
Alternative à la castration chirurgicale du porcelet. Evaluation de la vaccination contre l'odeur de verrat dans la viande

« AlCaPorc »



Réf. 2998
Projet subventionné par le Service public de Wallonie,
Direction générale opérationnelle de l'Agriculture, des Ressources
naturelles et de l'Environnement



« Le risque d'odeur de verrat »

J. Wavreille, S. Dufourny, V. Servais, N. Gillard, J.P. Ghys, D. Frankson,
M. Moerman, G. Minne, P. Delahaut
(Octobre 2014)

Centre wallon de Recherches agronomiques

Département Productions et Filières - Unité Mode d'Élevage, Bien-être et Qualité
Bâtiment Bertrand Vissac. Rue de Liroux, 8 - 5030 GEMBLoux



Wallonie

« Le risque d'odeur de verrat »

J. Wavreille¹, S. Dufourny¹, V. Servais¹, N. Gillard², J.P. Ghys¹, D. Frankson¹,
M. Moerman¹, G. Minne¹, P. Delahaut²

(Octobre 2014)

¹ CRA-W, Département Productions et Filières, rue de Liroux, 8
B-5030 Gembloux

² CER-Groupe, Département Santé, rue du point du jour, 8
B-6900 Marloie

Responsabilité :

Les auteurs ne peuvent être tenus responsables de l'utilisation du contenu de ce rapport.

Remerciements :

De vifs remerciements sont adressés à toutes les personnes impliquées de près ou de loin à ce rapport, en particulier à Sandrine Dufourny, ingénieur en charge du projet, René Bride, Suat Karasular, Yvon Letellier, Vincent Servais, Marc Van Mechelen-Jadoul, les techniciens et ouvriers qui œuvrent au quotidien au sein de la porcherie expérimentale du CRA-W, Delphine Frankson, Jean-Paul Ghys, Geneviève Minne, Marie Moerman les jurés du CRA-W pour les analyses sensorielles, Nathalie Gillard et Philippe Delahaut du Département Santé du CER-Groupe pour les analyses chimiques.

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	1
2. MATERIEL ET METHODE.....	2
2.1. Deux protocoles sur animaux	2
2.2. Analyses chimiques.....	3
2.2.1. Echantillons portés à l'analyse.....	3
2.2.2. Règles de décision d'un échantillon positif ou négatif chimiquement.....	4
2.3. Analyses sensorielles au laboratoire	5
2.3.1. Premier protocole	5
2.3.2. Second protocole	6
2.3.3. Comparaison des deux méthodes : chimique et sensorielle	6
3. RESULTATS ET DISCUSSION	9
3.1. Effet du type sexuel sur l'odeur de verrat	9
3.2. Efficacité du médicament immunologique	11
3.3. Effet de bande chez les mâles	11
3.4. Effet du logement : mâles seuls ou mâles avec femelles	12
3.5. Risque d'odeur chez les mâles.....	14
3.6. Comparaison avec l'évaluation sensorielle au laboratoire	14
3.6.1. Echantillons de femelles, castrats ou mâles immunotraités	14
3.6.2. Echantillons de mâles	15
4. CONCLUSIONS	17
ANNEXE	1
Protocole d'analyse chimique	1
Préparation des pools de standards.....	1
Courbe de calibration	2
Contrôles qualité.....	2
Protocole d'extraction des composés de l'odeur de verrat	2
Paramètres UPLC-MS/MS.....	3

Liste des tableaux

Tableau 1 : Nombre d'échantillons pour les analyses chimiques et sensorielles	3
Tableau 2 : Performance de la méthode sensorielle au laboratoire.....	7

Liste des graphiques

Graphique 1 : Représentation de l'acceptabilité chimique par la règle "ET"	4
Graphique 2 : Représentation de l'acceptabilité chimique par la règle « OU ».....	5
Graphique 3: Analyses chimiques de gras de femelles	9
Graphique 4 : Analyses chimiques de gras de castrats	9
Graphique 5 : Analyses chimiques de gras de mâles immunotraités	10
Graphique 6 : Analyses chimiques de gras de mâles	10
Graphique 7 : Analyses chimiques de gras de mâles de la bande 2.....	11
Graphique 8 : Analyses chimiques de gras de mâles de la bande 3.....	11
Graphique 9 : Analyses chimiques de gras de mâles de la bande 4.....	11
Graphique 10 : Analyses chimiques de gras de mâles de la bande 5.....	11
Graphique 11 : Analyses chimiques des gras de mâles logés seuls	12
Graphique 12 : Analyses chimiques des gras de mâles logés avec des femelles	12
Graphique 13 : Analyses chimiques des gras de mâles logés seuls de la bande 1.....	13
Graphique 14 : Analyses chimiques des gras de mâles logés seuls de la bande 2.....	13
Graphique 15 : Analyses chimiques des gras de mâles logés avec des femelles de la bande 1	13
Graphique 16 : Analyses chimiques des gras de mâles logés avec des femelles de la bande 2	13
Graphique 17 : Analyses chimiques des gras de mâles logés seuls (premier et second protocoles)	14
Graphique 18 : Performance des « nez humains » au laboratoire (méthode « ET »).....	15
Graphique 19 : Performance des « nez humains » au laboratoire (méthode « OU »)	16

1. Introduction

Le projet AICaPorc, « alternative à la castration chirurgicale des porcelets », subventionné par le Service Public de Wallonie, Direction générale opérationnelle de l'Agriculture, des Ressources naturelles et de l'Environnement, prévoyait un volet relatif à la détermination du risque d'odeur de verrat pour les carcasses faisant l'objet des travaux réalisés au travers des deux protocoles mis en œuvre (cf. les rapports techniques finaux de juin 2013 et de mars 2014).

Plusieurs méthodes sont disponibles pour détecter et mesurer l'odeur de verrat :

- l'analyse chimique via la chromatographie et la spectrométrie de masse ;
- l'analyse sensorielle par la technique du « nez humain » qui peut être réalisée directement à l'abattoir sur les carcasses ou au laboratoire sur des échantillons de gras.

Le présent document rapporte les résultats relatifs à l'odeur de verrat déterminée au travers des deux objectifs de l'étude « AICaPorc », à savoir :

- 1° déterminer l'effet du type sexuel (femelles, castrats, mâles, mâles immunotraités) sur les performances zootechniques, le comportement des porcs charcutiers, la qualité des carcasses et la qualité de la viande dont le risque d'odeur de verrat et par conséquent l'efficacité du médicament à action immunologique ;
- 2° déterminer l'effet du mélange des sexes dans les loges d'engraissement sur les mêmes paramètres.

Il vise également à déterminer la fréquence du défaut d'odeur chez les mâles et la performance de la méthode sensorielle du « nez humain » de détection de l'odeur de verrat au laboratoire.

2. Matériel et méthode

2.1. Deux protocoles sur animaux

Le premier protocole visait à évaluer deux alternatives à la castration chirurgicale à vif des porcelets : la non castration couplée ou non à l'usage d'un médicament à action immunologique. Il s'agissait de :

- déterminer l'effet du type sexuel (femelles, castrats, mâles immunotraités, mâles) sur les performances zootechniques, le comportement des porcs charcutiers, la qualité des carcasses et la qualité de la viande ;
- mesurer le risque d'odeur de verrat ;
- vérifier l'efficacité du médicament à action immunologique ;
- évaluer le temps de travail (immunotraitement *versus* castration chirurgicale) ;
- obtenir une appréciation économique de ces deux alternatives.

L'expérimentation, menée de septembre 2011 à novembre 2012, portait sur 376 porcs issus de truies de génétique Landrace belge lignée K+® inséminées en Piétrain et de l'engraissement de cinq bandes successives comprenant chacune quatre traitements expérimentaux : femelles, castrats, mâles immunotraités contre l'odeur de verrat et mâles. Ceux-ci étaient logés par groupes de 8 (même traitement) dans des loges paillées de 8 m². L'alimentation était assurée à volonté durant tout l'engraissement et comportait 2 aliments d'origine commerciale :

- le premier pour engraisser les porcs de 30 jusqu'à 45 kg de poids vif (PV) : 9,52 MJ d'énergie nette, 17 % protéines brutes, 0,95 % de lysine digestible ;
- le second pour poursuivre l'engraissement jusqu'à l'abattage fixé à environ 120 kg de PV et réalisé en un seul départ par bande après 16 semaines d'engraissement : 9,42 MJ d'énergie nette, 14,9 % protéines brutes et 0,76 % de lysine digestible.

Pour les animaux recevant le médicament à action immunologique, la première injection était réalisée une semaine après l'entrée en engraissement et la seconde vers 85 kg de PV, c'est-à-dire environ 4 à 6 semaines avant l'abattage en fonction de la vitesse d'engraissement.

Un échantillon de gras abdominal était prélevé à l'abattoir sur chaque carcasse de porcs mâles et mâles immunotraités, découpé en plusieurs échantillons mis sous vide et congelés à -24°C pour quantifier ultérieurement l'odeur de verrat. Quelques échantillons de porcs femelles et de castrats étaient également réalisés.

Le second protocole visait à évaluer l'impact de la composition de la loge d'engraissement (mâles en mélange avec des femelles ou non) sur les performances zootechniques, la qualité de la carcasse et de la viande, le comportement des porcs, la maturité sexuelle des femelles et l'odeur de verrats. L'expérimentation, menée de novembre 2012 à août 2013, portait sur 264 porcs, issus de truies de génétique Landrace belge lignée K+® inséminées en Piétrain et de 2 bandes successives, répartis dans 33 loges de 8 porcs disposant de 8 m² et d'une litière de paille. Trois traitements étaient mis en œuvre selon que les loges étaient constituées soit de femelles, soit de mâles, soit de 4 femelles en mélange avec 4 mâles. Chaque traitement était réparti aléatoirement dans chacune des 2 salles d'engraissement disponibles. Le poids moyen des porcs en début d'engraissement était de 31 kg.

L'alimentation était biphasé et les aliments étaient d'origine commerciale avec l'objectif d'augmenter la densité énergétique de l'aliment de finition :

- Le premier aliment pour engraisser les porcs jusqu'à 75 kg de PV : 9,40 MJ d'énergie nette, 15,5 % de protéines brutes, 0,80 % de lysine digestible ;
- Le second aliment pour poursuivre l'engraissement jusqu'à l'abattage fixé à environ 120 kg de PV et réalisé en un seul départ par bande après 16 ou 17 semaines d'engraissement : 9,75 MJ d'énergie nette, 16 % de protéines brutes et 0,80 % de lysine digestible.

Un échantillon de gras abdominal a été prélevé à l'abattoir sur les carcasses de porcs mâles, découpé en plusieurs échantillons mis sous vide et congelés à -24°C pour quantifier ultérieurement l'odeur de verrat.

2.2. Analyses chimiques

Après quelques difficultés relatives à la mise en œuvre des analyses chimiques des composés responsables du défaut d'odeur dans le gras des porcs, l'indol, le scatol et l'androsténone, la méthode suivante a été mise en œuvre au CER-Groupe, Département Santé, Marloie. L'extraction consiste à prélever 1g de tissus adipeux dans un tube en plastique. Les composés d'intérêt sont extraits au méthanol, à 60°C. L'échantillon est ensuite congelé puis l'extrait est analysé par chromatographie et spectrographie de masse (UHPLC-MS/MS). L'analyse est quantitative et la calibration est réalisée dans la matrice, en dopant des échantillons de gras blanc avec des concentrations croissantes en composés d'intérêt et en utilisant des standards internes marqués (scatol-d3, indol-d7, androstenone-d4). Le protocole détaillé est repris en annexe.

2.2.1. Échantillons portés à l'analyse

Au vu des difficultés rencontrées lors des premières analyses chimiques, aucun résultat n'est rapporté pour les porcs de la première bande. Les résultats portent ainsi sur pour les porcs des 4 bandes suivantes du premier protocole et les 2 bandes du second protocole comme détaillé dans le tableau 2 ci-après en fonction des types sexuels.

Tableau 1 : Nombre d'échantillons pour les analyses chimiques et sensorielles

Premier protocole	Mâles	Mâles immunotraités	Castrats	Femelles
Bande 1	/	/	/	/
Bande 2	14	16	4	7
Bande 3	20	16	3	3
Bande 4	15	16	0	0
Bande 5	20	16	0	0
Total	69	69	7	10

<u>Second protocole</u>	Mâles	Mâles en mélange avec des femelles			Femelle
Bande 1	41	21			
Bande 2	36	19			1
Total	77	40			1

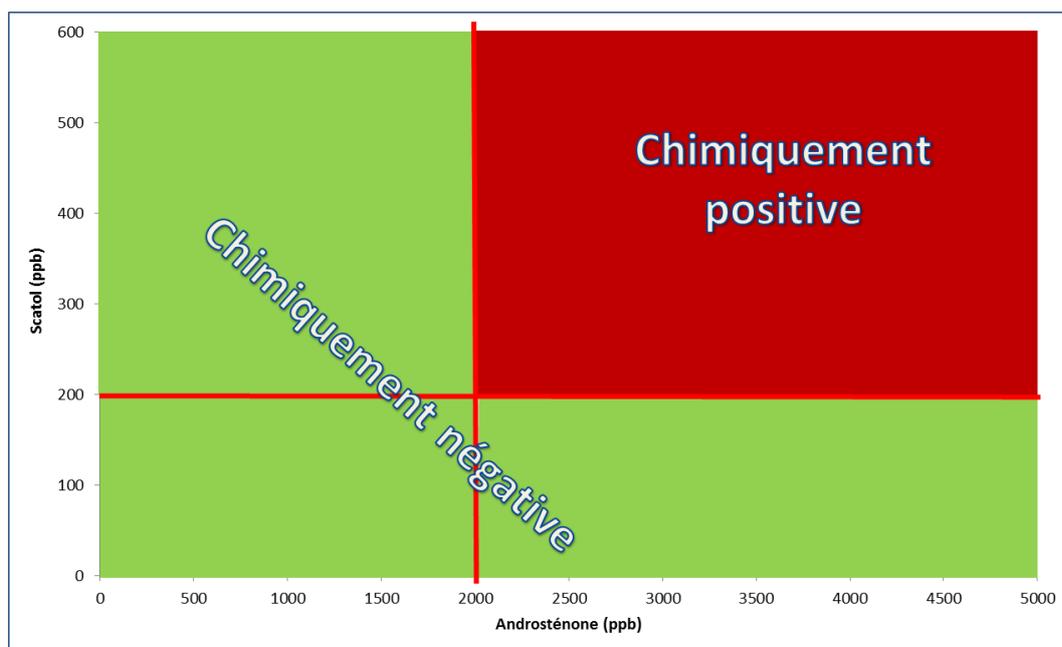
<u>Premier et second protocoles</u>	Mâles	Mâles en mélange avec des femelles
Total	146	40

2.2.2. Règles de décision d'un échantillon positif ou négatif chimiquement

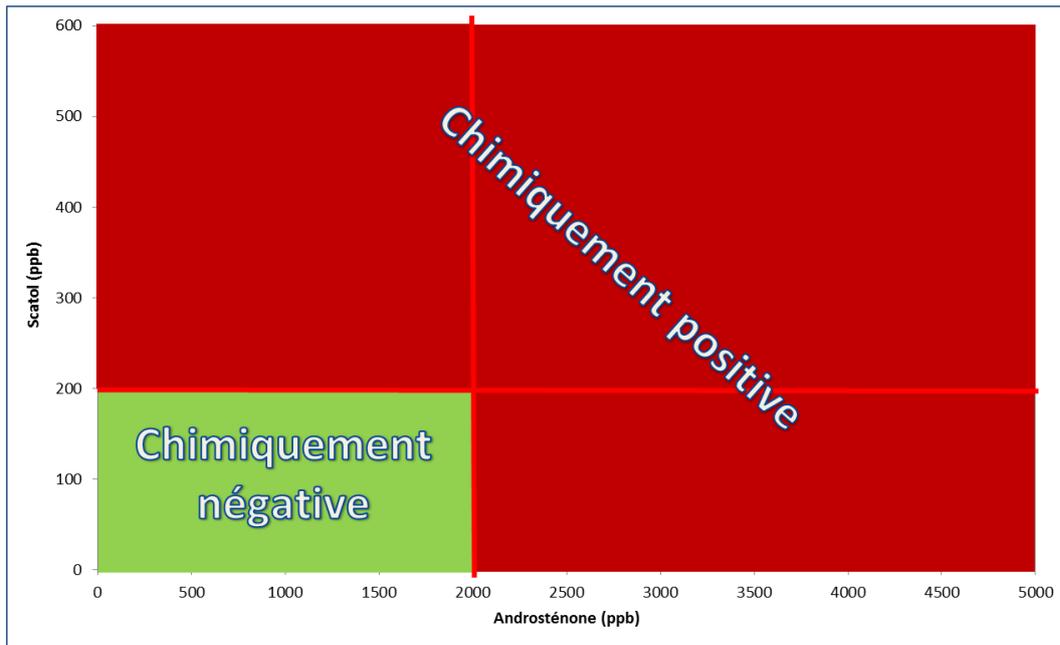
Deux règles de décision existent pour déclarer un échantillon de gras positif chimiquement, c'est-à-dire présentant un défaut d'odeur de verrat et conduisant à écarter la carcasse de la consommation en frais :

- la règle du « ET » si les deux composés ont des concentrations supérieures aux seuils respectifs de 2000 ppb d'androsténone et 200 ppb de scatol ;
- la règle du « OU » si au moins un des deux composés a une concentration supérieure à son seuil respectif de 2000 ppb pour l'androsténone ou 200 ppb pour le scatol.

La représentation graphique de l'acceptabilité des carcasses est alors la suivante :



Graphique 1 : Représentation de l'acceptabilité chimique par la règle "ET"



Graphique 2 : Représentation de l'acceptabilité chimique par la règle « OU »

2.3. Analyses sensorielles au laboratoire

Les échantillons de gras abdominal ont été soumis à une analyse sensorielle. C'est la technique du « nez humain » au laboratoire qui a été mise en œuvre, en sous-traitance à l'Université de Gand pour le premier protocole, ensuite, au sein du CRA-W, après une phase de constitution d'un jury pour le second protocole.

2.3.1. Premier protocole

Les échantillons de gras décongelés ont été soumis à un test olfactif réalisé par le jury d'experts du laboratoire d'analyses chimiques de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Gand. La technique utilisée était celle du fer à souder d'une puissance de 30 Watts appliqué, à température ambiante, sur l'échantillon de gras. Le fer était nettoyé entre 2 échantillons et un temps d'attente était aménagé après un échantillon révélé positif à l'odeur de verrat.

La notation de l'appréciation d'odeur se faisait sur une échelle allant de 0 à 100 subdivisée en trois classes :

- [0-33,5] pour une odeur inexistante à faible ;
-]33,5-67] pour une odeur modérée ;
-]67-100] pour une odeur forte.

Selon des études menées au laboratoire, le gras présentant une note supérieure à 50 est considéré comme provenant d'une carcasse qui aurait dû être retirée de la consommation en frais pour défaut d'odeur.

Les échantillons ont été présentés à l'analyse sensorielle en ordre aléatoire au sein de chacune des bandes de porcs. Le jury d'experts était constitué de 3 jurés mais réduit à 2 jurés pour les échantillons de la dernière bande.

2.3.2. Second protocole

Pour le second protocole, un jury d'experts a été constitué au sein du CRA-W au terme d'une formation à la méthode du « Human Nose Scoring » pour la détection des carcasses odorantes. La formation a été assurée par l'IFIP-Institut du Porc (France). Cette formation a comporté trois phases :

- Une première phase qui visait à identifier des personnes sensibles aux odeurs de mâles entiers et à déterminer leur sensibilité aux molécules d'androsténone et de scatol ;
- Une seconde phase basée sur la formation des personnes sensibles ;
- Une troisième phase visant à mettre en œuvre la méthode en abattoir sous l'expertise d'un formateur.

Sur 17 personnes du CRA-W testées, 8 ont présenté un bon niveau de sensibilité à l'androsténone et au scatol (soit 47% de la population, ce qui est en accord avec les résultats acquis par l'IFIP-Institut du Porc) dont 4 ont été identifiées très sensibles. Ces 4 personnes ont poursuivi la formation au sein du laboratoire de l'IFIP à Le Rheu (France) avec :

- une approche théorique de la problématique,
- une mise en pratique collective pour tester des échantillons de gras dont les concentrations en molécules responsables de l'odeur de verrat étaient connues,
- une mise en pratique individuelle pour cibler au mieux le profil du juré.

L'analyse sensorielle mise en œuvre au laboratoire reposait sur la même technique du fer à souder de 30 Watts appliqué à température ambiante sur l'échantillon de gras. Le fer était nettoyé entre 2 échantillons et un temps d'attente était aménagé après un échantillon révélé positif à l'odeur de verrat. L'évaluation sensorielle se faisait sur deux critères de classification :

- l'acceptation (A) ou le refus (R) de l'échantillon pour une consommation humaine de la carcasse en frais ;
- l'évaluation de la présence de l'odeur de verrat notée :
 - 0 quand il n'y a pas d'odeur ;
 - 1 pour une légère odeur de verrat ;
 - 2 pour une forte odeur de verrat.

La combinaison des 2 critères aboutit au classement des échantillons dans les 4 catégories suivantes : A0, A1, R1, R2. Toutefois, les derniers travaux de Chevillon et *al.* (2014)¹ reposent sur les seules notes « 0, 1, 2 » en considérant que les notes « 0 et 1 » permettent d'accepter l'échantillon alors que la note « 2 » au contraire refuse l'échantillon.

Les échantillons ont été présentés à l'analyse sensorielle en ordre aléatoire au sein de chacune des 2 bandes de porcs de ce second protocole. Le jury d'experts était constitué de 3 jurés.

2.3.3. Comparaison des deux méthodes : chimique et sensorielle

Les résultats de l'analyse sensorielle ont été comparés aux résultats de l'analyse chimique pour déterminer la performance de la méthode.

Les appréciations sensorielles sur l'échelle de 0 à 100 subdivisée en trois classes réalisée à l'Université de Gand ont été converties selon les 3 notes de la méthodologie du second protocole.

¹ Chevillon et al., 2014: Le nez humain permet de détecter des carcasses odorantes, mais pas toutes... TechPORC n°15

La performance de l'analyse sensorielle du nez humain est alors exprimée de la manière suivante :

Tableau 2 : Performance de la méthode sensorielle au laboratoire

		Analyse sensorielle	
		Carcasses notées 0 ou 1 (n_{s01})	Carcasses notées 2 (n_{s2})
Analyse chimique	négatives (n_{cn})	$n_{s01\&cn}$ Spécificité (carcasses acceptées à juste titre) $= 100 \times n_{s01\&cn} / n_{cn} \%$	$n_{s2\&cn}$ Faux positifs (carcasses écartées à tort) $= 100 \times n_{s2\&cn} / n_{cn} \%$
	positives (n_{cp})	$n_{s01\&cp}$ Faux négatifs (carcasses acceptées à tort) $= 100 \times n_{s01\&cp} / n_{cp} \%$	$n_{s2\&cp}$ Sensibilité (carcasses écartées à juste titre) $= 100 \times n_{s2\&cp} / n_{cp} \%$

(Adapté de Chevillon et al., 2014: Le nez humain permet de détecter des carcasses odorantes, mais pas toutes... TechPORC n°15)

- La **sensibilité** qui est la probabilité que la méthode sensorielle donne un résultat positif en présence du marqueur cible. Autrement dit, c'est la probabilité que l'analyse sensorielle refuse la carcasse quand l'analyse chimique révèle une odeur de verrot, ou encore, la proportion de **carcasses écartées à juste titre** ;
 - nombre de carcasses notées 2 dont l'analyse chimique est positive divisé par le nombre total carcasses chimiquement positives multiplié par 100 ;
- La **spécificité** qui est la probabilité que la méthode donne un résultat négatif en absence du marqueur cible. Autrement dit, c'est la probabilité que l'analyse sensorielle accepte la carcasse quand l'analyse chimique ne révèle pas d'odeur de verrot ou encore la proportion de **carcasses acceptées à juste titre**;
 - Nombre de carcasses notées 0 ou 1 dont l'analyse chimique est négative divisé par le nombre total carcasses chimiquement négatives multiplié par 100 ;
- Les **faux positifs** qui sont la probabilité que la méthode donne un résultat positif en absence du marqueur cible. Autrement dit, c'est la probabilité que l'analyse sensorielle refuse la carcasse quand l'analyse chimique ne révèle pas d'odeur, ou encore, la proportion de **carcasses écartées à tort**.
 - Nombre de carcasses notées 2 dont l'analyse chimique est positive divisé par le nombre total carcasses chimiquement négatives multiplié par 100 ;

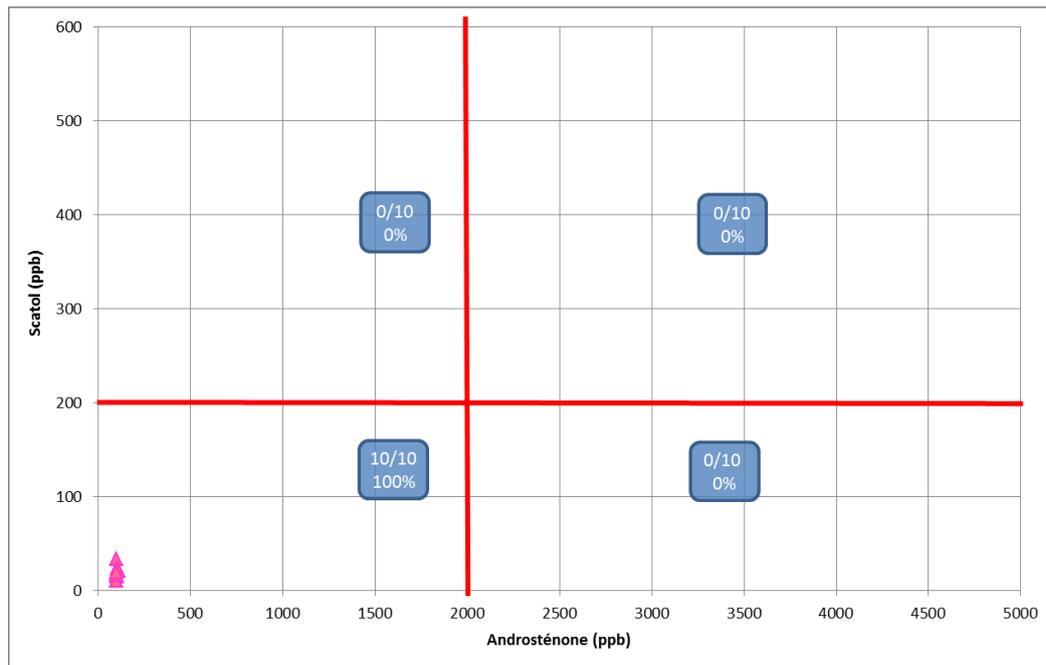
- Les **faux négatifs** qui sont la probabilité que la méthode donne un résultat négatif en présence du marqueur cible. Autrement dit, c'est la probabilité que l'analyse sensorielle accepte la carcasse quand l'analyse chimique révèle une odeur, ou encore, la proportion de **carcasses acceptées à tort**.
 - Nombre de carcasses notées 0 ou 1 dont l'analyse chimique est positive divisé par le nombre total carcasses chimiquement positives multiplié par 100 ;

3. Résultats et discussion

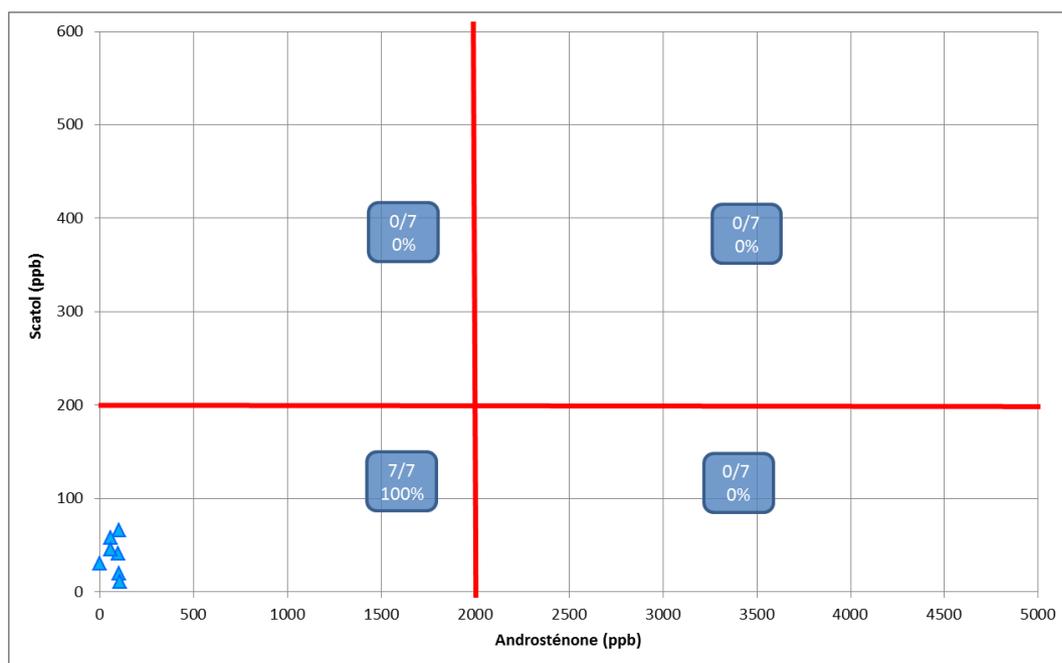
3.1. Effet du type sexuel sur l'odeur de verrat

Les graphiques 3 à 6 présentent les échantillons de gras selon leurs teneurs en androsténone et en scatol respectivement pour chacun des types sexuels étudiés.

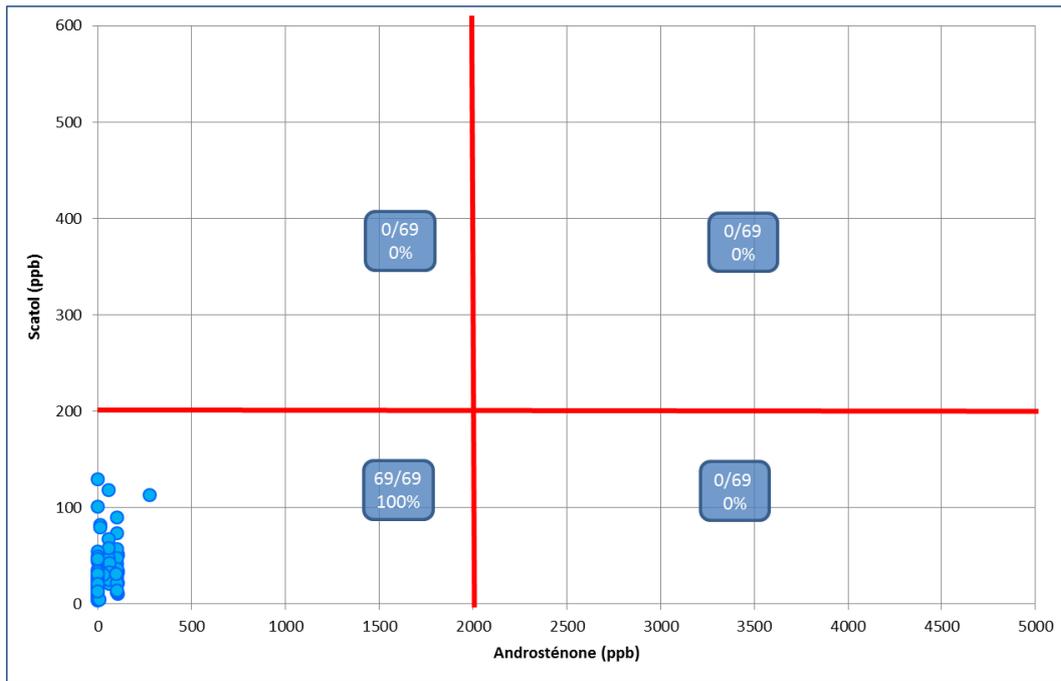
Tous les échantillons de gras de femelles, porcs castrés et porcs immunotraités sont chimiquement négatifs. Les teneurs en androsténone et en scatol sont situées sous les valeurs seuils respectives de 2000 et 200 ppb.



Graphique 3: Analyses chimiques de gras de femelles

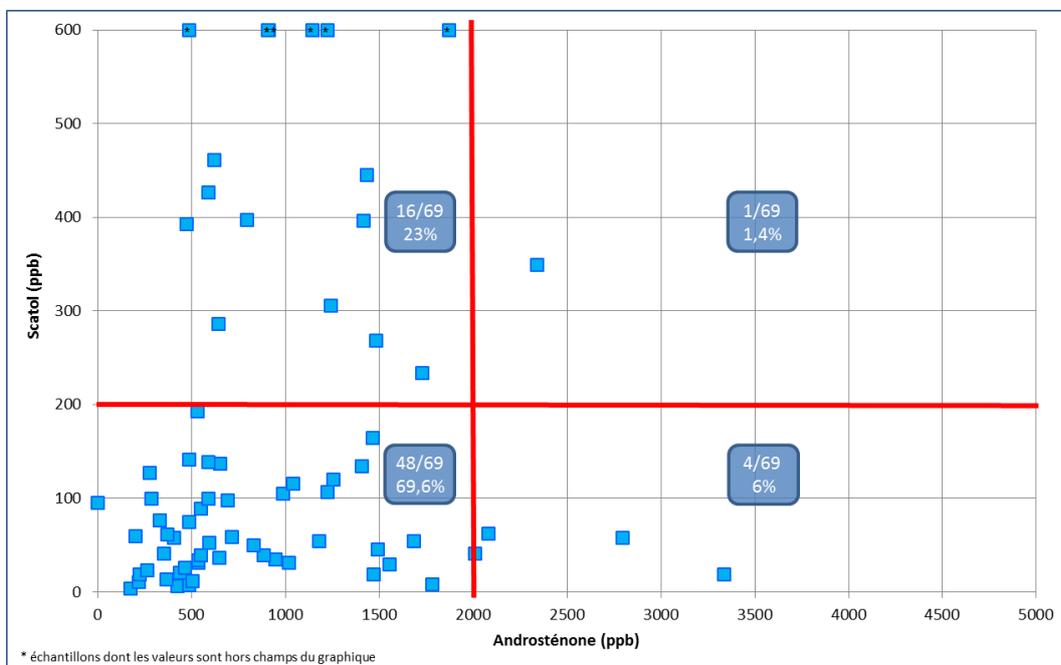


Graphique 4 : Analyses chimiques de gras de castrats



Graphique 5 : Analyses chimiques de gras de mâles immunotraités

Par contre, pour les gras de mâles (graphique 6) il n'en est pas de même. Selon la règle « ET », 1 échantillon sur les 69 analysés s'est avéré chimiquement positif, c'est-à-dire 1,4%. La prévalence est relativement faible. Selon la règle « OU », 21 échantillons sont chimiquement positifs, ce qui porte à 30,4% la prévalence du défaut d'odeur.



Graphique 6 : Analyses chimiques de gras de mâles

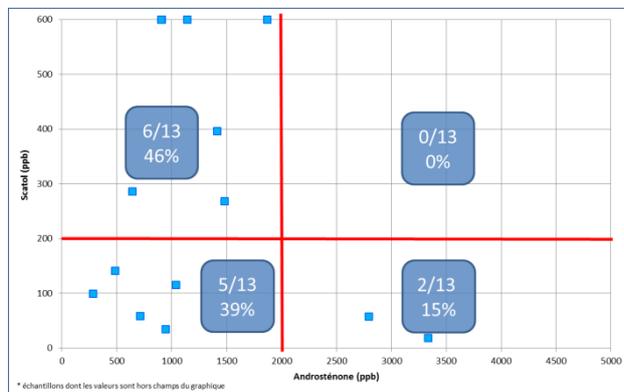
La contribution du scatol, au risque d'odeur de verrat, est proportionnellement plus fréquente que celle de l'androsténone, 23% contre 6%.

3.2. Efficacité du médicament immunologique

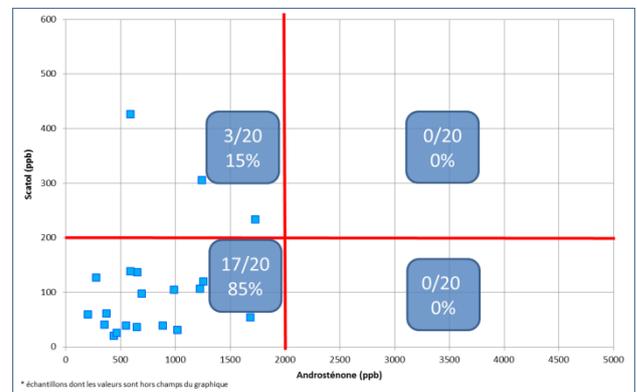
Les graphiques 5 et 6 ci-avant, établis respectivement pour des mâles immunotraités et des mâles, montrent l'efficacité du médicament à effet immunologique. En effet, les teneurs en androsténone et en scatol dans les échantillons de gras des mâles immunotraités sont nettement plus faibles que celles observées chez les mâles. Les 69 échantillons de gras de porcs immunotraités sont chimiquement négatifs quelle que soit la règle utilisée. Autrement dit, le traitement immunologique a fait passer la prévalence de 1,4 ou 30,4%, selon la règle utilisée, à 0%.

3.3. Effet de bande chez les mâles

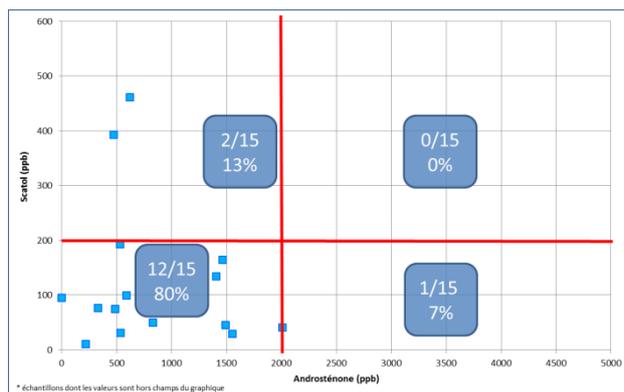
Le risque d'odeur de verrat chez les mâles présente une certaine variabilité entre les bandes d'engraissement. Celle-ci est mise en évidence dans les graphiques 7 à 10 pour les échantillons obtenus au cours du premier protocole sur animaux. Le faible nombre d'échantillons limite toutefois la portée des résultats.



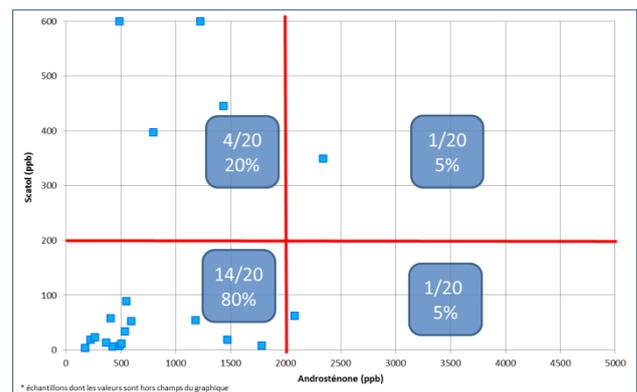
Graphique 7 : Analyses chimiques de gras de mâles de la bande 2



Graphique 8 : Analyses chimiques de gras de mâles de la bande 3



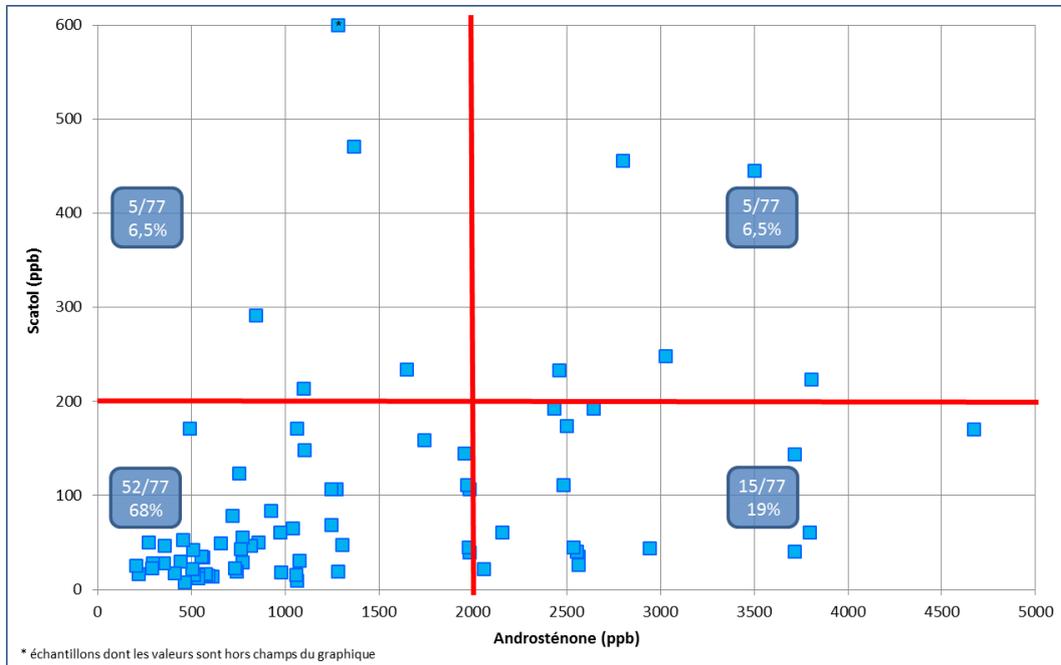
Graphique 9 : Analyses chimiques de gras de mâles de la bande 4



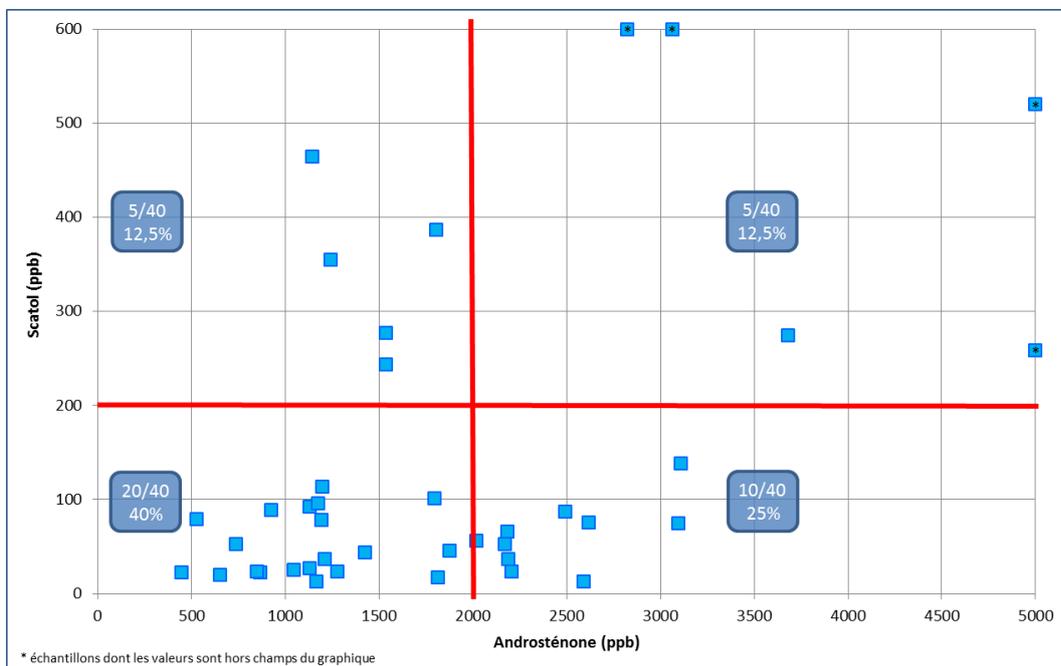
Graphique 10 : Analyses chimiques de gras de mâles de la bande 5

3.4. Effet du logement : mâles seuls ou mâles avec femelles

Les 2 graphiques suivants présentent les échantillons de gras selon leurs teneurs en androsténone et en scatol pour des porcs mâles selon qu'ils étaient logés sans (graphique 11) ou, au contraire, avec des femelles (graphique 12).



Graphique 11 : Analyses chimiques des gras de mâles logés seuls



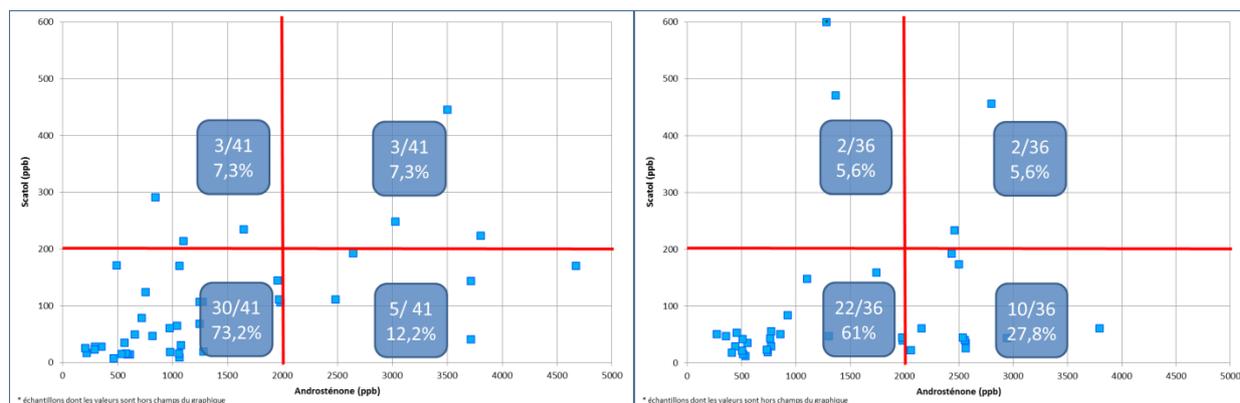
Graphique 12 : Analyses chimiques des gras de mâles logés avec des femelles

En appliquant la règle « ET », 6,5% des échantillons sont chimiquement positifs lorsque les mâles sont seuls. Ce chiffre passe à 12,5% lorsque les mâles sont logés avec des femelles ; c'est près du double.

En appliquant la règle « OU », 32,5% des échantillons sont chimiquement positifs lorsque les mâles sont seuls et 50% lorsqu'ils sont logés avec des femelles ; c'est 1,5 fois supérieur.

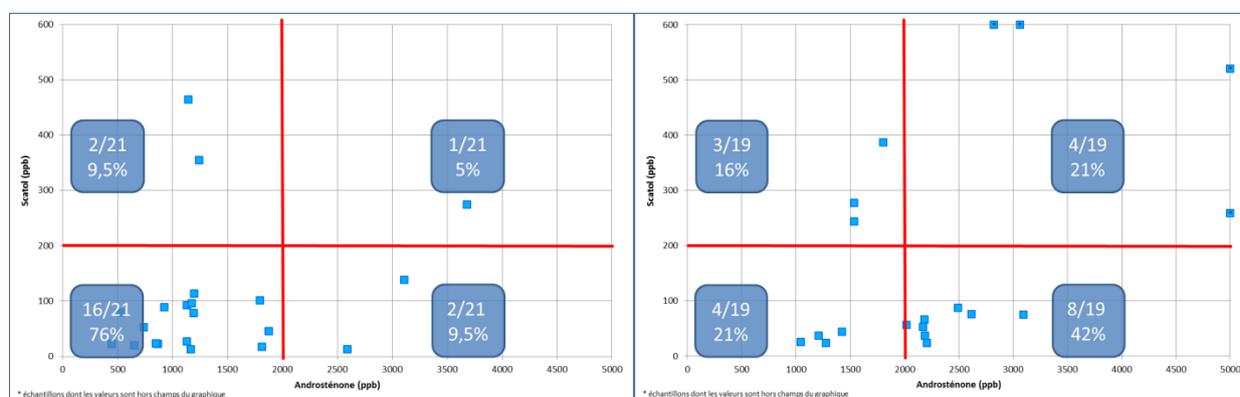
Ces résultats conduisent à recommander d'éviter le logement des mâles avec des femelles.

Au cours de ce second protocole sur animaux, le risque d'odeur de verrat présente également une variabilité entre bandes d'engraissement. Elle est mise en évidence dans les graphiques 13 à 16 ci-après.



Graphique 13 : Analyses chimiques des gras de mâles logés seuls de la bande 1

Graphique 14 : Analyses chimiques des gras de mâles logés seuls de la bande 2



Graphique 15 : Analyses chimiques des gras de mâles logés avec des femelles de la bande 1

Graphique 16 : Analyses chimiques des gras de mâles logés avec des femelles de la bande 2

Relativement limitée pour les mâles logés entre eux, cette variabilité est plus élevée pour les mâles logés avec des femelles. En effet, la proportion d'échantillons chimiquement positifs passe de 5 à 21% de la bande 1 à 2, avec la règle « ET », et de 24 à 79% avec la règle « OU ». Le faible nombre d'échantillons (21 et 19) limite toutefois la portée des résultats.

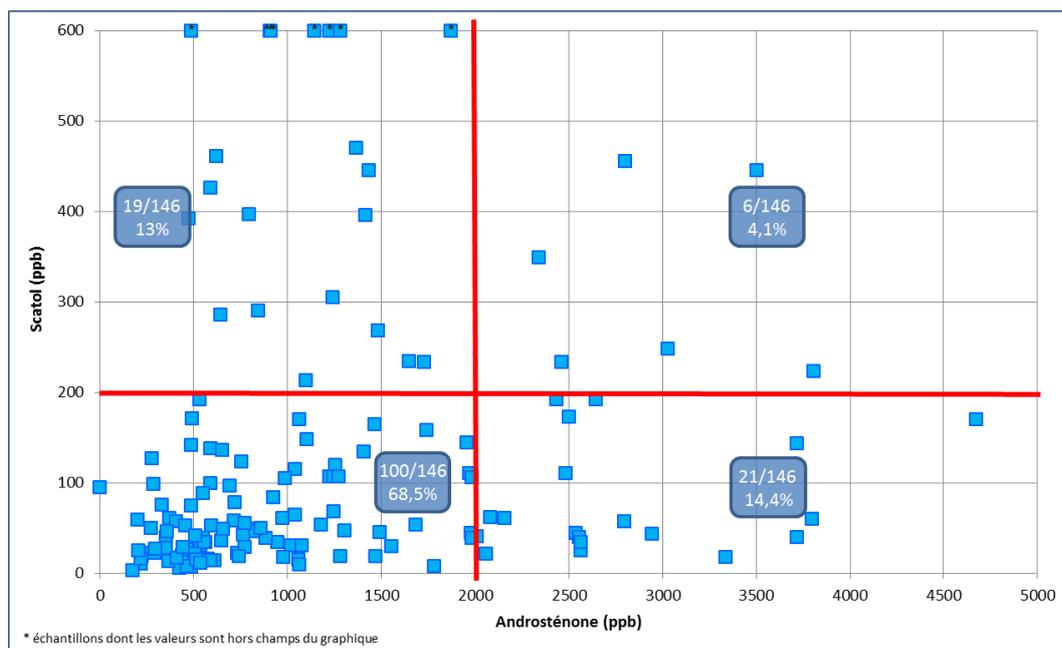
3.5. Risque d'odeur chez les mâles

Le risque d'odeur chez les mâles a été calculé sur l'ensemble des échantillons de gras de porcs mâles engraisés au cours des premier et second protocoles, mais limités aux porcs logés seuls étant donné l'effet de la mise en loge avec des femelles.

Le graphique 17 présente le risque d'odeur de verrat sur base des 146 échantillons ainsi retenus.

Il en ressort que :

- 4,1% des échantillons sont chimiquement positifs en appliquant la règle du « ET » ;
- 31,4% des échantillons sont chimiquement positifs en appliquant la règle du « OU ».



Graphique 17 : Analyses chimiques des gras de mâles logés seuls (premier et second protocoles)

3.6. Comparaison avec l'évaluation sensorielle au laboratoire

3.6.1. Echantillons de femelles, castrats ou mâles immunotraités

Les évaluations sensorielles au laboratoire permettent d'attribuer, en valeur moyenne des jurés, la note « 0 » à tous les échantillons de gras de femelles (10), castrés (7) et mâles immunotraités (69) analysés chimiquement.

Pour ces 3 types sexuels, la spécificité de la méthode est ainsi de 100%, il n'y a aucun « faux positif ». Autrement dit, toutes les carcasses sont acceptées à juste titre puisqu'elles sont chimiquement négatives.

De même, à défaut d'échantillon chimiquement positif pour ces types sexuels, il n'y a aucune carcasse acceptée à tort.

La performance de la méthode du « nez humain » est ainsi très bonne pour les gras de femelles, castrats et mâles immunotraités présentés aléatoirement dans des séries d'échantillons qui comprenaient également des échantillons de gras de porcs mâles.

Entre les jurés existe une certaine variabilité. En effet, l'analyse des notes individuelles des jurés révèle une note « 1 » (légère odeur de verrat) pour 4 échantillons, à savoir, 1 femelle et 3 mâles immunotraités.

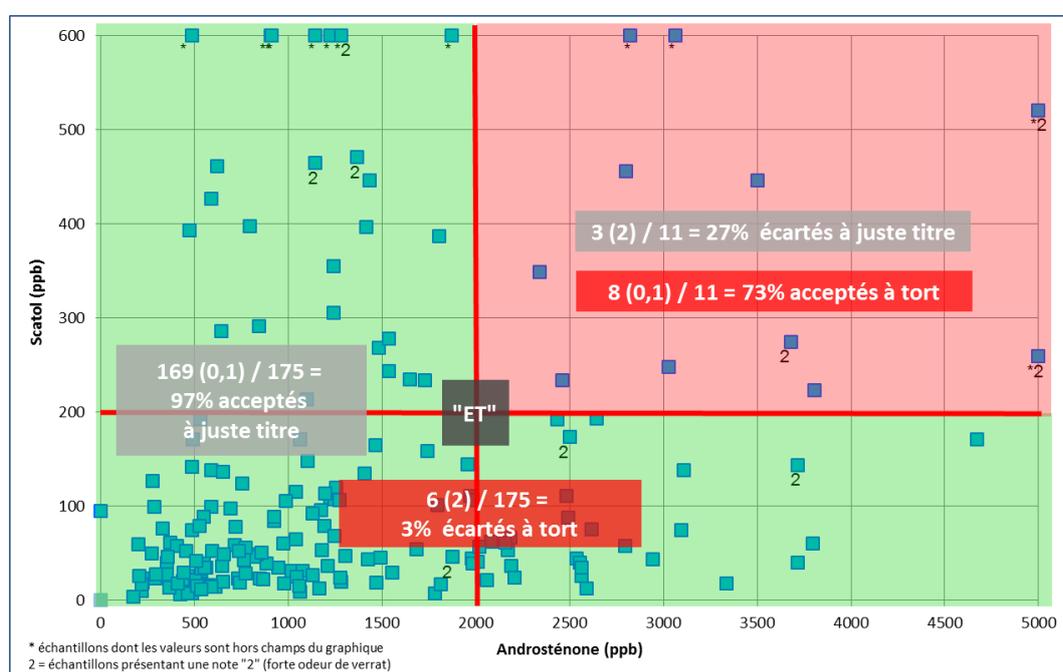
3.6.2. Echantillons de mâles

Les évaluations sensorielles au laboratoire permettent d'attribuer, en valeur moyenne des jurés, les notes « 0 », « 1 » et « 2 » respectivement à 111, 66 et 9 échantillons des 186 échantillons de gras de porcs mâles. Il y a ainsi 60% des échantillons qui ne présentent pas d'odeur, 35% qui présentent une odeur modérée et 5% une forte odeur.

La comparaison avec les analyses chimiques précédentes est réalisée respectivement selon la règle « ET » et « OU ». Elle est présentée dans les graphiques 18 et 19 suivants. Les échantillons présentant une forte odeur de verrat à l'analyse sensorielle sont indicés «2» dans les graphiques.

Selon la règle « ET », il ressort que :

- Sur les 11 échantillons chimiquement positifs, 3 sont écartés à juste titre puisqu'ils présentent une forte odeur de verrat, alors que les 8 autres sont acceptés à tort. La sensibilité de la méthode sensorielle au laboratoire est ainsi de 27% seulement, autrement dit, il y a 73% de faux négatifs ;
- Sur les 175 échantillons chimiquement négatifs, 169 échantillons sont acceptés à juste titre alors que 6 échantillons sont écartés à tort. La spécificité de la méthode est de 97%, autrement dit, il y a 3% de faux positifs.

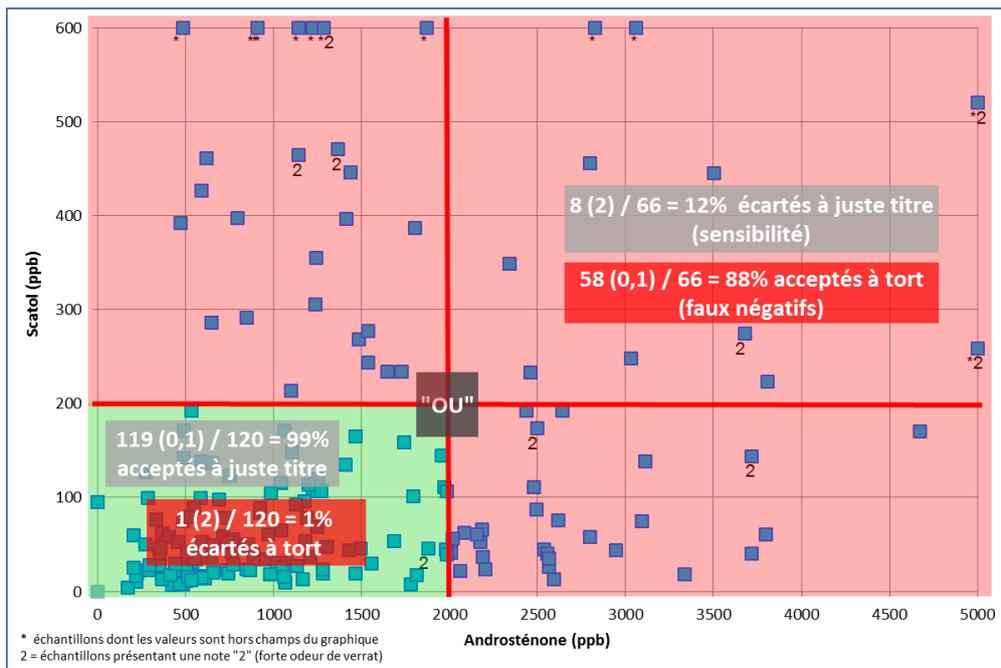


Graphique 18 : Performance des « nez humains » au laboratoire (méthode « ET »)

De manière globale sur les 4,1% de carcasses de mâles chimiquement positives, l'épreuve du « nez humain » qui considère 73% comme non odorantes, conduit ainsi à 3% de carcasses à risque, c'est-à-dire qui pourraient être commercialisées alors qu'elles posent chimiquement un problème.

Selon la règle « OU » (graphique 19) :

- Sur 66 échantillons chimiquement positifs, 8 sont écartés à juste titre puisqu'ils présentent une forte odeur de verrat, alors que les 58 autres sont acceptés à tort. La sensibilité tombe à 12%, autrement dit, il y a 88% de faux négatifs ;
- Sur 120 échantillons chimiquement négatifs, 119 sont acceptés à juste titre pour 1 seul écarté à tort. Ce dernier est toutefois proche du seuil fixé. La spécificité de la méthode est proche de 100%



Graphique 19 : Performance des « nez humains » au laboratoire (méthode « OU »)

De manière globale, pour les 31,4% de carcasses chimiquement positives, l'épreuve du « nez humain » qui considère 88% comme non odorantes, conduit ainsi à plus de 30% de carcasses à risque qui pourraient être commercialisées.

Au travers de nos résultats, la performance de la méthode sensorielle au laboratoire s'avère trop faible pour les mâles.

4. Conclusions

Des échantillons de gras abdominal de porcs femelles (10), castrés (7), mâles immunotraités (69) et mâles logés entre eux (146) ou mâles logés avec des femelles (40), abattus à environ 120 kg de poids vif plein, ont été prélevés à l'abattoir pour évaluer le risque d'odeur de verrat par la méthode chimique, via la chromatographie et la spectrographie de masse, et la méthode sensorielle, via à technique du « nez humain » au laboratoire. Les résultats des 2 méthodes ont ensuite été comparés pour déterminer la performance de la méthode du « nez humain » au laboratoire.

Tous les échantillons de gras de femelles, mâles castrés et mâles ayant reçu le médicament à action immunologique sont chimiquement négatifs. Les teneurs en androsténone et en scatol sont largement inférieures aux seuils respectifs de 2000 et 200 ppb.

Pour ces échantillons, la méthode du « nez humain » au laboratoire a livré le même résultat. Aucun échantillon n'a présenté une forte odeur de verrat. La méthode du « nez humain » au laboratoire s'est ainsi révélée très performante.

L'efficacité du médicament à action immunologique contre l'odeur de verrat, utilisé chez les mâles, a été totale.

Pour les mâles :

- 4,1% des échantillons présentent une teneur en androsténone supérieure à 2000 ppm et une teneur en scatol supérieure à 200 ppm (règle « ET ») ;
- 31,4% des échantillons présentent une teneur en androsténone supérieure à 2000 ppm ou une teneur en scatol supérieure à 200 ppm (règle « OU »);
- La mise en loges des mâles avec des femelles a provoqué une très forte augmentation du risque d'odeur.

Pour ces échantillons issus de porcs mâles, la technique du « nez humain » au laboratoire a permis de chiffrer à 5% le taux d'échantillons présentant une forte odeur de verrat.

En comparaison de la méthode chimique, la méthode du « nez humain » au laboratoire ne s'est pas avérée performante sur nos échantillons puisque plus de 70% des échantillons chimiquement positifs ont été acceptés à tort (faux négatifs).

Pour abandonner la technique d'élevage des castrats et adopter la technique d'élevage des mâles, il est nécessaire de développer une méthode objective et rapide de détection des carcasses présentant une odeur de verrat. La méthode chimique actuelle est trop onéreuse et trop lente. A défaut d'une méthode de détection rapide, peu coûteuse et fiable, les abatteurs en Europe utilisent la méthode du « nez humain » à l'abattoir considérée proche de la perception consommateur. La sensibilité et la spécificité sont variables d'un juré à l'autre. Elles n'atteignent pas 100% en se référant aux valeurs de concentrations communément admises au sein de l'Europe : 2000 ppb pour l'androsténone et 200 ppb pour le scatol.

Les résultats relatifs au « nez humain » obtenus dans notre étude soulignent l'importance des travaux de recherches entrepris en Europe.

Pour ces techniques sensorielles, l'attention doit porter sur la fiabilité de la sélection des testeurs, leur formation et leur entraînement régulier.

De même, il reste que des études doivent être réalisées pour étayer les recommandations à mettre en œuvre dans les élevages pour réduire la prévalence des carcasses présentant une odeur de verrat.

Annexe

Protocole d'analyse chimique²

Préparation des pools de standards

Les standards sont pesés et dilués dans du diméthylformamide (DMF) pour obtenir des solutions stocks à 1 mg/ml. Ces solutions stocks sont utilisées pour préparer des pools de travail.

A) Pool de standards (P-std)

<u>Volume final du Pool (ml):</u>	10.0		
<u>Volume de dopage de l'échantillon de contrôle qualité (QC, volume exprimé en µl):</u>	100.0		
<u>Prise d'essai (g):</u>	1.0		
<u>Solution de dilution :</u>	méthanol		
Nom du standard	Concentration de la solution stock (µg/ml)	Concentration dans la matrice (ppb)	Volume de solution stock à pipeter (µl)
Scatol	1000	100	10
Indol	1000	100	10
Androsténone	1000	500	50

B) Pool de standards internes (P-ISTD)

<u>Volume final du Pool (ml):</u>	10.0		
<u>Volume dopage du QC (µl):</u>	100.0		
<u>Prise d'essai (g):</u>	1.0		
<u>Solution de dilution :</u>	méthanol		

² Bekaert K. 2012. Chemical and sensory detection of boar taint. Thesis for the Degree of Doctor in Veterinary Science, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University. 189p

Nom du standard	Concentration de la solution stock ($\mu\text{g/ml}$)	Concentration dans la matrice (ppb)	Volume de solution stock à pipeter (μl)
scatol-d ₃	1000	100	10
indol-d ₇	1000	100	10
androsténone-d ₄	1000	500	50

Courbe de calibration

La courbe de calibration est une courbe extraite, préparée en fortifiant des échantillons de gras blancs avec le pool de standards et le pool de standards internes.

La préparation de la courbe de calibration est décrite dans le tableau ci-dessous.

Tableau : courbe de calibration pour dosages chimiques

Niveau de calibration	Concentration dans la matrice ($\mu\text{g/kg}$)		Volume utilisé pour fortifier les blancs	
	androsténone	indol et scatol	P-ISTD	P-std
cs1	0	0		0
cs2	125	25		25
cs3	250	50		50
cs4	500	100		100
cs5	1000	200	100	200
cs6	1500	300		300
cs7	2000	400		400
cs8	3000	600		600
cs9	4000	800		800

Contrôles qualité

Lors de chaque série d'analyse, 2 échantillons supplémentaires sont préparés comme cela est décrit ci-après puis analysés comme les échantillons.

- Blanc : 1g de matrice supposée blanche
- QC : 1g de matrice supposée blanche, fortifiée avec 100 μl de P-std (concentration de 100 $\mu\text{g/kg}$ en scatol et indol et 500 $\mu\text{g/kg}$ en androsténone)

Protocole d'extraction des composés de l'odeur de verrat

- Peser 1g de gras dans un tube en plastique de 15 mL
- Rajouter environ 1 g de Na_2SO_4
- Doper les échantillons avec 100 μl d'une solution de standards internes
- Rajouter 1 ml de méthanol (MS grade)
- Incuber pendant 30 minutes à 60°C, en vortexant les tubes toutes les 10 minutes
- Congeler les tubes à -70°C pendant 1h

- Centrifuger pendant 10 minutes à 4000 rpm
- Transférer le surnageant dans une fiole HPLC et sertir

Paramètres UPLC-MS/MS

Instrument : Acquity UHPLC – XEVO TQS (Waters)

1. Paramètres UPLC

- colonne : Acquity UPLC HSS T3 1,8µm, 2,1x 150 mm (Waters)
- température de la colonne : 45°C
- volume injecté : 10µl (mode « partial loop »)
- gradient :

Temps (min)	eau 0,1% acide formique (%)	méthanol 0,1% acide formique (%)
0	60	40
1	50	50
4	2	98
6,5	2	98
7	60	40
8	60	40

2. Paramètres MS/MS

- voltage de cône : 2,0 kV
- température de la source : 150°C
- température de désolvatation : 500°C
- analyse des composés en mode MRM :

Composé	Ion parent (m/z)	Ion fille (m/z)	Voltage de cône	Energie de collision
indol-D ₇	124	96	40	20
Indol	117,9*	91	40	15
Indol	117,9	65	40	20
scatol-D ₃	135	116,9	50	15
Scatol	132*	116,9	50	15
Scatol	132	89.8	50	20
androsténone-D ₄	277	259	40	12
androsténone	273*	159	40	20
androsténone	273	255.2	40	12

* : trace de quantification

3. Traitement des données

Les données sont traitées à l'aide du logiciel Targetlynx.

Les courbes de calibration suivent un modèle linéaire, incluant l'origine et pondérées en 1/x pour le scatol et l'indol et sans pondération pour l'androsténone.

