

Maîtrise du développement de *Listeria monocytogenes* dans le saumon fumé : intérêt de la biopréservation par des bactéries lactiques

Christelle RICHARD^a, Françoise LEROI^b, Anne BRILLET^a, Cinta RACHMAN^a,
Nathalie CONNIL^a, Djamel DRIDER^a, Marie France PILET^a, Bernard ONNO^a,
Xavier DOUSSET^a, Hervé PREVOST^{a*}

^a Unité de Recherche Qualité Microbiologique et Aromatique des Aliments, ENITIAA,
rue de la Géraudière, BP 82225, 44322 Nantes Cedex 3, France

^b Laboratoire de Génie Alimentaire, IFREMER, rue de l'Île d'Yeu, BP 21105, 44311 Nantes Cedex 3, France

Published online 13 November 2003

Abstract – Control development of *Listeria monocytogenes* in smoked salmon: interest of the biopreservation by lactic bacteria. The interest of biopreservation using lactic bacteria to improve the food security of smoked salmon was evaluated. Cold smoked salmon is a non-stable microbiological product whose physicochemical characteristics allow the development of *Listeria monocytogenes* which constitutes the major microbiological risk depending on the consumption of this product. Biodiversity of the microflora of smoked salmon and its evolution during conservation, the origin of the contamination by *Listeria* and its consequences, and the parameters of the manufacturing process allowing a better control of microbiological quality are discussed. The innovating concept of biopreservation of smoked salmon is developed. It consists of an inoculation of salmon by a competitive lactic flora able to inhibit *Listeria monocytogenes* during storage. The selected strains are *Carnobacterium* which do not have any influence on sensory qualities of smoked salmon, nor any effect on the concentration of biogenic amines in the finished product.

Cold smoked salmon / lactic acid bacteria / biopreservation / *Listeria* / *Carnobacterium*

Résumé – L'intérêt de la biopréservation utilisant des bactéries lactiques pour améliorer la sécurité sanitaire du saumon fumé est présenté. Le saumon fumé à froid est un produit microbiologiquement fragile dont les caractéristiques physico-chimiques permettent le développement de *Listeria monocytogenes* qui constitue le principal risque microbiologique lié à la consommation de ce produit. La biodiversité de la microflore du saumon fumé et son évolution au cours de la conservation, l'origine de la contamination par *Listeria* et ses conséquences, ainsi que les paramètres du procédé de fabrication permettant une meilleure maîtrise de la qualité microbiologique du procédé sont discutés. Le concept innovant de biopréservation du saumon fumé est développé. Celui-ci repose sur l'ensemencement du saumon fumé par une flore lactique compétitive capable d'inhiber *L. monocytogenes* au cours de la conservation au froid. Les souches sélectionnées appartiennent au genre *Carnobacterium* et n'ont pas d'influence sur les qualités sensorielles du saumon fumé, ni d'effet sur le niveau de concentration en amines biogènes du produit fini.

Saumon fumé / bactérie lactique / biopréservation / *Listeria* / *Carnobacterium*

* Auteur correspondant : prevost@enitiaa-nantes.fr

1. INTRODUCTION

De nos jours, dans les pays industrialisés, le but du salage et du fumage du saumon n'a plus uniquement pour objectif d'assurer une longue conservation au produit mais aussi de lui conférer les caractéristiques organoleptiques recherchées par les consommateurs. La conservation réfrigérée sous vide assez longue (généralement 4 semaines) associée au fait que le produit est principalement consommé cru engendre un risque sanitaire lié à une contamination possible par des germes psychotrophes pathogènes comme *Listeria monocytogenes*. La maîtrise de la recontamination et du développement de *L. monocytogenes* dans le saumon constitue, pour les industriels de la filière, la problématique centrale en terme d'assurance de la qualité sanitaire de ce produit.

Produit de luxe initialement consommé en période de fête, le saumon fumé est devenu un aliment de consommation courante présent en toutes saisons sur les linéaires. En France, sa consommation a été multipliée par six depuis 1980, pour se stabiliser aux environs de 20 000 tonnes par an, ce qui fait de notre pays le plus gros consommateur mondial [18]. Avec 64 000 tonnes en 1999, la production européenne de saumon fumé représente 80 % du marché mondial. La production française est réalisée par une quarantaine d'opérateurs répartis sur tout le territoire. Six entreprises réalisent à elles seules plus de 80 % de la production française qui se situe au premier rang mondial et s'est stabilisée aux alentours de 20 000 tonnes annuelles pour un chiffre d'affaires d'environ 300 millions d'euros.

2. TECHNOLOGIE DE FABRICATION

Les saumons destinés à être fumés proviennent essentiellement d'élevages norvégiens et, dans une moindre mesure, d'élevages irlandais, écossais ou chiliens. Les poissons sont abattus, saignés et éviscérés sur le lieu

d'élevage, puis mis en glace avant d'être transportés en quatre à cinq jours dans les entreprises françaises. Ils sont alors étêtés, découpés en filets, parés avant l'étape de salage. Le procédé de salage au sel sec, qui est le plus utilisé, permet d'atteindre en 2 à 10 h un taux de sel de l'ordre de 2,5 à 3,5 % dans le produit fini. Le séchage a pour but d'éliminer l'eau contenue dans la chair afin d'atteindre une teneur en eau inférieure à 65 % dans le produit. Les filets sont ensuite exposés à la fumée provenant de la combustion, le plus souvent, du hêtre ou du chêne. Dans la plupart des pays d'Europe, le saumon est fumé dans des séchoirs climatisés, à une température comprise entre 20 et 26 °C pendant une durée de 2 à 12 h. Il s'agit du procédé de fumage à froid, par opposition au fumage à chaud (70 °C) pratiqué en Europe du Nord et aux Etats-Unis. Le pH du saumon fumé est de l'ordre de 6,0–6,2 et l'*A_w* comprise entre 0,96 et 0,99. La majeure partie de la production est commercialisée en bandes ou en tranches emballées sous vide, et stockée à température réfrigérée (2 à 4 °C).

3. LA MICROFLORE DU SAUMON FUMÉ

Les bactéries principalement isolées des poissons d'eaux tempérées sont généralement à Gram négatif, appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Photobacterium*, *Vibrio*, et *Moraxella*. Le muscle du poisson vivant est stérile. Cependant, au cours des opérations d'éviscération, étêtage, filetage et parage, ces micro-organismes peuvent contaminer la chair. Lors de la transformation et particulièrement au tranchage et au conditionnement, le produit peut être contaminé par des germes de portage humain ou présents dans l'environnement de l'atelier [42].

En sortie d'usine, la contamination des produits peut atteindre 10^2 à 10^6 UFC.g⁻¹ avec une prédominance de bactéries à Gram négatif comme *Photobacterium*, *Shewanella*, *Vibrio*, *Serratia*, *Hafnia* mais aussi parfois la présence de *Brochothrix thermosphacta*,

de *Listeria*, de *Staphylococcus*, de *Salmonella* [22] et de bactéries lactiques appartenant aux genres *Carnobacterium* et *Lactobacillus* [20]. Il semble que le niveau de contamination du saumon fumé varie essentiellement selon l'usine considérée [42]. Le procédé de conservation sélectionne des bactéries psychrotrophes se multipliant encore très bien à 4 °C, aérobies ou anaérobies facultatives et supportant bien les concentrations en sel de l'ordre de 3 à 6 %. Dans ces conditions, la flore totale augmente rapidement dans le saumon fumé tranché et emballé sous vide et peut atteindre des niveaux de population de l'ordre de 10^{6-8} UFC·g⁻¹ au bout de 2 à 3 semaines de stockage au froid.

La biodiversité de la flore du saumon fumé réfrigéré sous vide est complexe et évolue au cours de la conservation. Le saumon fumé peut être contaminé par plus de 15 espèces de bactéries différentes dans des proportions variant considérablement selon les lots [20]. L'analyse de la biodiversité de la flore du saumon fumé au cours de sa conservation a été également réalisée grâce à des méthodes d'inventaires moléculaires comme la technique ARDRA [7] et la TTGE (Rachman, communication personnelle). Ces techniques ont permis de différencier les principales flores à Gram positif (*Cb. piscicola*, *Cb. divergens*, *Lb. curvatus*, *Lb. sakei* et *B. thermosphacta*) et également les flores à Gram négatif du saumon fumé (*Photobacterium phosphoreum*, et *Shewanella putrefaciens*). Nous avons développé les méthodes d'identification moléculaire des espèces de *Carnobacterium* [29].

Une altération organoleptique peut parfois être observée dès la fin de la deuxième semaine de stockage. Le rôle dans l'altération organoleptique des différentes espèces de bactéries lactiques n'est pas clairement identifié. Il semble néanmoins que certaines espèces de *Lactobacillus* comme *Lb. sakei* soient très altérantes, causant un fort défaut de flaveur de type soufré, acide ou aigre [27, 35]. *P. phosphoreum*, *B. ther-*

mosphacta et les entérobactéries comme *Serratia liquefaciens* et *Proteus* peuvent également être impliqués [20, 27].

4. ORIGINE ET CONSÉQUENCES DE LA CONTAMINATION PAR *LISTERIA*

Le principal danger pour la santé lié à la transformation du saumon fumé est d'ordre microbiologique. En effet, le procédé de fabrication est relativement long (environ 24 h) et comporte des séjours à des températures variant entre 12 et 26 °C avec une manipulation importante et donc un risque de contamination et de développement microbien non négligeable. De plus, aucune étape du procédé ne permet une élimination des germes contaminant le produit. Le procédé de salage-fumage du saumon est désormais surtout appliqué à des fins organoleptiques et les traitements avec des taux en sel généralement compris entre 2,5 et 3,5 % et en fumée inférieure à 1 mg de phénols/100 g ne constituent pas un environnement fortement inhibiteur du développement bactérien [31].

Listeria monocytogenes constitue le risque microbiologique majeur dans le saumon fumé. En effet, la fréquence de contamination du saumon fumé par *L. monocytogenes* varie entre 10 et 75 % des lots selon les études [4, 10, 22], avec un taux généralement inférieur à 10 UFC·g⁻¹ dans les produits en sortie usine. Plusieurs études indiquent que la source principale de contamination du produit fini a lieu pendant le procédé de transformation, par contact avec des surfaces ou équipements souillés [3, 19]. Seules, certaines souches résidentes qui ont la capacité de coloniser l'environnement au détriment des autres souches se retrouvent dans le produit fini [12, 24].

Les poissons fumés ont été incriminés dans plusieurs épidémies de listériose dont deux seraient liées à la consommation de saumon ou de truite fumés : l'une en Suède touchant 9 personnes et provoquant 2 décès [16] et l'autre en Finlande entraînant 5 cas

de gastro-entérite fébrile [34]. Par ailleurs, 23 cas de listériose ont été recensés en Finlande entre juin 1999 et février 2000, probablement dus à l'ingestion de poisson fumé ou salé à froid [17].

En France et dans d'autres pays européens, la législation tolère jusqu'à 100 UFC·g⁻¹ de *L. monocytogenes* dans le saumon fumé à sa date limite de consommation (DLC) à la condition que les entreprises aient effectué des études de vieillissement de leurs produits prouvant que le seuil de 100 UFC·g⁻¹ n'est jamais dépassé à la DLC [1, 13]. Toutes les études réalisées en ajoutant artificiellement *L. monocytogenes* dans du saumon fumé ont montré une croissance importante (2–3 log UFC·g⁻¹) de cette bactérie en quelques semaines de conservation sous vide à 4 °C, avec une accentuation notable (5–6 log UFC·g⁻¹) si le stockage s'effectue à 8 °C [14, 36]. Cependant, les résultats observés sur des saumons fumés naturellement contaminés sont beaucoup moins alarmants. En effet, entre 5 et 10 °C, la croissance est relativement lente, les taux maximum observés excèdent rarement 100–1000 UFC·g⁻¹ [11]. De plus, le potentiel pathogène de souches de *L. monocytogenes* isolées du saumon fumé semble faible [37].

En France, aucun cas de toxi-infection alimentaire n'a été imputé à ce jour au saumon fumé. Un tel événement serait catastrophique pour toute la filière. Les coûts occasionnés par les rappels et la destruction de lots, qui surviennent régulièrement, pèsent sur l'image et l'économie de ces entreprises. Pour ces raisons, l'amélioration de la maîtrise du développement de *Listeria* dans le saumon fumé est centrale pour l'activité de cette filière.

5. MAÎTRISE DE LA QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DU SAUMON FUMÉ

La lutte contre *L. monocytogenes* dans le saumon fumé doit s'effectuer au niveau de l'hygiène de l'entreprise, et des paramètres

directeurs de la croissance de *Listeria* dans le produit, que sont le taux de sel, le taux de fumée et la température de conservation. Cependant, compte tenu des critères de préférence organoleptique du consommateur, les amplitudes de variation sur ces paramètres sont faibles. En ce qui concerne les flores banales (flores totales, flores productrices d'H₂S et bactéries lactiques), le sel (entre 0 et 5 %) a un effet protecteur bien plus important que la fumée (entre 0 et 1 mg de phénols pour 100 g de chair). À titre d'exemple, la flore totale peut être immédiatement réduite de 0,7 log par gramme de sel ajouté [31]. En ce qui concerne *L. monocytogenes*, les modèles prédictifs de la croissance en fonction de différents paramètres physico-chimiques (Food Micro-Model (Arrow Scientific, Sydney, Australia) et Pathogen Modelling Program (Eastern Regional Reserch Center, PN, USA)) surestiment tous la croissance de ce germe dans le saumon fumé. Le modèle de Membré et al. [32] qui a été développé et validé spécialement pour ce produit, montre bien les conséquences dramatiques d'un stockage à 8 °C plutôt qu'à 4 °C. À 8 °C, des taux de phénols (0 à 1 mg·100 g⁻¹) et de sel (2 à 4 %) n'ont aucun effet sur le développement de *L. monocytogenes* dans le saumon [46]. De même, Guyer et Jemmi [21] ont montré qu'un taux de sel de 6 % et un fumage à froid de 26–30 h n'avaient aucun effet sur la population de *L. monocytogenes* inoculée au préalable sur des filets de saumon (23 à 23 000 UFC·g⁻¹). En conclusion, il apparaît que la maîtrise de la contamination du saumon au cours du procédé de transformation soit un facteur bien plus important que le sel et la fumée sur la contamination finale du produit. La maîtrise microbiologique lors du salage et du fumage ainsi que le maintien de la chaîne du froid à une température inférieure à 4 °C jusque chez le consommateur sont des facteurs primordiaux pour assurer la qualité et la sécurité de ce produit.

En plus des paramètres technologiques inhérents au procédé de salage-fumage, différentes méthodes ont été testées pour

Table I. Bactériocines produites par des souches de *Carnobacterium* isolées de produits alimentaires.
Table I. Bacteriocins synthesis by *Carnobacterium* strains isolated from food products.

Souche	Origine	Bactériocine	Nb d'acides aminés (forme mature)	Références
<i>Cb. piscicola</i> LV17A	porc emballé	carnobactériocine A	53	[48]
<i>Cb. piscicola</i> LV17B	porc emballé	carnobactériocine BM1	43	[40]
<i>Cb. piscicola</i> V1	poisson	piscicocine V1b		[5]
<i>Cb. piscicola</i> LV17B	porc emballé	carnobactériocine B2	48	[40]
<i>Cb. piscicola</i> CP5	fromage	carnocine CP52		[23]
<i>Cb. piscicola</i> CP5	fromage	carnocine CP51	N.D.	[23]
<i>Carnobacterium</i> 377	N.D.	carnocine H	75	[6]
<i>Cb. piscicola</i> UI49	poisson	carnocine UI49	N.D.	[44]
<i>Cb. divergens</i> V41	truite	divercine V41	43	[33]
<i>Cb. divergens</i> LV13	porc emballé	divergicine A	46	[49]
<i>Cb. divergens</i> 750	N.D.	divergicine 750	34	[25]
<i>Cb. piscicola</i> V1	poisson			[5]
<i>Cb. piscicola</i> JG126	jambon	piscicocine V1a	44	[26]
<i>Cb. piscicola</i> SF668	poisson	piscicoline 126		[14]
<i>Cb. piscicola</i> LV61	agneau emballé	piscicoline 61	53	[43]

N.D. = non déterminé.

limiter le développement de *L. monocytogenes* dans le saumon fumé. Il s'agit de l'ionisation, de l'ajout d'acides organiques, de glucono-delta-lactone [30]. Ces méthodes sont soit peu efficaces, soit entraînent des modifications organoleptiques du produit. Ces additifs ne sont d'ailleurs pas autorisés en France dans la dénomination "saumon fumé".

6. BIOPRÉSERVATION DU SAUMON FUMÉ

Les études réalisées sur la caractérisation des flores de contamination du saumon fumé ont mis en évidence la présence dans ce produit d'une flore lactique composée de *Lactobacillus* et de *Carnobacterium* [20]. Les bactéries du genre *Carnobacterium* ont été particulièrement étudiées pour leur aptitude à produire des peptides anti-*Listeria*. Les *Carnobacterium* producteurs de bactériocines que l'on retrouve dans des

produits alimentaires sont présentés dans le tableau I. La forme mature de ces 11 bactériocines possède entre 34 (divergicine 750) et 75 acides aminés (carnocin H). Il s'agit généralement de bactériocines de classe IIa. L'utilisation des bactériocines produites par des bactéries lactiques pour l'inhibition de *L. monocytogenes* dans le saumon fumé peut être envisagée dans deux contextes : comme un additif (ajout du peptide purifié ou semi-purifié) ou comme un auxiliaire technologique (ensemencement d'une souche productrice in situ de bactériocine).

Des préparations commerciales de nisine (Aplin and Barrett Ltd., Trowbridge, Angleterre; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) associée au CO₂, inhibent la croissance de *L. monocytogenes* dans le saumon fumé [36, 45] mais le conditionnement sous atmosphère modifiée autorisée, contrairement au conditionnement sous vide, le déplacement des fines tranches de saumon fumé dans l'emballage, ce qui ne permet pas une présentation adéquate du produit.

Le concept de biopréservation repose sur l'ensemencement du saumon par une flore lactique compétitive capable d'inhiber *L. monocytogenes* au cours de la conservation au froid. Ceci ne peut être envisagé que si les souches utilisées sont adaptées à la croissance en milieu saumon fumé. Ainsi les souches productrices de nisine comme *Lactococcus lactis* ATCC 11454 ne se développent pas dans un environnement saumon fumé [47]. En revanche, une souche de *L. sakei* montre une capacité satisfaisante à inhiber *L. monocytogenes* dans le saumon, cependant le produit présente alors une forte odeur d'altération [35]. En revanche, l'utilisation de bactéries lactiques isolées de produits de la mer (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et sélectionnées pour leur capacité à inhiber *L. monocytogenes* a été évaluée comme cultures utilisables dans un procédé de biopréservation.

Carnobacterium divergens V41 produisant la divercine et *Carnobacterium piscicola* V1 produisant la carnobacteriocine BM1 et la pisciocine V1a, des bactériocines de classe IIa, ont été isolés dans notre laboratoire [5, 33, 39]. Cette dernière bactériocine est aussi produite par une autre souche isolée du saumon fumé, *Cb. piscicola* SF668 [14]. Ces trois souches sont capables d'inhiber *L. monocytogenes* dans un système simulant le saumon fumé conservé à 4 °C [14]. *Cb. piscicola* V1 présente une activité bactéricide contre *L. monocytogenes* dans du saumon stérile et du saumon commercial à 4 et 8 °C [15]. La biodiversité du niveau de sensibilité à la divercine V41 d'une collection de 57 souches de *L. monocytogenes* isolées d'ateliers de fabrication de saumon fumé [2] nous a permis de classer les souches de *L. monocytogenes* en 2 catégories : souches très sensibles (81 %) et souches de sensibilité intermédiaire (19 %) à *Cb. divergens* V41 (Brillet, communication personnelle). La croissance de mélanges de souches de *L. monocytogenes* de différentes sensibilités à la divercine en co-culture dans du saumon fumé avec *Cb. divergens* V41 est présentée sur la figure 1.

Cb. divergens V41 permet de réduire le taux de *Listeria* de 3,6 à 4,6 log (UFC·g⁻¹) par rapport aux témoins non ensemencés par la souche bioprotectrice dont la population en *L. monocytogenes* atteint 4,8 à 5 log après 28 j. De manière générale, *Cb. divergens* V41 permet de maintenir un taux de *L. monocytogenes* inférieur à 50 UFC·g⁻¹ quelle que soit la sensibilité des souches. Récemment, l'utilisation d'un mutant déficient dans la production de divercine V41 a permis de démontrer le rôle déterminant de la production de divercine dans l'activité inhibitrice de *L. monocytogenes* dans le saumon fumé par *Cb. divergens* V41 [41].

Un autre critère de sélection important concerne les modifications des caractéristiques organoleptiques du saumon à la DLC engendrées par l'ensemencement de ces souches bioprotectrices. Ainsi, Paludan-Muller et al. [38] ont montré que l'inoculation du saumon fumé sous vide par un mélange de souches de *C. piscicola* isolées du saumon fumé provoquait le développement après stockage d'odeurs d'altération. Les potentialités altérantes de *Cb. divergens* V41, *Cb. piscicola* V1 et *Cb. piscicola* SF668 ensemencés à un taux initial de 10⁴⁻⁵ UFC·g⁻¹ ont été testées sur du saumon fumé stérile et du saumon fumé commercial (2 % p/v). Concernant l'évaluation sensorielle sur saumon fumé stérile, le jury entraîné (14 juges entraînés, 19 critères d'odeur) n'a pas perçu d'effets d'altération notoires dus aux trois souches par comparaison au témoin non ensemencé. Cependant, l'ajout d'une culture de *Cb. divergens* V41 par pulvérisation recto-verso sur des lots de saumon fumé commercial est perçue par le jury (goût et odeur) mais avec une intensité toujours très faible (Brillet, communication personnelle). Ainsi, une population importante de *Carnobacterium* (10⁸ UFC·g⁻¹) n'a pas d'influence sur les qualités sensorielles du saumon fumé stocké quatre semaines à 4 puis 8 °C.

Les amines biogènes qui sont des indicateurs de l'altération du saumon fumé proviennent du métabolisme bactérien des

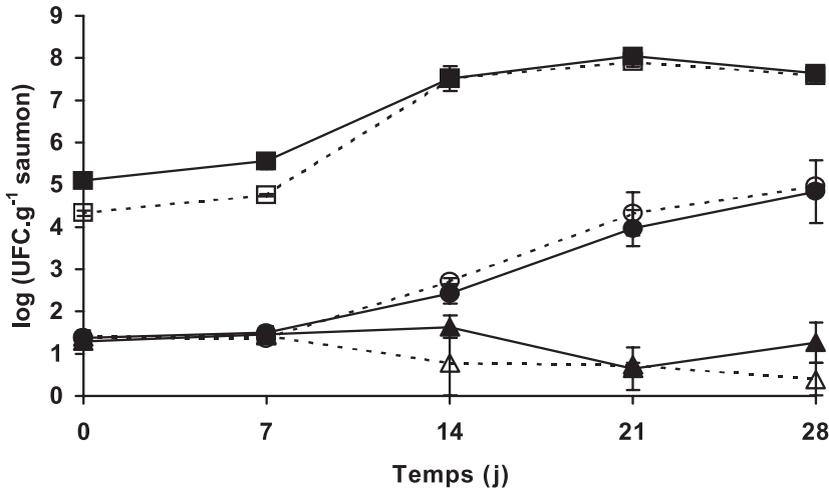


Figure 1. *Carnobacterium divergens* V41 dans du saumon fumé stérile. Co-culture de *Cb. divergens* (□, ■) et de *L. monocytogenes* (△, ▲); culture pure de *L. monocytogenes* (○, ●); mélange de 5 souches de *L. monocytogenes* très sensibles à *Cb. divergens* V41 (□, △, ○); et mélange de 5 souches de *L. monocytogenes* de sensibilité intermédiaire à *Cb. divergens* V41 (■, ▲, ●).

Figure 1. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Carnobacterium divergens* V41 in sterile smoked salmon. Co-culture of *Cb. divergens* (□, ■) and *L. monocytogenes* (△, ▲); culture of *L. monocytogenes* alone (○, ●); pooled culture of 5 *L. monocytogenes* strains presenting high sensitivity to *Cb. divergens* V41 (□, △, ○); and pooled culture of 5 *L. monocytogenes* strains presenting medium sensitivity to *Cb. divergens* V41 (■, ▲, ●).

acides aminés. L'association d'entérobactéries comme *Serratia liquefaciens* ou *Hafnia alvei* avec des bactéries lactiques augmente la production d'amines biogènes [28]. Dans le contexte de la biopréservation du saumon fumé, il est important d'estimer l'effet de l'ensemencement du saumon fumé avec des souches de bactéries lactiques sur la production d'amines biogènes. L'effet des paramètres technologiques (température, concentration en sel) sur la croissance et la production d'amines biogènes par *Cb. divergens* V41 dans du saumon fumé stérile a été étudié. Les résultats montrent que l'inoculation du saumon fumé par *Cb. divergens* V41 ne génère pas de concentration plus élevée en amines biogènes (putrescine, cadavérine, histamine et

tyramine) que la flore indigène du témoin non ensemencé [8, 9].

7. CONCLUSION

Le concept de la biopréservation du saumon par des souches inhibitrices de *Listeria monocytogenes* est prometteur car il a démontré son efficacité à l'échelle du laboratoire et nécessite d'être validé au niveau industriel. Les connaissances sur les écosystèmes de ce produit doivent être approfondies afin d'évaluer les modifications entraînées par l'ensemencement de souches biopréservatrices. Ces souches devront être préalablement cultivées sur milieu dépourvu de protéines d'origine animale. De nouveaux développements de ce concept de technologie

des barrières devraient nous amener à proposer des stratégies à plus larges spectres permettant une inhibition de la flore banale de contamination en vue de l'augmentation de la DLC.

Remerciements : Les travaux réalisés dans nos laboratoires ont été financés par l'Union européenne (FAIR 1996–1999), la région Pays de la Loire, la CITPPM (Confédération des Industriels Transformateurs des Produits de la Pêche Maritime) ainsi que par le MAAPAR (programme « Aliment-Qualité-Sécurité AQS 2002 ») et le MJENR dans le cadre du programme « Bioressource et traçabilité pour le post-génome 2001–2002 ».

RÉFÉRENCES

- [1] AFSSA, Rapport de la commission d'étude des risques liés à *L. monocytogenes*, 2000.
- [2] ASEPT, Collection de *Listeria monocytogenes* isolées d'atelier de fabrication de saumon fumé, Laval, France, 2001.
- [3] Autio T., Hielm S., Miettinen M., Sjöberg A.M., Aarnisalo K., Björkroth J., Mattila-Sandholm T., Korkeala H., Sources of *Listeria monocytogenes* contamination in a cold-smoked rainbow trout processing plant detected by pulsed-field gel electrophoresis typing, *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (1999) 150–155.
- [4] Ben Embarek P.K., Presence, detection and growth of *Listeria monocytogenes* in seafoods: a review, *Int. J. Food Microbiol.* 23 (1994) 17–34.
- [5] Bhugalo-Vial P., Dousset X., Metivier A., Sorokine O., Anglade P., Boyaval P., Marion D., Purification and amino acid sequences of pisciocins VIa and VIb, two class IIa bacteriocins secreted by *Carnobacterium piscicola* V1 that display significantly different levels of specific inhibitory activity, *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (1996) 4410–4416.
- [6] Blom H., Katla T., Nissen H., Holo H., Characterization, production, and purification of carnocin H, a bacteriocin produced by *Carnobacterium* 377, *Curr. Microbiol.* 43 (2001) 227–231.
- [7] Cambon-Bonavita M.A., Lesongeur F., Menoux S., Lebourg A., Barbier G., Microbial diversity in smoked salmon examined by a culture-independent molecular approach: a preliminary study, *Int. J. Food Microbiol.* 70 (2001) 179–187.
- [8] Connil N., Plissoneau L., Onno B., Pilet M.F., Prevost H., Dousset X., Growth of *Carnobacterium divergens* V41 and production of biogenic amines and divercin V41 in sterile cold-smoked salmon extract at varying temperatures, NaCl levels, and glucose concentrations, *J. Food Prot.* 65 (2002) 333–338.
- [9] Connil N., Prevost H., Dousset X., Production of biogenic amines and divercin V41 in cold smoked salmon inoculated with *Carnobacterium divergens* V41, and specific detection of this strain by multiplex-PCR, *J. Appl. Microbiol.* 92 (2002) 611–617.
- [10] Cortesi M.L., Sarli T., Santoro A., Murru N., Pepe T., Distribution and behavior of *Listeria monocytogenes* in three lots of naturally-contaminated vacuum-packed smoked salmon stored at 2 and 10 °C, *Int. J. Food Microbiol.* 37 (1997) 209–214.
- [11] Dalgaard P., Jørgensen L.V., Predicted and observed growth of *Listeria monocytogenes* in seafood challenge tests and in naturally contaminated cold-smoked salmon, *Int. J. Food Microbiol.* 40 (1998) 105–115.
- [12] Dauphin G., Ragimbeau C., Malle P., Use of PFGE typing for tracing contamination with *Listeria monocytogenes* in three cold-smoked salmon processing plants, *Int. J. Food Microbiol.* 64 (2001) 51–61.
- [13] DGAL, note de service DGAL/SDHA, N98/N°8088, 1998.
- [14] Duffes F., Corre C., Leroi F., Dousset X., Boyaval P., Inhibition of *Listeria monocytogenes* by in situ produced and semipurified bacteriocins of *Carnobacterium* spp. on vacuum-packed, refrigerated cold-smoked salmon, *J. Food Prot.* 62 (1999) 1394–1403.
- [15] Duffes F., Leroi F., Boyaval P., Dousset X., Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Carnobacterium* spp. strains in a simulated cold smoked fish system stored at 4 °C, *Int. J. Food Microbiol.* 47 (1999) 33–42.
- [16] Ericsson H., Eklow A., Danielsson-Tham M.L., Loncarevic S., Mentzing L.O., Persson I., Unnerstad H., Tham W., An outbreak of listeriosis suspected to have been caused by rainbow trout, *J. Clin. Microbiol.* 35 (1997) 2904–2907.
- [17] Eurosurveillance, Listeriosis cases suspected to have been caused by vacuum-packed fish product in Finland (<http://www.eurosurv.org/update>), Issue 15, April 13, 2000.
- [18] FAO, Statistiques des pêches, produits, 89 (1999) 90.
- [19] Fønnesbech Vogel B., Huss H.H., Ojeniyi B., Ahrens P., Gram L., Elucidation of *Listeria monocytogenes* contamination routes in cold-smoked salmon processing plants

- detected by DNA-based typing methods, *Appl. Environ. Microbiol.* 67 (2001) 2586–2595.
- [20] Gonzalez-Rodriguez M.N., Sanz J.J., Santos J.A., Otero A., Garcia-Lopez M.L., Numbers and types of microorganisms in vacuum-packed cold-smoked freshwater fish at the retail level, *Int. J. Food Microbiol.* 77 (2002) 161–168.
- [21] Guyer S., Jemmi T., Behavior of *Listeria monocytogenes* during fabrication and storage of experimentally contaminated smoked salmon, *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (1991) 1523–1527.
- [22] Heinitz M.L., Johnson J.M., The incidence of *Listeria* spp., *Salmonella* spp., and *Clostridium botulinum* in smoked fish and shellfish, *J. Food Prot.* 61 (1998) 318–323.
- [23] Herbin S., Mathieu F., Brule F., Branlant C., Lefebvre G., Lebrhi A., Characteristics and genetic determinants of bacteriocin activities produced by *Carnobacterium piscicola* CP5 isolated from cheese, *Curr. Microbiol.* 35 (1997) 319–326.
- [24] Hoffman A.D., Gall K.L., Norton D.M., Wiedmann M., *Listeria monocytogenes* contamination patterns for the smoked fish processing environment and for raw fish, *J. Food Prot.* 66 (2003) 52–60.
- [25] Holck A., Axelsson L., Schillinger U., Divergicin 750, a novel bacteriocin produced by *Carnobacterium divergens* 750, *FEMS Microbiol. Lett.* 136 (1996) 163–168.
- [26] Jack R.W., Wan J., Gordon J., Harmark K., Davidson B.E., Hillier A.J., Wettenhall R.E., Hickey M.W., Coventry M.J., Characterization of the chemical and antimicrobial properties of piscicolin 126, a bacteriocin produced by *Carnobacterium piscicola* JG126, *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (1996) 2897–2903.
- [27] Joffraud J.J., Leroi F., Roy C., Berdague J.L., Characterisation of volatile compounds produced by bacteria isolated from the spoilage flora of cold-smoked salmon, *Int. J. Food Microbiol.* 66 (2001) 175–184.
- [28] Jorgensen L.V., Huss H.H., Dalgaard P., The effect of biogenic amine production by single bacterial culture and metabiosis on cold-smoked salmon, *J. Appl. Microbiol.* 89 (2000) 920–934.
- [29] Kabadjova P., Dousset X., Le Cam V., Prevost H., Differentiation of closely related *Carnobacterium* food isolates based on 16S-23S ribosomal DNA intergenic spacer region polymorphism, *Appl. Environ. Microbiol.* 68 (2002) 5358–5366.
- [30] Leroi F., La microbiologie du saumon fumé à froid : aspects hygiéniques et qualité, *Rev. Gén. Froid* 1028 (2002) 35–40.
- [31] Leroi F., Joffraud J.J., Chevalier F., Cardinal M., Research of quality indices for cold-smoked salmon using a stepwise multiple regression of microbiological counts and physico-chemical parameters, *J. Appl. Microbiol.* 90 (2001) 578–587.
- [32] Membré J.M., Thurette J., Catteau M., Modelling the growth, survival and death of *Listeria monocytogenes*, *J. Appl. Microbiol.* 82 (1997) 345–350.
- [33] Metivier A., Pilet M.F., Dousset X., Sorokine O., Anglade P., Zagorec M., Piard J.C., Marion D., Cenatiempo Y., Fremaux C., Divercin V41, a new bacteriocin with two disulphide bonds produced by *Carnobacterium divergens* V41: primary structure and genomic organization, *Microbiology* 144 (1998) 2837–2844.
- [34] Miettinen M.K., Siitonen A., Heiskanen P., Haajanen H., Bjorkroth K.J., Korkeala H.J., Molecular epidemiology of an outbreak of febrile gastroenteritis caused by *Listeria monocytogenes* in cold-smoked rainbow trout, *J. Clin. Microbiol.* 37 (1999) 2358–2360.
- [35] Nilsson L., Huss H.H., Gram L., Inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon by nisin and carbon dioxide atmosphere, *Int. J. Food Microbiol.* 38 (1997) 217–227.
- [36] Nilsson L., Gram L., Huss H.H., Growth control of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon using a competitive lactic acid bacteria flora, *J. Food Prot.* 62 (1999) 336–342.
- [37] Norton D.M., Scarlett J.M., Horton K., Sue D., Thimothe J., Boor K.J., Wiedmann M., Characterization and pathogenic potential of *Listeria monocytogenes* isolates from the smoked fish industry, *Appl. Environ. Microbiol.* 67 (2001) 646–653.
- [38] Paludan-Muller C., Dalgaard P., Huss H.H., Gram L., Evaluation of the role of *Carnobacterium piscicola* in spoilage of vacuum- and modified-atmosphere-packed cold-smoked salmon stored at 5 °C, *Int. J. Food Microbiol.* 39 (1998) 155–166.
- [39] Pilet M.F., Dousset X., Barré R., Novel G., Desmazeaud M., Piard J.C., Evidence for two bacteriocins produced by *Carnobacterium piscicola* and *Carnobacterium divergens* isolated from fish and active against *Listeria monocytogenes*, *J. Food Prot.* 58 (1995) 256–262.
- [40] Quadri L.E., Sailer M., Roy K.L., Vederas J.C., Stiles M.E., Chemical and genetic characterization of bacteriocins produced by *Carnobacterium piscicola* LV17B, *J. Biol. Chem.* 269 (1994) 12204–12211.

- [41] Richard C., Brillet A., Pilet M.F., Prevost H., Drider D., Evidence on inhibition of *Listeria monocytogenes* by divercin V41 action, *Lett. Appl. Microbiol.* 36 (2003) 288–292.
- [42] Rorvik L.M., *Listeria monocytogenes* in the smoked salmon industry, *Int. J. Food Microbiol.* 62 (2000) 183–190.
- [43] Schillinger U., Stiles M.E., Holzappel H.W., Bacteriocin production by *Carnobacterium piscicola* LV 61, *Int. J. Food Microbiol.* 20 (1993) 131–147.
- [44] Stoffels G., Nissen-Meyer J., Gudmundsdottir A., Sletten K., Holo H., Nes I.F., Purification and characterization of a new bacteriocin isolated from a *Carnobacterium* sp., *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (1992) 1417–1422.
- [45] Szabo E.A., Cahill M.E., Nisin and ALTA 2341 inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* on smoked salmon packaged under vacuum or 100% CO₂, *Lett. Appl. Microbiol.* 28 (1999) 373–377.
- [46] Thurette J., Membre J.M., Ching L.H., Tailliez R., Cateau M., Behavior of *Listeria* spp. in smoked fish products affected by liquid smoke, NaCl concentration, and temperature, *J. Food Prot.* 61 (1998) 1475–1479.
- [47] Wessels S., Huss H.H., Suitability of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC11454 as a protective culture for lightly preserved fish products, *Food Microbiol.* 13 (1996) 323–332.
- [48] Worobo R.W., Henkel T., Sailer M., Roy K.L., Vederas J.C., Stiles M.E., Characteristics and genetic determinant of a hydrophobic peptide bacteriocin, carnobacteriocin A, produced by *Carnobacterium piscicola* LV17A, *Microbiology* 140 (1994) 517–526.
- [49] Worobo R.W., Van Belkum M.J., Sailer M., Roy K.L., Vederas J.C., Stiles M.E., A signal peptide secretion-dependent bacteriocin from *Carnobacterium divergens*, *J. Bacteriol.* 177 (1995) 3143–3149.