



Appel à projets 'soutien à l'innovation' 1999  
Projet terminé en janvier 2002

**IDENTIFICATION DES VOIES DE CONTAMINATION PAR LISTERIA MONOCYTOGENES  
DES POISSONS FUMÉS  
PAR LA MISE EN ŒUVRE DE MÉTHODES DE TYPAGE MOLÉCULAIRE**

Chef de file : AFSSA (Agence française de sécurité sanitaire des aliments)  
Laboratoire d'études et de recherches sur les produits de la pêche  
Gare de marée – rue Huret Lagache – 62200 Boulogne-sur-Mer  
tél.: 03 21 99 25 00; fax: 03 21 30 95 47; [p.malle@boulogne.afssa.fr](mailto:p.malle@boulogne.afssa.fr)  
Contact : Pierre Malle

Partenaires : ASEPT (Association sur l'aseptie de production)  
CEVPM (Centre d'expérimentation et de valorisation des produits de la mer)  
INRA Paris (Institut national de la recherche agronomique)  
Industriels SIF France et Loisel

#### ■ Objectifs du projet

L'appréciation de plus en plus affinée du risque *Listeria* dans toutes les filières agro-alimentaires conduit à en rechercher la maîtrise dans des soucis sanitaire et économique. Même si leur implication dans les listérioses est seulement suspectée dans la plupart des cas d'infection humaine, les produits de la mer sont fréquemment contaminés par *L. monocytogenes* (second taux d'incidence de *Listeria* après les viandes). D'autre part, les produits alimentaires les plus sensibles sont ceux qui peuvent favoriser la croissance du pathogène, qui ont une durée de vie longue et qui peuvent être consommés en l'état comme c'est le cas avec les poissons fumés à froid. Dans ce contexte, les professionnels sauteurs-saurisseurs de poissons ont eu la volonté de s'investir dans l'identification des voies de contamination du produit fini afin de mieux maîtriser ces points critiques. La démarche choisie a consisté à caractériser au niveau moléculaire les isolats récoltés auprès des ateliers, de la matière première jusqu'au produit fini.

En parallèle, il était intéressant de réaliser une analyse comparative des types génétiques de *L. monocytogenes* issus de plusieurs sites industriels de ce même secteur d'activité (poissons fumés) et en provenance d'autres filières afin de vérifier l'hypothèse d'un caractère spécifique des souches qui pourrait être relié à une origine commune à savoir le milieu marin.

#### ■ Récolte et identification des souches de *Listeria*

Afin d'obtenir une population statistiquement significative, la récolte de souches a été réalisée à partir de plusieurs sources :

- Des suivis de fabrication de saumon et hareng fumés ont été mis en œuvre sur une période d'un an auprès des industriels partenaires de ce projet et des campagnes de prélèvements de poissons fumés dans la grande distribution ont été organisées en période de grande production (en fin d'année 2000).
- En complément, une collection de souches issues d'une étude antérieure auprès de 4 sites de production français (FAIR CT96-1207) a été également intégrée à ce projet.

Au total, 40 sites industriels ont été inclus et près de 3000 isolats ont été collectés.

Les isolats ont été triés par une méthode PCR rapide d'empreinte génétique, puis caractérisés par sérotypage et pulsotypage. Les profils génétiques ont été confrontés d'une part à ceux issus d'un panel de souches cliniques, et d'autre part à une base de données construite à partir de souches *L. monocytogenes* isolées dans diverses filières de l'agro-alimentaire.

### ■ Résultats au niveau de l'entreprise de transformation

Les poissons fumés se caractérisent par une prévalence globale significative en *L. monocytogenes* (autour de 20 %) mais avec un faible niveau de contamination se répartissant dans le produit de façon hétérogène. Le travail fait ressortir le problème majeur que représente l'établissement et la persistance de certains clones sur les lignes de fabrication. L'origine primaire de ces clones devenus résidents est assurément liée à la qualité des matières premières qui représentent une voie non négligeable d'entrée du pathogène dans les locaux.

La voie de contamination majeure de la production reste cependant la contamination croisée entre l'environnement direct du site de production et les produits intermédiaires et est fortement liée au contexte de fabrication. En effet, les procédés technologiques employés (salage à sec, salage par injection par exemple) et les mesures d'hygiène appliquées sur les sites ont un rapport direct avec cette prévalence. Les résultats montrent également que le procédé de salage-fumage permet de réduire l'incidence du pathogène dans le poisson fumé à froid. La recontamination du filet après fumage doit être résolument évitée et s'inscrit comme une priorité pour ce secteur d'activité.

### ■ Résultats au niveau de la filière

Les résultats du sérotypage indiquent qu'une large majorité de souches appartient au sérotype 1/2a (74%). Il est important de noter que le sérotype 4b/e, majoritairement impliqué dans les cas cliniques, se classe en deuxième position avec environ 10 % des souches. Ces dernières ont été isolées aussi bien à partir des matières premières que des produits fumés. Enfin peu de diversité semble réellement exister au sein de la collection de souches "produits de la pêche" mais beaucoup de variants génétiques dérivant de quelques lignées clonales ont plutôt été identifiés. Ainsi, les pulsotypes présentant 90% de similarité ont été classés au sein d'un même groupe génétique. Sur ce principe, 24 groupes distincts ont été détectés.

L'analyse statistique des données montre que le hareng et le saumon ne sont pas contaminés de façon significative par les mêmes groupes génétiques. Les comparaisons inter-filières indiquent que les groupes associés au saumon sont communément rencontrés dans diverses filières de l'agro-alimentaire. *A contrario*, de façon minoritaire, la présence de souches indigènes, naturellement présentes dans le milieu marin et spécifiques de cette niche écologique a été mise en évidence essentiellement au niveau du hareng qui est une espèce sauvage pêchée au large des côtes.

### ■ Conclusion

Les résultats du projet suggèrent que les voies de contamination de la matière première se trouvent au niveau de l'environnement sanitaire des élevages et de toutes les opérations mises en œuvre après la pêche (abattoir, conditionnement...).

Le profil génétique du "yellow clone", associé à des listérioses dans au moins 5 pays différents, a été identifié à 2 reprises dans la collection de souches "produits de la pêche". Ce constat renforce l'idée qu'il existe bien un risque sanitaire potentiel. La présence de *L. monocytogenes* dans la filière doit continuer à faire l'objet d'une attention particulière.