



Appel à projets « soutien à l'innovation » 2005
Programme terminé en avril 2007

CARACTERISATION DE LA CONTAMINATION PAR LISTERIA MONOCYTOGENES DANS LA MATRICE CREVETTE

Chef de file : A3C (Association des Cuiseurs de Crevettes et Crustacés)
c/o Syndicat National du Commerce Extérieur des produits congelés et surgelés
1, rue de Liège – 75009 PARIS
Tél. : +33 (0)1.44.63.57.60 Fax : +33 (0)1.45.26.06.75
a3c@snce.org
Contact : Delphine Deleau

Partenaire : CEVPM (Centre d'Expérimentation et de Valorisation des Produits de la Mer)

▪ Contexte et objectif du programme

Au cours de l'été 2003, la Direction Générale de l'Alimentation du Ministère de l'agriculture et de la pêche a attiré l'attention du SNCE (Syndicat National du Commerce Extérieur des produits congelés et surgelés) sur des taux élevés de *Listeria monocytogenes* dans des crevettes cuites réfrigérées commercialisées par certaines enseignes de la grande distribution. Face à une telle situation, les adhérents du SNCE, cuiseurs de crevettes, ont créé l'A3C, association destinée à prendre en charge toutes les problématiques spécifiques aux cuiseurs.

L'objectif du projet était d'étudier le comportement de *L. monocytogenes* dans la matrice « crevettes cuites réfrigérées » via des tests de croissance. Ce projet vient en complément d'initiatives déjà prises par l'A3C (*Rédaction d'un guide de bonnes pratiques d'hygiène, mise en place d'une base de données consolidée des résultats microbiologiques des entreprises, audits et « diagnostic Listeria » dans les entreprises*).

Deux phases ont été envisagées :

- Mise en place d'un protocole pour des tests de croissance sur les crevettes cuites.
- Réalisation des tests de croissance.

▪ Mise en place d'un protocole pour les tests de croissance

La méthode d'inoculation mise en œuvre pour les tests de croissance doit reproduire au mieux une contamination naturelle des crevettes cuites. La concentration de l'inoculum doit permettre d'obtenir un taux de contamination dans le produit fini proche de celui rencontré dans les conditions de terrain (*une concentration inférieure à 100 UFC/g serait plus appropriée*). Cependant, ce taux doit être suffisamment élevé afin que la méthode analytique utilisée permette de le dénombrer avec la plus grande précision (*Cf. avis de l'AFSSA du 09 mars 2005 sur la*

classification des aliments au regard du risque représenté par *Listeria monocytogenes* et sur les protocoles de tests de croissance).

Deux méthodes ont été testées :

- L'inoculation par trempage (*Les crevettes cuites sont totalement immergées dans la suspension de Listeria.*)
- L'inoculation par étalement/tamponnage (*Les crevettes cuites sont inoculées au moyen d'un écouvillon : l'inoculation est réalisée sur chaque côté de la crevette par 2 étalements successifs puis par 2 tamponnages successifs sur la carapace.*)

Les tests de croissance ont été réalisés avec des souches dites « de terrain » c'est-à-dire des souches de *Listeria monocytogenes* isolées de crevettes cuites (*au nombre de 2*).

Différents paramètres ont été testés : la concentration de l'inoculum, le temps de trempage (*dans le cas d'une inoculation par trempage*), le mode et temps de séchage (*D'après les données bibliographiques, le séchage serait un moyen de fixer l'inoculum.*), le mode de décorticage (*manuel ou avec pinces*).

Dans le cadre de cette étude, c'est la méthode d'inoculation par étalement/tamponnage qui a été retenue. Dans les conditions expérimentales du CEVPM, une suspension en *L. monocytogenes* de 15 000 UFC/ml permet d'obtenir, à J0, un taux de contamination inférieur à 100 UFC/g dans le produit fini : il est généralement compris entre 30 et 60 UFC/g.

Les crevettes ne sont pas séchées après inoculation : le séchage tend à activer le développement de *L.monocytogenes* au cours de la conservation réfrigérée. D'ailleurs, le séchage ne reflète pas la réalité industrielle : les crevettes cuites naturellement contaminées ne subissent aucun séchage au cours de leur acheminement après cuisson.

Pour le prélèvement destiné à l'analyse du dénombrement de *L. monocytogenes*, les crevettes cuites sont décortiquées manuellement.

■ Réalisation des tests de croissance

Les tests de croissance réalisés dans le cadre de cette étude ont permis de déterminer le critère réglementaire lors de la mise sur le marché et celui à la distribution pour la matrice « crevette cuite réfrigérée » : soit absence dans 25 g, soit 100 UFC/g (Cf. *La Note de service DGAL/SDSSA/N2006-8008 du 05 janvier 2006 présentant les dispositions à prendre en compte pour la gestion du danger Listeria monocytogenes dans les aliments.*).

Les tests de croissance ont été réalisés sur des crevettes cuites conditionnées en vrac (*DLC fixée à 7 jours*) et sous atmosphère modifiée (*DLC fixée à 9 jours*). La conservation a été faite avec et sans rupture de la chaîne du froid :

- Sans rupture : conservation à + 0/2°C. Cette température correspond à la température réglementaire de conservation des crevettes cuites.
- Avec rupture :
 - Conservation 1/3 du temps à + 0/2°C, 1/3 du temps à + 4°C, une rupture de 2 heures à + 20°C et 1/3 du temps à + 8°C. Dans le guide de bonnes pratiques d'hygiène mis en place par les cuiseurs de crevettes, cette conservation a été retenue pour la détermination des Date Limite de Consommation et la validation de durée de vie. (*Protocole de température 3*1/3*)
 - Conservation 2/3 du temps à + 4°C, une rupture de 2 heures à + 20°C et 1/3 du temps à + 8°C. Ce protocole de température avait pour but de vérifier si une conservation à + 4°C au lieu de + 0/2°C pouvait influencer la croissance de *Listeria*. (*Protocole de température 2/3, 1/3*)

Dans les conditions de cette étude, la conclusion essentielle de ces tests de croissance est la suivante : *Listeria monocytogenes* ne se développe pas (elle est en phase de latence) dans les crevettes cuites conditionnées en vrac ou sous atmosphère modifiée lorsqu'elles sont conservées à une température de + 0/2°C. Le taux de contamination n'excède jamais les 100 UFC/g au cours de la conservation (de J0 à la DLC).

Dans le cadre de cette étude, quel que soit le conditionnement (*vrac ou sous atmosphère modifiée*), le critère des 100 UFC/g est atteint avant la date limite de consommation des crevettes cuites lors d'une conservation réfrigérée avec rupture de la chaîne du froid (*protocoles de température 3*1/3 et 2/3, 1/3*). Lorsque les crevettes cuites sont conservées à ces températures, le critère *Listeria monocytogenes* sera « absence dans 25g » en sortie d'usine.

Les tests statistiques ont permis de mettre en évidence que les souches de *L. monocytogenes* se développent plus rapidement lorsque les crevettes cuites sont conditionnées en vrac que lorsqu'elles sont conditionnées sous atmosphère modifiée.

Les cuiseurs de crevettes de l'A3C sont donc confortés dans leurs positions :

- choix d'une température de conservation de l'ordre de 0/2°C
- critère concernant *Listeria monocytogenes* « absence dans 25g » en sortie usine

Cependant les conditions de l'étude ne permettent pas de conclure pour le cas où des lots de crevettes cuites présentent des taux de *Listeria monocytogenes* inférieurs à 10 germes conservés à des températures de l'ordre de 0/4°C. Le recours à la microbiologie prévisionnelle pourra peut-être apporter certaines réponses.