traitement de 120 s, très comparable à la réduction observée en l'absence de traitement à l'eau chaude (0.60 \log_{10} UFC/g). De même, les réductions causées par l'étape de séchage étaient respectivement de 1.01 \log_{10} UFC/g et 0.83 \log_{10} UFC/g pour des temps de traitement à l'eau chaude de 60 s et 120 s, comparées à la réduction de 1.02 \log_{10} UFC/g observée avec les viandes non traitées.

Par contre, le traitement des pièces de viande à l'eau chaude entraînait une réduction supplémentaire de 1.43 \log_{10} UFC/g de la concentration en *E. coli* O157:H7 pour un traitement de 60 s. La réduction supplémentaire était plus importante (1.85 \log_{10} UFC/g)

lorsque le traitement était poursuivi jusqu'à 120 s. L'addition du traitement à l'eau chaude des pièces de viande avant fabrication augmentait donc la capacité du procédé traditionnel (fermentation et séchage seulement) à détruire *E. coli* O157:H7 à 3.03 log₁₀ UFC/g ou 3.34 log₁₀ UFC/g pour des durées de traitement respectives de 60 s et 120 s, comparée à la réduction de 1.62 log₁₀ UFC/g observée en l'absence de traitement à l'eau chaude.

La réduction totale obtenue par la combinaison des traitements à l'eau chaude (60 s ou 120 s), du procédé traditionnel (fermentation et séchage seulement) et de l'entreposage n'a pas pu être mesurée car la concentration résiduelle en *E. coli* O157:H7 était inférieure au seuil de détection de la méthode de comptage. Elle était cependant supérieure à 4.15 log₁₀ UFC/g.

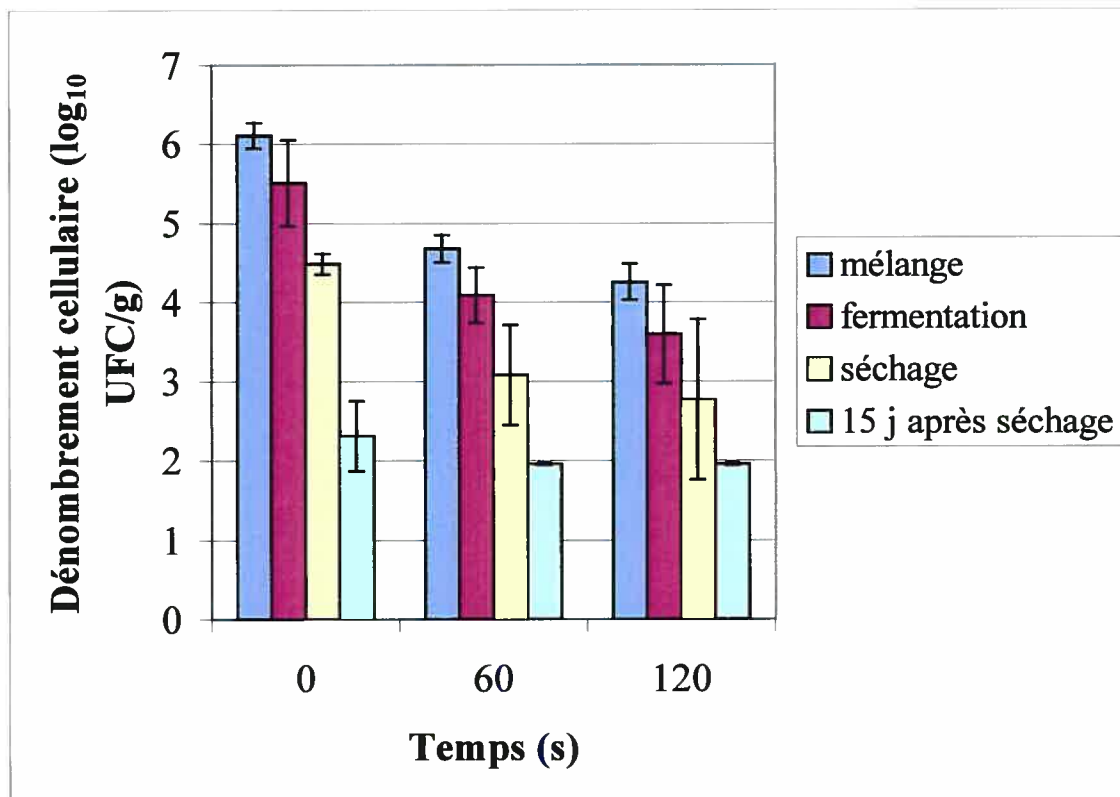


Figure 10: Dénombrement (\log_{10} UFC/g) de *E.coli* O157:H7 5-1 à différentes étapes du procédé de fabrication des saucissons fermentés-séchés (mêlée, après fermentation, après séchage, 15 jours après entreposage à température pièce).

Note: Les résultats présentés proviennent de trois répétitions (les valeurs des moyennes et écarts types se retrouvent à l'annexe, Tableau A.10)

CHAPITRE V

DISCUSSION

L'intention première du projet était de vérifier si un traitement de surface à l'eau chaude appliqué à des pièces de viande fraîche destinées à la préparation de saucissons fermentés-séchés permettrait d'augmenter substantiellement la réduction du pathogène *E. coli* O157:H7 en cours de fabrication. Toutefois, afin que le traitement envisagé puisse être applicable, il était essentiel de vérifier qu'il ne causerait pas de dégradation inacceptable de la qualité sensorielle, particulièrement en ce qui concerne la couleur et la rancidité.

Gill et Badoni (2002) ont étudié l'effet d'un traitement de 60 s à l'eau chaude (85°C) de coupes de bœuf sur la couleur de la viande après hachage et ont conclu que cet effet était négligeable. Dans notre étude, un traitement des pièces de viande (14×14×6 cm) à l'eau chaude à 85°C jusqu'à 120 s a causé une décoloration de surface dont l'intensité a pu être évaluée sur des photographies en coupe transversale. Dans tous les cas, la masse musculaire intérieure, qui n'avait pas été décolorée, était beaucoup plus importante que celle de la couche superficielle décolorée par le traitement. Cette constatation est conforme aux résultats de l'étude précédente et suggère que l'on ne doit pas s'attendre à ce que la couleur des saucissons fermentés-séchés préparés à partir de la viande traitée à l'eau chaude à 85°C pendant 120 s ou moins soit affectée.

En effet, l'observation visuelle de photographies de tranches de saucissons fermentés-séchés préparés à partir de viande de bœuf traitée à 85°C (30 à 120 s) et de viande de porc non traitée ne nous permettait jamais de distinguer ces tranches de celles provenant de saucissons préparés sans traitement à l'eau chaude préalable des coupes de viande, même si l'analyse instrumentale nous indiquait une différence de couleur statistiquement significative avec les tranches témoins (viande non traitée). Le fait que des différences de couleur détectées instrumentalement n'étaient pas visibles à l'œil nu n'est pas surprenant, car il a été montré que des évaluateurs ne détectent des nuances dans la teinte rouge des saucisses que si la différence entre les valeurs de a^* sont nettement supérieures à 1 (Piette et al., 1997), ce qui n'était pas le cas dans la présente étude.

À cause de la présence de sel (agent pro-oxydant) et de la conservation prolongée à température pièce, les saucissons sont à risque de devenir rances rapidement, avec la formation d'un arrière goût désagréable. Puisque le rancissement s'accélère avec l'augmentation de la température, on pouvait craindre que les saucissons fabriqués à partir de viande traitée à l'eau chaude ne rancissent plus rapidement que les témoins, au cours de l'entreposage post-production normal. On a pu vérifier que le taux d'aldéhyde malonique (malonaldéhyde) dans les saucissons préparés avec la viande traitée à l'eau chaude augmentait en cours d'entreposage pour atteindre des valeurs de 2.81-2.93 mg malonaldéhyde/kg, indiquant un accroissement de la rancidité. Cependant, cet accroissement n'était pas supérieur à celui mesuré dans les saucissons témoins, préparés sans traitement à l'eau chaude. À ces taux, la rancidité serait nettement détectable dans la viande fraîche (Koniecko, 1985) mais probablement pas dans les saucissons, à cause du goût prononcé de sel et d'épice.

La première partie de l'étude a donc permis de conclure qu'un traitement à l'eau chaude à 85°C de 120 s ou moins des viandes destinées à la fabrication de saucissons n'entraînait pas de dégradation appréciable de la qualité organoleptique des produits.

Les études précédentes de validation du procédé de fabrication des saucissons fermentés-séchés vis-à-vis d'*E. coli* O157:H7 ou autres EHEC ont permis de conclure que les étapes de fermentation et de séchage combinées menaient à une destruction totale de faible ($0.3 \log_{10}$ UFC/g) à modérée ($2.1 \log_{10}$ UFC/g) (Calicioglu et al., 2001; Faith et al., 1998-a, 1998-b; Hinkens et al., 1996; Nissen et Holk, 1998; Riordan et al., 1998). Puisque la population d'*E. coli* O157:H7 inoculée à la surface de pièces de bœuf diminuait d'à peu près $2 \log_{10}$ UFC/g lors d'un traitement de 60 s à l'eau chaude (Gill et al., 2001), on pouvait espérer atteindre une réduction totale d'au moins $3 \log_{10}$ UFC/g en ajoutant un traitement à l'eau chaude de 60 s au procédé normal de fabrication des saucissons, juste avant la fermentation, et peut-être une réduction jusqu'à $5 \log_{10}$ UFC/g en augmentant le temps de trempage à 120 s. Cette hypothèse était renforcée par le fait que, dans nos conditions expérimentales, la population bactérienne de la souche non pathogène *E. coli* ATCC 25922 inoculée à la surface de pièces de bœuf était réduite de $4.09 \log_{10}$ UFC/g après un trempage de 60 s des pièces dans l'eau chaude, et que la réduction dépassait $4.50 \log_{10}$ UFC/g pour un temps de trempage de 120 s.

Lors des essais de validation en usine pilote, le niveau de réduction de la souche pathogène *E. coli* O157:H7 5-1 obtenu par fermentation et séchage, sans traitement préalable des matières premières, était de $1.63 \log_{10}$ UFC/g. Cette valeur est tout à fait comparable aux résultats des études de validation antérieures et indique que le protocole expérimental utilisé était fiable. L'ajout au procédé d'une phase de traitement à l'eau chaude des pièces de bœuf avant fermentation n'a permis d'augmenter la réduction totale du pathogène que jusqu'à $3.03 \log_{10}$ UFC/g et $3.34 \log_{10}$ UFC/g respectivement, pour des traitements de 60 s et 120 s. Le bénéfice du traitement est donc relativement moins important que celui anticipé à partir des résultats de Gill et al. 2001 et des résultats obtenus avec la souche non pathogène ATCC 25922 (cette étude).

Le fait que l'ampleur de la réduction du pathogène au cours des phases de fermentation et de séchage n'était pas influencée par le traitement préalable des viandes à l'eau

chaude (cette étude) exclut la possibilité que le bénéfice modeste de la phase de trempage ait été causé par le phénomène de protection croisée, tel que défini par Rowe et Kirl, (1999). Du moins, le stress thermique dû à l'eau chaude n'a pas induit de résistance accrue à l'acidité lors de la fermentation subséquente. Il est aussi peu probable que la faible réduction de la souche pathogène O157:H7 5-1 observée lors du traitement à l'eau chaude, comparée à la réduction observée pour la souche non pathogène ATCC 25922 soit simplement due à une différence intrinsèque de sensibilité thermique. La comparaison directe des sensibilités thermiques des deux souches n'est pas possible, par manque de données fiables. Cependant, il est notoire que la souche O157:H7 n'est pas particulièrement résistante à la chaleur ($D_{52^{\circ}\text{C}} = 115 \text{ min}$; $D_{57^{\circ}\text{C}} = 5.3 \text{ min}$; $D_{63^{\circ}\text{C}} = 0.47 \text{ min}$; mesurées dans du bœuf haché à 30% de gras) (Doyle et al., 1997).

Il est plus probable que la faible réduction du pathogène lors du trempage à l'eau chaude des pièces de bœuf inoculées en surface soit due à l'un des deux facteurs suivants, agissant seul ou en combinaison:

1. Le traitement à l'eau chaude s'est produit après une période d'entreposage au froid d'une semaine. Or il a été montré que l'entreposage au froid dans une matrice carnée augmente la survie des cellules d'*E. coli* O157:H7 à des stress subséquents, comme la cuisson (Jackson et al., 1996).
2. La période de 7 jours d'entreposage au froid des pièces de viande avant le traitement à l'eau chaude, délibérément choisie pour reproduire les conditions d'entreposage normales entre l'abattage et l'entrée en fabrication, dans le contexte canadien, a permis une adhésion forte des cellules à la surface de la viande, avec formation de glycocalix (Eighmy et al., 1983) et possiblement d'un biofilm complexe (Costerton et al., 1987). Or il a été montré que les cellules adhérentes sont généralement plus résistantes à une grande variété de stress, incluant le stress thermique.

Il est clair que l'ajout au procédé traditionnel de fabrication des saucissons (fermentation et séchage) d'une phase de trempage à l'eau chaude des pièces de viande avant l'étape

de formulation n'a pas été suffisant pour augmenter la capacité du procédé traditionnel à détruire *E. coli* O157:H7 au niveau de $5 \log_{10}$ UFC/g recherché par les agences de réglementation nord-américaines. L'ajout d'une phase d'entreposage (15 jours) à température pièce en fin de séchage s'est avéré la manière la plus efficace d'augmenter considérablement le niveau de réduction du pathogène en cours de fabrication. Bien que le niveau exact de réduction atteint n'ait pas pu être mesuré, puisque la concentration résiduelle du pathogène était inférieure au seuil de détection de la méthode de mesure, il a toujours été supérieur à $4.15 \log_{10}$ UFC/g. Si on suppose par ailleurs que l'efficacité de l'entreposage à détruire *E. coli* O157:H7 n'est pas affectée par le traitement à l'eau chaude des pièces de viande avant fabrication, et qu'elle reste égale à $2.31 \log_{10}$ UFC/g comme dans le procédé contrôle, on doit s'attendre à une efficacité totale de $5.65 \log_{10}$ UFC/g du procédé combiné consistant en 120 s de trempage des pièces de viande à l'eau chaude avant fabrication, la fermentation et le séchage habituels, et un entreposage de 15 jours à température pièce. De toute façon, l'utilisation du traitement des viandes à l'eau chaude reste potentiellement intéressante puisqu'elle permet de raccourcir le temps d'entreposage à température pièce nécessaire à l'atteinte de la réduction de $5 \log_{10}$ UFC/g, diminuant d'autant les besoins en infrastructure et les coûts liés à l'immobilisation du produit pendant plusieurs semaines.

CHAPITRE VI

CONCLUSION

Les principales conclusions tirées de la présente étude sont:

- 1- L'application d'un traitement à l'eau chaude à 85 °C (de 120 s ou moins) peut être utilisé comme moyen d'augmentation de la réduction du pathogène *E. coli* O157:H7 sans causer de dégradation appréciable de la qualité organoleptique des produits dont la couleur et la rancidité.
- 2- Même si la réduction du compte cellulaire de *E. coli* O157:H7 5-1 après le procédé de fermentation-séchage était conforme à celle réalisée dans les précédentes études de validation, nous avons constaté que cette réduction était toujours supérieure après l'application d'un traitements de 60 s et 120 s.
- 3- *E. coli* O157:H7 5-1 a montré une résistance plus importante au traitement à l'eau chaude à 85 °C comparée à celle de *E. coli* ATCC 25922.
- 4- La faible réduction obtenue avec *E. coli* O157:H7 5-1 peut être expliquée par une différence intrinsèque de sensibilité thermique avec la souche non pathogène *E. coli* ATCC 25922. Une autre explication est que la période d'entreposage au froid pendant 7 jours ait permis la formation d'un biofilm complexe des bactéries.
- 5- L'ajout d'une phase de trempage à l'eau chaude des pièces de viande au procédé traditionnel de fabrication des saucissons (fermentation et séchage), avant l'étape de formulation, n'a pas été suffisant pour augmenter la capacité du procédé traditionnel à réduire *E. coli* O157:H7 au niveau de 5 log₁₀ UFC/g recherché par les agences de réglementation nord-américaines.

- 6- Un entreposage de 15 jours, à température pièce après le séchage, s'est avéré la manière la plus efficace d'augmenter considérablement le niveau de réduction du pathogène en cours de fabrication.
- 7- L'utilisation de l'eau chaude est une alternative intéressante car elle peut permettre de raccourcir la durée de l'entreposage à température pièce et ainsi réduire les besoins en infrastructures et les coûts d'immobilisation du produit pendant plusieurs semaines.

CHAPITRE VII

BIBLIOGRAPHIE

Abdul-Raouf, U.M., Beuchat, L.R. et Ammar, M.S. 1993. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 on salad vegetables. *Appl. Env. Microbiol.* **59**: 1999-2006.

Agence Canadienne des Inspections des Aliments (ACIA). 2000. Manuel d'hygiène des viandes. Section 4.10 (transformations, manutention et traitements spéciaux). Gouvernement du Canada. Division de la viande et des produits animaux transformés. Ottawa. Canada. P. 87 -101.

Alcock, S.J. 1987. Growth characteristics of food poisoning organisms at sub-optimal temperatures. Campden Food and Drink Research Association, Chipping Campden, Gloucestershire. England Technical Memo, N° 440.

Allen, J.C. et Hamilton, R.J. 1983. Rancidity in food. Applied Science Publishers. London and New York. 199 p.

Arnold, K.W. et Kaspar, C.W. 1995. Starvation-and stationary-phase induced acid tolerance in *Escherichia coli* O157:H7. *Appl. Env. Microbiol.* **61**: 2037-2039.

Arocha, M.M., Mcvey, M., Loder, S.D., Rupnow, J.H. et Bullerman, L. 1992. Behaviour of haemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture of cottage cheese. *J. Food Prot.* **55**: 379-381.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1995. Official methods of the association of Official Analytical Chemists. Chapter 39. 16th edition. Washington. D.C.

Barkate, M.L., Accuf, G.R., Lucia, L.M. et Hale, D.S. 1993. Hot water decontamination of beef carcasses for reduction of initial bacterial numbers. *Meat Sci.* **35:** 397-401.

Bartleson, C.A., Lewis, J.H., Barrett, T.J. et Wells, J.G. 1994. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers. The Washington experience. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **272:** 1349-1353.

Bell, C. et Kyriakides, A. 1998. *Escherichia coli*: a practical approach to the organism and its control in foods. Blackie Academic & Professional. New York. 200 p.

Benjamin, M.M. et Datta, A.R. 1995. Acid tolerance of enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Appl. Env. Microbiol.* **61:** 1669-1672.

Betts, G.D., Lyndon, G. et Brooks, J. 1993. Heat resistance of emerging foodborne pathogens: *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* O157:H7, *Plesiomonas shigelloides* and *Yersinia enterocolitica*. Campden Food and Drink Research Association, Chipping Campden, Gloucestershire, England, Technical Memo. N° 672.

Boccard, R. 1972. Couleur et tendreté de la viande. *Alembal.* **12:** 86-93.

Buchanan, R.L. et Bagi, L.K. 1994. Expansion of response surface models for the growth of *Escherichia coli* O157:H7 to include sodium nitrite as a viable. *Int. J. Food Microbiol.* **23:** 317-332.

Buchanan, R.L. et Edelson, S.G. 1996. Culturing enterohemorrhagic *Escherichia coli* in the presence and absence of glucose as a simple means of evaluating the acid tolerance of stationary-phase cells. *Appl. Env. Microbiol.* **62:** 4009-4013.

- Cabedo, L., Sofos, J.N. et Smith, G.C.** 1996. Removal of bacteria from beef tissue by spray washing after different times of exposure to fecal material. *J. Food Prot.* **59**: 1284-1287.
- Calicioglu, M., Faith, N.G., Buege, D.R. et Luchansky, J.B.** 1997. Viability of *Escherichia coli* O157:H7 in fermented semidry low-temperature-cooked beef summer sausage. *J. Food Prot.* **60**: 1158-1162.
- Calicioglu, M., Faith, N. G., Buege, D.R. et Luchansky, J.B.** 2001. Validation of a manufacturing process of fermented, semidry Turkish soudjouk to control *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food Prot.* **64**: 1156-1161.
- Campbell-Platt, G. et Cook, P.E.** 1995. Fermented meats. Blackie Academic & Professional. London. 242 p.
- Castillo, A., Lucia, L.M., Goodson, K.J., Savell, J.W. et Acuff, G.R.** 1998. Comparison of water wash, trimming, and combined hot water and lactic acid treatments for reducing bacteria of fecal origin on beef carcasses. *J. Food Prot.* **61**: 823-828.
- Centers For Disease Control and Prevention.** 1993. Update: Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections from hamburgers-western United States, 1992-1993. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **42**: 258-263.
- Centers For Disease Control and Prevention.** 1995. *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to commercially distributed dry-cured salami-Washington and California. 1994. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **44**: 157-159.
- Centers For Disease Control and Prevention.** 1995-a. Community outbreak of haemolytic uremic syndrome attributable to *Escherichia coli* O111:NM-South Australia, 1995. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **44**: 550-551, 557-558.
- Chang, Y-Y. et Cronnan, J.E.** 1999. Membrane cyclopropane fatty acid content is major factor in acid resistance of *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* **33**: 249-259.

- Chevill, A.M., Arnold, K.W., Buchrieser, C., Cheng, C.M. et Kaspar, C.W.** 1996. RpoS regulation of acid, heat, and salt tolerance in *Escherichia coli* O157:H7. *Appl. Env. Microbiol.* **62**: 1822-1824.
- Chikthimmah, N., Anantheswaran, R.C., Fobert, R.F., Mills, E.W. et Knabel, S.J.** 2001. Influence of sodium chloride on growth of lactic acid bacteria and subsequent destruction of *Escherichia coli* O157:H7 during processing of Lebanon bologna. *J. Food Prot.* **64**: 1145-1150.
- Clarke, S.C.** 2001. Diarrheagenic *Escherichia coli*-an emerging problem? *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **41**: 93-98.
- Clydesdale, F., Francis, F.** 1971. The chemistry of meat color. *Food Prod Develop.* **4**: 81-90.
- Conner, D.E.** 1992. Temperature and NaCl affect growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 in poultry-based and laboratory media. *J. Food Sci.* **57**: 532-533.
- Costerton, J.W., Cheng, K.-J., Geesey, G.C., Ladd, T.I., Nickel, J.C., Dasgupta, M. et Marrie, T.J.** 1987. Bacterial biofilms in nature and disease. *Ann. Rev. Microbiol.* **41**: 435-464.
- Dabin, E. et Jussiaux, R.** 1994. *Le saucisson sec*. ERTI, Paris. 216 p.
- D'Aoust, J.Y., Park, C.E., Szabo, R.A., Todd, E.C.D., Emmons, D.B. et Mckellar, R.C.** 1988. Thermal inactivation of *campylobacter species*, *Yersinia enterocolitica* and haemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in fluid milk. *J. Dairy Sci.* **71**: 3230-3236.
- Davey, K.R.** 1989. Theoretical analysis of two hot water cabinet systems for decontamination of beef sides. *Int. J. Food Sci. Technol.* **24**: 291-304.
- Davey, K.R.** 1990. A model for the hot water decontamination of sides of beef in a novel cabinet based on laboratory data. *Int. J. Food Sci. Technol.* **25**: 88-97.

Davey, K.R. et Smith, M.G. 1989. A laboratory evaluation of a novel hot water cabinet for the decontamination of beef sides. *Int. J. Food Sci. Technol.* **24**: 305-316.

Davies, A.R., Slade, A., Blood, R.M. et Gibbs, P.A. 1992. Effect of temperature and pH value on the growth of verotoxigenic *E. coli*. Letherhead Food Res Assoc., Research Report, N° 691.

Donnenberg, M.S. et Whittam, T.S. 2001. Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J. Clin. Invest.* **107**: 539-548.

Dorsa, W.J., Cutter, C.N. et Siragusa, G.R. 1997. Effects of steam vacuuming and hot water spray wash on the microflora of refrigerated beef carcass surface tissue inoculated with *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria innocua*, and *Clostridium sporogenes*. *J. Food Prot.* **60**: 114-119.

Dorsa, W.J., Cutter, C.N., Siragusa, G.R. et Koochmaraie, M. 1996. Microbial decontamination of beef and sheep carcasses by steam, hot water spray washes, and a steam-vacuum sanitizer. *J. Food Prot.* **59**: 127-135.

Doyle, M.P. 1991. *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *Int. J. Food Microbiol.* **12**: 289-302.

Doyle, M.P. et Schoeni, J.L. 1984. Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* associated with haemorrhagic colitis. *Appl. Env. Microbiol.* **48**: 855-856.

Doyle, M.P. et Schoeni, J.L. 1987. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Appl. Env. Microbiol.* **53**: 2394-2396.

Doyle, M.P., Zhao, T., Meng, J. et Zhao, S. 1989. Foodborne pathogenic bacteria. Chap. 10. M. Dekker. New York. 796 p.

Doyle, M.P., Zhao, T., Meng, J. et Zhao, S. 1997. *Escherichia coli* O157:H7. Ch. 10. In *Food Microbiol: Fundamentals and Frontiers*, 1st Ed., (M.P. Doyle, L.R. Beuchat and T.J. Montville, eds.) pp. 171-191. ASM Press, Washington, DC.

- Eighmy, T.T., Maratae, D. et Bishop, P.L.** 1983. Electron microscopic examination of wastewater biofilm formation and structural components. *Appl. Env. Microbiol.* **45**: 1921-1931.
- Eliott, R.P.** 1963. Temperature-gradient incubator for determining the temperature range of growth of micro-organisms. *J. Bacteriol.* **85**: 889-894.
- Ellajosyula, K.R., Doores, S., Mills, E.W., Wilson, R.A., Anantheswaran, R.C. et Knabel, S.J.** 1998. Destruction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* in Lebanon bologna by interaction of fermentation pH, heating temperature, and time. *J. Food Prot.* **61**: 152-157.
- Endo, Y., Tsurugi, K., Yutsudo, T., Takeda, Y., Ogasawara, T. et Igarashi, K.** 1988. Site of action of verocytotoxin (VT2) from *Escherichia coli* O157:H7 and of Shiga toxin on eukaryotic ribosomes. RNA N-glycosides activity of the toxin. *Eur. J. Biochem.* **171**: 45-50.
- Erickson, J.P., Stamer, J.W., Hayes, M., Mckenna, D.N. et Van Alstine, L.A.** 1995. An assessment of *Escherichia coli* O157:H7 contamination risks in commercial mayonnaise from pasteurized eggs and environmental sources, behavior in low pH dressings. *J. Food Prot.* **58** (10): 1059-1064.
- Faith, N.G., Parniere, N., Larson, T., Lorang, T.D. et Luchansky, J.B.** 1997. Viability of *Escherichia coli* O157:H7 in pepperoni during the manufacture of sticks and the subsequent storage of slices at 21, 4 and -20°C under air, vacuum and CO₂. *Int. J. Food Microbiol.* **37**: 47-54.
- Faith, N.G., Parniere, N., Larson, T., Lorang, T.D., Kaspar, C.W. et Luchansky, J.B.** 1998-a. Viability of *Escherichia coli* O157:H7 in salami following conditioning of batter, fermentation and draying of sticks, and storage of slices. *J. Food Prot.* **61**: 377-382.

- Faith, N.G., Wierzba, R.K., Ihnot, A.M., Roering, A.M., Lorang, T.D., Kaspar, C.W. et Luchansky, J.B.** 1998-b. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in full-and reduced-fat pepperoni after manufacture of sticks, storage of slices at 4°C or 21°C under air and vacuum, and baking of slices on frozen pizza at 135, 191, and 246°C. *J. Food Prot.* **61**: 383-389.
- Frankel, G., Phillips, A.D., Rosenshine, I., Dougan, G., Kaper, J.B. et Knutton, S.** 1998. Enteropathogenic and enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: more subversive elements. *Mol. Microbiol.* **30**: 911-921.
- Getty, K.J.K., Phebus, R.K., Marsden, J.L., Fung, D.Y.C. et Kastner, C.L.** 2000. *Escherichia coli* O157 and fermented sausages: a review. *J. Rapid Methods. Autom. Microbiol.* **8**: 141-170.
- Getty, K.J.K., Phebus, R.K., Marsden, J.L., Schwenke, J.R. et Kastner, C.L.** 1999. Control of *Escherichia coli* O157 in large (115 mm), and intermediate (90 mm) diameter Lebanon-style bologna. *J. Food Sci.* **64**: 1100-1107.
- Ghebru, H.** 1988. Contribution à l'étude du pouvoir pathogène des *Escherichia coli*. Mémoire de maîtrise des sciences vétérinaire en microbiologie immunologie: Nantes.
- Gill, C.O. et Badoni, M.** 2002. Microbiological and organoleptic qualities of vacuum-packaged ground beef prepared from pasteurized manufacturing beef. *Int. J. Food Microbiol.* **74**: 111-118.
- Gill, C.O., Badoni, M. et McGinnis, J.C.** 1999. Assessment of the adequacy of cleaning of equipment used for breaking beef carcasses. *Int. J. Food Microbiol.* **46**: 1-8.
- Gill, C.O., Bedard, D. et Jones, T.** 1997. The decontaminating performance of a commercial apparatus for pasteurizing polished pig carcasses. *Food Microbiol.* **14**: 71-79.
- Gill, C.O., Bryant, J. et Badoni, M.** 2001. Effects of hot water pasteurizing treatments on the microbiological condition of manufacturing beef used for hamburger patty manufacture. *Int. J. Food Microbiol.* **63**: 243-256.

Glass, K.A., Loeffelholz, J.M., Ford, J.P. et Doyle, M.P. 1992. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chloride and in fermented, dry sausage. *Appl. Env. Microbiol.* **58**: 2513-2516.

Gorman, B.M., Sofos, J.N., Morgan, J.B., Schmidt, G.R. et Smith, G.C. 1995. Evaluation of hand-trimming, various sanitizing agents, and hot water spray-washing as decontamination interventions of beef brisket adipose tissue. *J. Food Prot.* **58**: 899-907.

Govindarajan, S. 1973. Fresh meat color. *Crit. Rev. Food Technol.* **4**: 117-140.

Graves Delmore, L.R., Sofos, J.N., Reagan, J.O. et Smith, G.C. 1997. Hot water rinsing and trimming/washing of beef carcasses to reduce physical and microbiological contamination. *J. Food Sci.* **61**: 373-376.

Greatorex J.S. et Thorne G.M. 1994. Humoral immune responses to Shiga-like toxins and *Escherichia coli* O157 lipopolysaccharide in hemolytic-uremic syndrome patients and healthy subjects. *J. Clin. Microbiol.* **32**: 1172-1178.

Griffin, P.M., Mead, P.S., Gilder, T.V., Hunter, S.B., Stroockbinc, N.A. et Tauxe, R.V. 2000. Shiga toxin-producing *E. coli* infections in the United State: Current status and challengs. 4th International Symposium and Workshop on shiga Toxin (Verocytotoxin). Producing *Escherichia coli* Infection. Kyoto, 29 octobre-2 novembre 2000.

Griffin, P.M. et Tauxe, R.V. 1991. The epidemiology of infections caused by *Esherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli* and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol. Rev.* **13**: 60-98.

Grimm, L.M., Goldoft, M., Kobayashi, J., Lewis, J.H., Alfi, D., Perdichizzi, A.M., Tarr, P.I., Ongerth, J.E. et Samadpour, M. 1995. Molecular epidemiology of a fast-food restaurant-associated outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 in Washington state. *J. Clin. Microbiol.* **33**: 2155-2158.

Grimont P.A.D. 1987. Taxonomie des *Escherichia coli*. *Méd. Mal. Infect.* 6-10.

- Hartland, E.L., Batchelor, M., Delahay, R.M., Hale, C., Matthews, S., Dougan, G., Heuvelink, A.E., Van De Kar, N.C.A.J., Meis, J.F.G.M., Monnens, L.A.H. et Melchers, J.G.** 1999. Characterization of verocytotoxin-producing *Esherichia coli* O157:H7 isolates from patients with haemolytic uraemic syndrome in western Europe. *Epidemiol. Infect.* **115**: 1-14.
- Head, S., Karmali, M.A. et Lingwood, C.A.** 1991. Preparation of VT1 and VT2 hybrid toxins from their purified dissociated subunit. Evidence for B subunit modulation of A subunit function. *J. Biol. Chem.* **266**: 3617-3621.
- Hinkens, J.C., Faith, N.G., Lorang, T.D., Bailey, P., Buege, D., Kaspar, C.W. et Luchanski, J.B.** 1996. Validation of pepperoni processes for control of *Esherichia coli* O157:H7. *J. Food Prot.* **59**: 1260-1266.
- Igarashi, K., Ogasawara, T., Ito, K., Yutsudo, T. et Takeda, Y.** 1987. Inhibition of elongation factor I-dependant aminoacyl-tRNA binding to ribosomes by Shiga-like toxin I (VTI) from *Esherichia coli* O157:H7 and by Shiga toxin. *FEMS Microbiol. Lett.* **44**: 91-94.
- Incze, K.** 1998. Dry fermented sausages. *Meat Sci.* **49**: S169-S177.
- Jackson, T.C., Hardin, M.D. et Accuf, G.R.** 1996. Heat resistance of *Esherichia coli* O157:H7 in a nutrient medium and in ground beef patties as influenced by storage and holding temperatures. *J. Food Prot.* **59**: 230-237.
- Jay, J.M.** 2000. *Modern food microbiology*. 6th edition. Aspen Publisher. Maryland. USA. 679 p.
- Jerse, A.E. et Kaper, J.B.** 1991. The *eae* gene of enteropathogenic *Esherichia coli* encodes a 94- Kilodalton membrane protein, the expression of which is influenced by the EAF plasmid. *Infect. Immun.* **59**: 4302-4309.
- Jerse, A.E., Yu, J., Tall, B.D. et Kapper, J.B.** 1990. A genetic locus of enteropathogenic *Esherichia coli* necessary for the production of attaching and effacing lesions on tissue culture cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **87**: 7839-7843.

- Jouenne, T., Tresse, O. et Junter, G.-A.** 1994. Agar-entrapped bacteria as an in vitro model of biofilms and their susceptibility to antibiotics. *FEMS Microbiol. Lett.* **119**: 237-242.
- Kaper, J.B., Elliott, S.J., Sperandio, V., Perna, N.T., Mayhew, G.F. et Blattner, F.R.** 1998. Attaching-and-effacing intestinal histopathology and the locus of enterocyte effacement, pp: 163-182. In Kaper, J.B. and O'Brien, A.D. (ed.). *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga Toxin-Producing *E. Coli* Strains. ASM Press. Washington. D.C.
- Kaper, J.B. et Hacker, J.** 1999. Pathogenicity islands and other mobile virulence elements. ASM Press. Washington. D.C. 352 p.
- Kenny, B.** 1999. Phosphorylation of tyrosine 474 of the entero-pathogenic *Escherichia coli* (EPEC) Tir receptor molecule is essential for actin nucleating activity and is preceded by additional host modifications. *Mol. Microbiol.* **31**: 1229-1241.
- Kenny, B., Devinney, R., Stein, M., Reinscheid, D.J., Frey, E.A. et Finlay, B.B.** 1997. Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) transfers its receptor for intimate adherence into mammalian cells. *Cell.* **91**: 511-520.
- Knutton, S., Rosenshine, I., Pallen, M.J., Nisan, I., Neves, B.C., Bain, C., Wolff, C., Dougan, G. et Frankel, G.** 1998. A novel EspA-associated surface organelle of enteropathogenic *Escherichia coli* involved in protein translocation into epithelial cells. *EMBO. J.* **17**: 2166-2176.
- Kochevar, S.L., Sofos, J.N., Levalley, S.B. et Smith, G.C.** 1997. Effect of water temperature, pressure and chemical solution on removal of fecal material and bacteria from lamb adipose tissue by sprat-washing. *Meat Sci.* **45**: 377-388.
- Koniecko, E.** 1985. Handbook of meat analysis. 2nd edition. Avery Pub Group édition. 289 p.
- Lacasse, D.** 1995. Introduction à la microbiologie alimentaire. St Martin édition. Paris. 702 p.

Laskin, A. et Lechevalier, H. 1994. Handbook of microbiology. 2nd edition. Vol. 1. CRC Press. Ohio. p. 1-15.

Lawrie, R. 1974. The eating quality of meat. Meat Sci. 2nd edition. Oxford, Pergamon Press. p: 286-345.

Levine, M.M. *Escherichia coli* that cause diarrhea 1987. Enterotoxigenic, Enteropathogenic, Enteroinvasive, Enterohemorrhagic, and Enteroadherent. J. Inf. Dis. **155**: 377-380.

Leyer, G.J., Wang, L. et Jonhson, E.A. 1995. Acid adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 increases survival in acidic foods. Appl. Env. Microbiol. **61**: 3752-3755.

Lin, J., Smith, M.P., Chapin, K.C., Baik, H.S., Bennett, G.N. et Foster, J.W. 1996. Mechanisms of acid resistance in enterohemorrhagic *Esherichia coli*. Appl. Env. Microbiol. **62**: 3094-3100.

Luks, D., Lenges, J. et Jacqmain, D. 1973. Evaluation objective de la coloration de la surface d'un produit alimentaire. Application à la viande de porc cuite. Industries alimentaires et agricoles. **5**: 599-607.

McCauley, W.H. 1997. Control of *Escherichia coli* O157:H7 in dry, fermented sausage using low temperature thermal processing and *Lactobacillus plantarum* starter culture. M.S. Thesis, Kansas State Univ., Manhattan.

McDaniel, T.K., Jarvis, K.G., Donnenberg, M.S. et Kaper, J.B. 1995. A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **92**: 1664-1668.

McDonald, D., Fyfe, M., Paccagnella, A., Fung, J., Harb, J. et Louise, K. 2001. Éclosion d'infection à *Escherichia coli* O157:H7 liée à du salami, Colombie-Britannique, Canada, 1999. Disponible au http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgspsp/fetp-pfei/abs01_f.html.

- Milley, D.G. et Sekla, L.H.** 1993. An enzyme-linked immunosorbent assay-based isolation procedure for verotoxigenic *Escherichia coli* O157:H7. *Appl. Env. Microbiol.* **59**: 4223-4229.
- Murano, E.A. et Pierson, M.D.** 1992. Effect of heat shock and growth atmosphere on the heat resistance of *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food Prot.* **55**: 171-175.
- Naim, F., Messier, S., Saucier, L. et Piette, G.** 2003. A model study of *Escherichia coli* O157:H7 survival in fermented dry sausages-influence of inoculum preparation, inoculation procedure and selected process parameters. *J. Food Prot.* **66 (12)**: 2267-2275.
- Nataro, J.P. et Kaper, J.B.** 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.* **11**: 142-201.
- Nickelson II, R., Luchansky, J., Kasper, C. et Johnson, E.** 1996. Dry fermented sausage and *Escherichia coli* O157:H7. Research Report No. 11-316. Blue Ribbon Task Force, National Cattleman's Beef Association, Chicago.
- Nissen, H. et Holk, A.** 1998. Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenese* and *Salmonella Kentucky* in Norwegian fermented, dry sausage. *Food Microbiol.* **15**: 273-279.
- Ogasawara, T., Ito, K., Igarashi, K., Yutsudo, T., Nakabayashi, N. et Takeda, Y.** 1988. Inhibition of protein synthesis by a Verocytotoxin (VT2 or Shiga-like toxin II) produced by *Escherichia coli* O157:H7 at the level of elongation factor 1-dependent aminoacyl-Trna building to ribosomes. *Microbiol. Pathogen.* **4**: 127-135.
- Pearson, G.R., Watson, C.A., Hall, G.A. et Wray, C.** 1989. Natural infection with an attaching and effacing *Escherichia coli* in the small and large intestines of a calf with diarrhoea. *Vet. Rec.* **124**: 297-299.
- Piette, J.-P.G., Fortin, J.R., Hok, L. et Durand, N.C.** 1997. Use of digitalized images to visually assess color of cooked sausages. *J. Muscle Foods.* **8**: 357-371.

- Powell, D.A.** 16 Novembre 1999. Fleetwood Sausage Company extends investigation of confirmed contamination *E. coli* scare prompts salami recall. Disponible au: fsnet-1@listserv.uoguelph.ca.
- Price, S.B., Cheng, C.M., Kaspar, C.W., Wright, J.C., DeGraves, F.J., Penfound, T.A., Castanie-Cornet, P.P. et Foster, J.W.** 2000. Role of *RpoS* in acid resistance and fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7. *Appl. Env. Microbiol.* **66**: 632-637.
- Reagan, J.O., Acuff, G.R., Buege, D.R., Buyck, M.J., Dickson, J.S., Kastner, C.L., Marsden, J.L., Morgan, J.B., Nickelson II, R., Smith, G.C. et Sofos, J.N.** 1996. Trimming and washing of beef carcasses as a method of improving the microbiological quality of meat. *J. Food Prot.* **59**: 751-756.
- Ricke, S.C. et Keeton, J.T.** 1997. Fermented meat, poultry, and fish product. Ch. 33 in *Food Microbiol: Fundamentals and frontieres*, 1st ed., (M.P. Doyle, L.R. Beuchat and T.J. Montville, eds) pp. 610-628. ASM Press, Washington, DC.
- Riley, L.W., Remis, R.S., Helgerson, S.D., MC Gee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., Herbert, R.J., Johnson, L.M., Margrett, N.T., Blake, P.A. et Cohen M.L.** 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N. Engl. J. Med.* **308**: 681-685.
- Riordan, D.C.R., Duffy, G., Sheridan, J.J., Eblen, B.S., Whiting, R.C., Blair, I.S. et McDowell, D.A.** 1998. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture of pepperoni. *J. Food Prot.* **61**: 146-151.
- Rosset, M.-R. et Liger, P.** 1979. La couleur de la viande. *Actualités Scientifiques et Techniques en Industries Agro-alimentaires*. Lavoisier Tec et Doc. N° 22. 121 p.
- Rowe, M.T. et Kirl, R.** 1999. An investigation into the phenomenon of cross-protection in *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiol.* **16**: 157-164.
- Saheb, J.** 1968. Chélation du fer et pigmentation musculaire du veau de boucherie. Thèse doctorat, 3^{ème} cycle. Paris, Faculté des sciences. 78p.

- Sandvig, K. et Van Deurs, B.** 1996. Endocytosis, intracellular transport, and cytotoxic action of shiga toxin and ricin. *Physiol. Rev.* **76** : 949-966.
- Slayers, A.A . et Whitt, D.D.** 1994. Bacterial pathogenesis: a molecular approach. Chap. 16 et Chap. 17. ASM Press. Washington. D.C. 418 p.
- Small, P., Blankenhorn, D., Welty, D., Zinser, E. et Slonczewski, J.L.** 1994. Acid and base resistance in *Escherichia coli* and *Shigella flexneri*: Role of *rpoS* and Growth pH. *J. Bacteriol.* **176** : 1729-1737.
- Smith, M.G.** 1992. Destruction of bacteria on fresh meat by hot water. *Epidemiol. Infect.* **109**: 491-496.
- Smith, M.G. et Davey, K.R.** 1990. Destruction of *Escherichia coli* on sides of beef by a hot water decontamination process. *Food Australia.* **42**: 195-198.
- Smith, M.G. et Graham, A.** 1978. Destruction of *Escherichia coli* and *Salmonellae* on mutton carcasses by treatment with hot water. *Meat Sci.* **2**: 119-128.
- Sofos, J.N. et Smith, G.C.** 1998. Nonacid meat decontamination technologies: Model studies and commercial applications. *Int. J. Food Microbiol.* **44**: 171-188.
- Sperber, W.H.** 1983. Influence of water activity on foodborne bacteria. A review. *J. Food Prot.* **46**: 142-150.
- Strockbine, N.A., Jackson, M.P., Sung, L.M., Holmes, R.K. et O'brien, A.D.** 1988. Cloning and sequencing of the genes for shiga toxin from *Shigella dysenteriae* type 1. *J. Bacteriol.* **170**: 1116-1122.
- Sungsu, P., Randy, W.W. et Richard, A.D.** 1999. *Escherichia coli* O157:H7 as an emerging foodborne pathogen: a literature review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **36**: 481-502.
- Sussman, M.** 1985. The virulence of *Escherichia coli*: Reviews and Methods. Academic Press. London. 473p.

- Tarr, P.I.** 1995. *Escherichia coli* O157:H7: Clinical, diagnostic and epidemiological aspects of human infection. *Clin. Infect. Dis.* **20**: 1-10.
- Tarr, P.I., Tran, N.T. et Wilson, R.A.** 1999. *Escherichia coli* O157:H7 in retail ground beef in Seattle : results of a one-year prospective study. *J. Food Prot.* **62**: 133-139.
- Thompson, J.E., Bailey, J.S. et Cox, N.A.** 1979. Phosphate and heat treatments to control *Salmonella* and reduce spoilage and rancidity on broiler carcasses. *Poultry Sci.* **58**: 139-143.
- Todd, E., Hughes, A., Mackenzie, J., Caldeira, R., Gleeson, T. et Brown, B.** 1993. Thermal resistance of verotoxigenic *Escherichia coli* in ground beef – initial work. In: Todd (E.C.D), MacKenzie (J.M.) editors. Proceedings of a workshop on methods to isolate *Escherichia coli* O157:H7 and other verotoxigenic *Escherichia coli* in foods, Ottawa, Canada, 1991 Mar 18-19, Polyscience Publications Inc. 93-110.
- Tzipori, S., Gibson, R. et Montanaro, J.** 1989. Nature and distribution of mucosal lesions associated with enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* in piglets and the role of plasmid-mediated factors. *Infect. Immun.* **57**: 1142-1150.
- Vernozy-Rozand, C. et Montet, M.-P.** 2001. *Escherichia coli* O157:H7. Editions Tec et Doc. Paris. 135 p.
- Vernozy-Rozand, C. et Ray-Gueniot, S.** 1997. *Escherichia coli* O157:H7 étude clinique, pathogénique, épidémiologique et prévention, des accidents alimentaires. *Rev. Med. Vét.* **148**: 89-98.
- Zhao, T., Doyle, M.P. et Besser, R.E.** 1993. Fate of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider with and without preservatives. *Appl. Env. Microbiol.* **59**: 2526-2530.
- Zhao, T., Doyle, M.P., Shere, J. et Garber, L.** 1995. Prevalence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in a survey of dairy herds. *Appl. Env. Microbiol.* **61**: 1290-1293.

CHAPITRE VIII

ANNEXES

Tableau A.1: Analyse de variance des résultats de la figure 5.

Source de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	Valeur de F	Probabilité que F > F calculé
A. zone foncée					
Traitement	1	2.17	2.17	0.28	0.5981 NS
Temps	3	3.78	1.26	0.16	0.9219 NS
Traitement*Temps	3	22.37	7.45	0.96	0.4135 NS
B. zone claire					
Traitement	1	335.83	335.83	32.70	< 0.0001***
Temps	3	96.09	32.03	3.12	0.0263*
Traitement*Temps	3	128.42	42.80	4.17	0.0065*
<i><u>Traitement = btp</u></i>					
Temps	3	21.57	7.19	0.72	0.5430 NS
<i><u>Traitement = btpt</u></i>					
Temps	3	202.96	67.64	6.39	0.0004***
<i><u>Temps = 30 s</u></i>					
Traitement	1	4.01	4.01	0.50	0.4288 NS
<i><u>Temps = 60 s</u></i>					
Traitement	1	56.88	56.88	6.39	0.0137*
<i><u>Temps = 90 s</u></i>					
Traitement	1	86.68	86.68	8.83	0.0041**
<i><u>Temps = 120 s</u></i>					
Traitement	1	316.68	316.68	21.91	< 0.0001***

Tableau A.2: Valeurs moyennes de L^* de la première et de la deuxième répétition prises dans les zones claires et foncées des tranches de saucissons fermentés-séchés.

Temps (s)	Zone claire (btp)	Zone foncée (btp)	Zone claire (btpt)	Zone foncée (btpt)
0	30.92 ± 3.17	28.14 ± 3.29		
30	32.27 ± 1.87	26.43 ± 3.30	33.00 ± 3.40	27.08 ± 2.64
60	31.56 ± 3.11	27.31 ± 2.33	33.33 ± 2.85	26.17 ± 3.02
90	32.33 ± 3.28	26.94 ± 2.70	34.53 ± 2.98	27.08 ± 2.41
120	31.83 ± 3.89	26.92 ± 2.42	36.03 ± 3.71	27.06 ± 2.90

0 s = bp (bœuf non traité, porc non traité); btp = bœuf traité, porc non traité; btpt = bœuf traité, porc traité.

Tableau A.3: Analyse de variance des résultats de la figure 6.

Source de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	Valeur de F	Probabilité que $F > F$ calculé
A.zone foncée					
Traitement	1	43.55	43.55	19.09	< 0.0001***
Temps	3	5.34	1.78	0.78	0.5052 NS
Traitement*Temps	3	5.36	1.78	0.78	0.5040 NS
B.zone claire					
Traitement	1	129.33	129.33	80.26	< 0.0001***
Temps	3	1.01	0.33	0.21	0.8901 NS
Traitement*Temps	3	10.17	3.39	2.11	0.0995 NS

Tableau A.4: Valeurs moyennes de a^* de la première et de la deuxième répétition prises dans les zones claires et foncées des tranches de saucissons fermentés-séchés.

Temps (s)	Zone claire (btp)	Zone foncée (btp)	Zone claire (btpt)	Zone foncée (btpt)
0	25.86 ± 0.90	34.17 ± 1.54		
30	24.97 ± 1.16	34.00 ± 1.51	23.75 ± 1.79	33.17 ± 1.28
60	25.28 ± 1.18	34.06 ± 1.43	23.75 ± 1.40	32.86 ± 1.10
90	25.47 ± 0.97	34.06 ± 1.01	23.75 ± 1.59	33.61 ± 1.48
120	24.89 ± 1.01	33.94 ± 1.58	24.17 ± 1.13	33.28 ± 2.31

0 s = bp (bœuf non traité, porc non traité); btp = bœuf traité, porc non traité; btpt = bœuf traité, porc traité.

Tableau A.5: Analyse de variance des résultats de la figure 7.

Source de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	Valeur de F	Probabilité que $F > F_{calculé}$
A.zone foncée					
Traitement	1	3.78	3.78	0.60	0.4387 NS
Temps	3	45.56	15.18	2.41	0.0666 NS
Traitement*Temps	3	21.59	7.19	1.14	0.3313 NS
B.zone claire					
Traitement	1	2.00	2.00	0.57	0.4525 NS
Temps	3	79.75	26.58	7.52	< 0.0001***
Traitement*Temps	3	5.69	1.89	0.54	0.6573 NS

Tableau A.6: Valeurs moyennes de b^* de la première et de la deuxième répétition prises dans les zones claires et foncées des tranches de saucissons fermentés-séchés

Temps (s)	Zone claire (btp)	Zone foncée (btp)	Zone claire (btpt)	Zone foncée (btpt)
0	10.69 ± 1.98	15.47 ± 2.40		
30	09.80 ± 1.69	14.97 ± 2.54	10.14 ± 1.78	14.56 ± 2.45
60	10.72 ± 1.97	15.36 ± 2.75	10.81 ± 1.98	14.89 ± 2.67
90	11.11 ± 2.07	16.22 ± 2.70	10.94 ± 1.84	15.42 ± 2.39
120	11.22 ± 2.07	14.94 ± 2.03	11.83 ± 1.21	15.61 ± 2.65

0 s = bp (bœuf non traité, porc non traité); btp = bœuf traité, porc non traité; btpt = bœuf traité, porc traité.

Tableau A.7: Analyse de variance des résultats de la figure 9.

Source de variance	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	Valeur de F	Probabilité que $F > F_{calculé}$
Traitement	1	0.20	0.20	0.37	0.5479 NS
Temps	3	4.66	1.55	2.73	0.0526 NS
Traitement*temps	3	0.37	0.12	0.22	0.8827 NS
Entreposage	1	0.86	0.86	1.51	0.2237 NS
Traitement*Entreposage	1	1.24	1.24	2.18	0.1457 NS
Temps*Entreposage	3	0.51	0.17	0.30	0.8225 NS
Traitement*Temps *Entreposage	3	0.22	0.07	0.13	0.9422 NS

Tableau A.8: Valeurs moyennes de TBA (mg de malonaldéhyde/kg de viande) de la première et de la deuxième répétition prises à 0 et 14 jours.

Temps (s)	Btp (0 jours)	Btp (14 jours)	Btpt (0 jours)	Btpt (14 jours)
0	1.77 ± 0.41	2.46 ± 0.33		
30	2.60 ± 1.37	2.34 ± 0.88	2.53 ± 0.73	2.93 ± 0.72
60	2.45 ± 0.99	2.12 ± 0.65	2.30 ± 0.18	2.81 ± 0.40
90	2.25 ± 1.21	2.00 ± 1.02	2.10 ± 0.94	2.05 ± 0.21
120	1.88 ± 0.72	1.97 ± 0.90	1.59 ± 0.27	2.20 ± 0.07

0 s = bp (bœuf non traité, porc non traité); btp = bœuf traité, porc non traité; btpt = bœuf traité, porc traité.

Tableau A.9: Analyse de variance des résultats de la figure 7.

	Degrés liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	Valeur de F	Probabilité que F calculé > F
Total corrigé	215	412.82			
Procédé	3	266.99	88.99	414.56	< 0.0001***
Temps	2	85.98	42.99	200.25	< 0.0001***
Procédé*temps	6	16.05	2.67	12.46	< 0.0001***
<u>Procédé = mélange</u>					
temps	2	34.09	17.04	474.19	< 0.0001***
<u>Procédé = fermentation</u>					
temps	2	35.63	17.81	66.65	< 0.0001***
<u>Procédé = séchage</u>					
Temps	2	30.82	15.41	31.46	< 0.0001***
<u>Procédé = entreposage</u>					
Temps	2	1.48	0.74	11.31	< 0.0001***
<u>Temps = 0 s</u>					
Procédé	3	151.24	50.41	380.39	< 0.0001***
<u>Temps = 60 s</u>					
Procédé	3	77.46	25.82	186.70	< 0.0001***
<u>Temps = 120 s</u>					
Procédé	3	54.34	18.11	48.54	< 0.0001***

Tableau A.10: Effet du trempage à l'eau chaude (85°C) sur la population viable de *E. coli* O157:H7 5-1 inoculée à la surface de pièces de bœuf et dénombrée à différentes étapes de la production des saucissons.

procédé	Temps (s)	Log cfu/g
	0	6.11 ± 0.16
mélange	60	4.68 ± 0.17
	120	4.26 ± 0.23
fermentation	0	5.51 ± 0.54
	60	4.09 ± 0.35
	120	3.60 ± 0.62
séchage	0	4.49 ± 0.13
	60	3.08 ± 0.63
	120	2.77 ± 1.01
entreposage	0	2.31 ± 0.44
	60	1.96 ± 0.01
	120	1.96 ± 0.01

