



« Application de bactériophages pour le contrôle de *Listeria monocytogenes* dans le saumon fumé »

Chef de file : Confédération des Industries de traitement des produits des Pêches Maritimes
44 rue d'Alésia, 75 682 Paris cedex 14
Contact : Philippe DROIN
Tel : 01.53.91.44.64, Fax : 01.53.91.44.70 e-mail : pdroin@adepale.org

Partenaires : ADRIA NORMANDIE
Cofinancement : EBIFOOD SAFETY

➤ **Situation du sujet et objectifs du projet**

Au sein du rayon poissons fumés, en 2006, sur le territoire français, le marché du saumon et de la truite fumés représente 64% du tonnage vendu et 77% en valeur. De produit festif, le saumon et la truite fumés sont devenus des produits de consommation courante grâce à une « désaisonnalisation » des ventes, à une diminution du prix de vente et à une évolution des habitudes alimentaires. Par ailleurs, les poissons fumés sont de plus en plus utilisés dans des produits d'assemblage (canapés, sandwiches) où ils sont fréquemment associés à des matrices favorables au développement de *L. monocytogenes*.

Ce marché, impliquant une vingtaine d'entreprises françaises, est en constante progression (25500 T en 2005 et 27600 T en 2006).

Des travaux de recherches couplés à l'amélioration des pratiques d'hygiène et de fabrication (qualité de la matière première, technologie, ..) ont permis de réduire fortement la prévalence de *L. monocytogenes* dans les saumons fumés et en cas de présence, les niveaux de population sont généralement très bas (moins de 1 cellule par gramme). Cependant, en raison d'une prévalence avérée, ce produit, comme d'autres produits sensibles (fromages, rillettes,..) est régulièrement soupçonné en cas de listériose, ce qui nuit fortement à l'image de la filière.

Compte tenu de la prévalence de *L. monocytogenes* dans les saumons et truites fumés, l'utilisation de diverses méthodes en vue de diminuer cette prévalence et/ou de diminuer les niveaux de contamination a été envisagée (ferments de bioprotection, bactériocines, huiles essentielles, acides organiques, haute-pressions...). Cependant, certaines de ces méthodes posent soit des problèmes réglementaires (bactériocines) soit ne sont pas efficaces (par ex., hautes pressions). Depuis quelques années, des cultures de phages anti-*Listeria* ont été développées et sont utilisées dans diverses filières alimentaires comme moyen de lutte. Dans ce contexte, le but de cette étude était d'évaluer l'efficacité de ces phages en tant qu'auxiliaire technologique pour le contrôle de *L. monocytogenes* dans la filière saumon et truite fumés.

➤ **Résultats obtenus**

L'étude a porté sur le LISTEX P100 (suspension phagique anti *Listeria monocytogenes*).

Etude du spectre d'action du Listex P100

L'efficacité du LISTEX P100 a été étudiée in vitro, à deux taux 10^7 et 10^9 PFU/cm², sur 42 souches de *L. monocytogenes* issues d'une collection de 484 souches isolées de saumons et truites fumés dans le cadre d'un projet OFIMER 2005 « Application d'outils de gestion de la contamination des saumons et des truites fumés par *Listeria monocytogenes* ». Les 42 souches choisies sont représentatives des 31 profils combinés *Apal/Ascl* de typage obtenus par PFGE.

Seulement 4 souches se sont révélées résistantes. Ces souches ont été testées par EBIFOOD SAFETY pour un LISTEX à spectre élargi et s'y sont avérées sensibles.

L'efficacité du LISTEX P100 a été vérifiée dans un second temps sur 2 souches cultivées dans différentes conditions (adaptation au froid, stress nutritionnel ou stress salage/fumage). L'efficacité du LISTEX s'est avérée comparable quelles que soient les conditions de pré-culture de *L. monocytogenes* pour une des 2 souches. Pour la seconde souche, l'efficacité des phages était moindre *in vitro* après le stress nutritionnel et le stress salage fumage.

Efficacité du LISTEX P100 dans du saumon fumé tranché contaminé par *L. monocytogenes*

Des tests de croissance ont été réalisés sur des tranches de saumon fumé artificiellement contaminées par *L. monocytogenes* après tranchage. L'efficacité des phages (LISTEX P100) utilisés à la concentration de 10^9 PFU/cm² a été étudiée sur 2 souches de *L. monocytogenes*. Deux conditions de pré-culture de *L. monocytogenes* (adaptation au froid et stress salage fumage) ont été testées. Les phages ont été appliqués par étalement ou par pulvérisation.

Dès l'application, on note une forte réduction de la population initiale en *L. monocytogenes*. Les cellules résiduelles non infectées par les phages (pas de contact entre le phage et la cellule bactérienne cible) peuvent se multiplier dans le saumon fumé en cours de conservation. Cependant, les niveaux en *L. monocytogenes* atteints à durée de vie après 28 jours de conservation selon un scénario 1/3 à +4°C et 2/3 à +8°C sont très inférieurs à ceux observés dans les témoins non traités.

✓ En cas de contamination initiale élevée (400 à $9 \cdot 10^3$ UFC/g), la réduction initiale est de 0,7 à 2 ulog selon la souche. On constate un écart de population de 1,6 à 2,7 ulog à durée de vie entre les saumons non traités et les saumon traités par le LISTEX P100 selon la souche de *L. monocytogenes* étudiée.

✓ Des faibles taux de contamination initiale en *L. monocytogenes*, plus proches des taux de contamination naturelle des saumons fumés, ont été également étudiés (1 à 25 cellules dans 10 g soit 0,1 à 2,5 UFC/g).

Pour ces faibles taux de contamination initiale, on constate une réduction initiale importante due à l'action des phages avec 23 échantillons sur 27 présentant des taux < 0,2 UFC/g.

A durée de vie, 11% des échantillons présentent un taux en *L. monocytogenes* < 100 UFC/g pour les témoins non traités contre 66,6% pour les saumons traités avec les phages

Une application par étalement est plus efficace en conditions laboratoire qu'une application par pulvérisation du fait d'une moins bonne répartition des phages en surface de la tranche de saumon. Cependant, il existe des systèmes de pulvérisation plus fiables (meilleure répartition des phages) et utilisables en condition industrielles.

Le LISTEX P100 permet de réduire la prévalence de *L. monocytogenes* dans les saumons fumés tranchés et permet de limiter les risques de dépassement du seuil réglementaire de 100 UFC/g en cours de conservation.

Des échantillons naturellement contaminés en *L. monocytogenes* ont été traités par le LISTEX P100 en vue de valider l'efficacité des phages.

Par ailleurs, l'impact des phages d'un point de vue organoleptique a été étudié. Aucun effet sur la couleur, l'odeur et le goût n'a été observé.

➤ Valorisation

L'ensemble des données du programme sera valorisé grâce à une diffusion aux professionnels *via* le site internet d'Adépale (filiale saumon) et *via* des publications techniques et/ou scientifiques.

Il serait intéressant de mener des essais d'application des phages sur site industriel ou en halle technologique, avec des entreprises volontaires, en vue d'évaluer l'impact sur la prévalence de *L. monocytogenes* dans les saumons et truites fumés. Des contacts seront pris dans ce sens avec les pouvoirs publics en vue d'étudier les possibilités d'utilisation des phages.