

1. Applications de la biopréservation via des cultures microbiennes dans la filière des produits de la mer

(B. Le Fur, D. Wacogne, S. Lorre, M.F. Pilet, F. Leroi)

1.1. La filière française des produits aquatiques en quelques chiffres

La production mondiale des produits de la pêche et de l'aquaculture a atteint, en 2009, 145 millions de tonnes (Mt) (FAO, 2010). Les captures mondiales (production halieutique) plafonnent à environ 90 Mt et la ressource est globalement surexploitée. L'aquaculture représente une part importante (environ 55 Mt) de la production mondiale de produits aquatiques, en croissance constante. La Chine est le principal pays producteur, avec environ 49 Mt, dont une majorité de produits issus de l'aquaculture.

En 2010, la production française était un peu supérieure à 700 000 tonnes (t) (soit, à peine plus de 0,5% de la production mondiale), avec 438 000 t de poissons, 233 000 t de coquillages, 16 000 t de crustacés et 18 000 t de céphalopodes (FranceAgriMer, 2011). La pêche représente environ 65% de cette production nationale, avec 300 000 t de pêche fraîche et 162 000 t de pêche congelée (dont une majorité de thon tropical destiné à l'industrie de la conserve). La production aquacole française est d'environ 245 000 t, sur lesquelles la conchyliculture représente environ 80%. La production piscicole est relativement faible : 42 000 t pour la pisciculture continentale (truite, carpe et autres poissons d'eau douce) et 8 000 t pour la pisciculture marine (bar, daurade et autres poissons marins), tonnages qui sont produits par quelque 5 000 entreprises d'aquaculture.

Les importations de produits aquatiques ont augmenté de plus de 35% ces 10 dernières années, pour atteindre 1,1 Mt en 2009 (FranceAgriMer, 2011). Les principales espèces concernées sont le saumon, la crevette et le thon. Les trois premiers pays fournisseurs de la France sont la Norvège, le Royaume-Uni et l'Espagne.

Dans leur grande majorité, les produits aquatiques débarqués ou importés sont préparés et/ou transformés dans des entreprises de mareyage et de transformation. Les espèces pêchées sur les côtes de l'hexagone sont principalement commercialisées à l'état frais, à travers les circuits de commercialisation du frais (mareyage, poissonneries, moyennes et grandes surfaces, marchés). Bien souvent, ces espèces ne peuvent être destinées à la transformation, notamment en raison de leur prix, trop élevé pour l'industrie. La question de leur diversité (plus de 80 espèces différentes sont débarquées sur le territoire français) et de leur disponibilité (irrégularité des approvisionnements et des coûts) intervient également. Les matières premières utilisées pour la transformation correspondent aux espèces les plus présentes sur le marché international, et donc en majorité importées : saumon, poisson blanc, crevettes et thon.

La France compte un peu plus de 300 entreprises de mareyage (4 700 emplois) et 300 entreprises de transformation (essentiellement des PME générant un chiffre d'affaires inférieur à 5 M€) : entreprises de première transformation (découpe, conditionnement, surgélation), fabricants de produits salés-séchés-fumés, fabricants de soupes et de produits en conserves, fabricants de charcuteries et d'autres produits traiteurs de la mer, fabricants de plats cuisinés, et ateliers de cuisson de crevettes.

La consommation de produits aquatiques est passée de 12 kg par personne en 1975, à 35,2 kg/personne en 2010 (en équivalent poids vif) (FranceAgriMer, 2011). Les sommes dépensées

(6,9 MMp) par les ménages français se répartissaient de la façon suivante : 34% de produits frais, 31% de produits traiteurs réfrigérés (dont 36% de produits salés-séchés-fumés, tels que le saumon fumé, la morue salée ou l'anchois salé, 19% de crevettes cuites, 15% de produits dérivés du surimi, et 30% d'autres produits, tels que les salades marines, les produits marinés et les produits tartinables), 22% de produits surgelés et 14% de conserves. En 2010, la consommation des produits aquatiques était tirée essentiellement par les produits frais, et en particulier par celle des produits aquatiques préemballés (conditionnés en barquettes sous atmosphère protectrice) et des produits traiteur réfrigérés, tels que la crevette cuite du jour, le saumon fumé ou les produits dérivés du surimi. On assiste également à une augmentation de la consommation de produits crus ou à base de poisson cru (carpaccios, sushis). Aux volumes de produits aquatiques achetés par les ménages français, il faut ajouter les achats de produits aquatiques par la restauration hors foyer (commerciale et collective), qui s'élèvent à environ 240 000 t pour un chiffre d'affaires d'environ 1,6 MMp.

1.2. Les spécificités des produits de la filière

La chair des poissons se différencie principalement de celle des animaux terrestres par l'organisation des fibres musculaires qui la constituent et par la nature de ses composants.

Le muscle de poisson a une structure métamérique peu commune dans les tissus de mammifères. Il est segmenté en myotomes emboîtés les uns dans les autres et délimités par des myoseptes (ou myocommes) de tissu conjonctif, et il ne présente généralement pas de tendons et d'aponévrose, comme c'est le cas de la viande (sauf dans le cas des thonidés). Chaque myotome est composé d'un grand nombre de fibres musculaires courtes. La chair de poisson est d'ordinaire plus molle que celle de la viande et est connue pour être facilement digestible.

La chair des poissons contient généralement de 66 à 80% d'eau, composante principale du filet, qui joue un rôle prépondérant dans la conservation du produit et son altérabilité. Elle se caractérise également par une teneur en matières grasses (essentiellement des phospholipides et des triglycérides) pouvant présenter une variabilité intra et inter-individuelle très importante (moins de 1% à plus de 25%, en fonction de l'espèce, de son alimentation ou des changements sexuels en rapport avec la ponte). Les matières grasses du poisson présentent une sensibilité particulière à l'oxydation, en raison d'une proportion plus importante d'acides gras insaturés. La chair de poisson contient également 15 à 22% de protéines de haute valeur biologique, dont la teneur globale est comparable à celle des produits carnés, ce qui fait de cette chair une source importante de protéines animales pour l'alimentation humaine. La chair de poisson contient davantage de protéines structurelles myofibrillaires que la viande (70 à 80%, contre 40% en moyenne) et moins de protéines du tissu conjonctif, comme le collagène (3 à 10%, contre environ 17% dans le muscle de viande). Les protéines sarcoplasmiques, qui représentent 20 à 30% des protéines, sont spécifiques des espèces et peuvent être utilisées pour leur identification.

L'intérêt nutritionnel de la chair de poisson n'est aujourd'hui plus à démontrer. Celui-ci repose principalement sur sa richesse en acides gras oméga 3 essentiels, et sur la diversité des vitamines (en particulier les vitamines B3, B12, D) et des minéraux (iode, phosphore) qu'elle apporte. Cependant, le poisson est une matrice particulièrement favorable au développement microbien. La chair contient 9 à 18% de composés azotés non protéiques de faible poids moléculaire, et donc rapidement métabolisables par les bactéries. Parmi ces composés, on retrouve des acides aminés libres, de la créatine, des nucléotides, de l'urée et de l'oxyde de triméthylamine (OTMA). L'OTMA est présent dans les espèces marines, alors qu'il est

pratiquement absent chez les poissons d'eau douce et les organismes terrestres. Par ailleurs, le pH *post-mortem* élevé de la chair (> 6) et la faible acidification au cours de la conservation, liée à la faible quantité d'hydrates de carbone (0,2 à 1,5% selon les espèces), favorisent également la croissance bactérienne.

1.3. Les flores pathogènes des produits aquatiques

Dix à vingt pour cent des épidémies alimentaires sont attribuées à la consommation de produits de la mer. Ce chiffre varie évidemment avec la qualité du plan de surveillance mis en place dans chaque pays, le niveau de consommation et les habitudes alimentaires. Le poisson est responsable de plus d'épidémies que les mollusques, avec un nombre de cas par épidémie toutefois moins important (Huss et al, 2000). Chez le poisson, la plupart des maladies sont d'origine bactérienne, alors que les virus sont généralement responsables de 50% des épidémies liées à la consommation de mollusques bivalves, qui se nourrissent par filtration (Lee et Rangdale, 2008). Tout comme les autres aliments, les produits de la mer peuvent être recontaminés au cours du procédé de transformation par des bactéries, telles que *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* ou *Escherichia coli* entéro-hémorragique. Certains de ces micro-organismes, notamment les salmonelles et les virus, peuvent aussi être présents dans les eaux côtières et les estuaires souillés par les activités humaines ou dans les bassins d'aquaculture, si la qualité de l'aliment n'est pas contrôlée.

Il existe cependant des bactéries pathogènes naturellement présentes dans le milieu marin et qui sont responsables de maladies plus spécifiques dues à la consommation des poissons, coquillages et crustacés. C'est le cas des bactéries productrices d'histamine, de certains *Vibrio*, de *L. monocytogenes*, de *Clostridium botulinum* et d'*Aeromonas hydrophila*. Normalement, ces bactéries sont présentes à un niveau trop faible pour causer la maladie. Par ailleurs, une cuisson appropriée permet de les éliminer ou d'éliminer leur toxine (à l'exception de l'histamine). Par conséquent, le risque porte essentiellement sur les produits dans lesquels la croissance de ces bactéries est possible pendant la période de conservation et qui sont consommés crus ou insuffisamment cuits.

1.3.1. Les bactéries productrices d'histamine

L'histamine est responsable de 30 à 40% des toxi-infections alimentaires liées à la consommation de produits de la pêche. Les intoxications histaminiques concernent les espèces riches en histidine, comme le thon (84% des cas recensés), l'espadon, le maquereau, la bonite, la sardine, le hareng ou l'anchois. Très rarement létale, cette intoxication est cependant grave et provoque très rapidement, après l'ingestion, des symptômes de type allergique (rougeurs, urticaire, maux de tête, diarrhées, vomissements) qui peuvent conduire à l'hospitalisation. L'histamine est produite, après la mort du poisson, par décarboxylation de l'histidine libre sous l'action d'une enzyme bactérienne (l'histidine décarboxylase) présente notamment chez les entérobactéries mésophiles, telles que *Morganella morganii*, *Hafnia alvei* ou *Raoultella planticola*. La teneur en histamine, qui est réglementée dans les produits de la mer riches en histidine (100 à 200 ppm en Europe et 200 à 400 ppm dans les produits ayant subi une maturation aux enzymes dans la saumure), conduit lorsqu'elle est dépassée, à un rejet systématique des lots, quel que soit le traitement ultérieur, car l'histamine est thermostable. Les seuls moyens de prévention sont l'application des bonnes conditions d'hygiène et un strict respect de la chaîne du froid. Cependant, des bactéries psychrotolérantes, comme *Photobacterium phosphoreum* et *Morganella psychrotolerans*

productrices d'histamine à 0-2°C, ont récemment été mises en évidence et incriminées dans des cas d'intoxication histaminique. Le développement de méthodes complémentaires permettant d'inhiber la formation d'histamine dans le poisson reste un enjeu important pour la filière aquatique. Dans les sauces ou pâtes à base de poisson, l'histamine peut atteindre des concentrations importantes et les bactéries productrices sont souvent des *Bacillus* (Tsai et al, 2006) et des bactéries lactiques, comme *Tetragenococcus halophilus* (Satomi et al, 2008), *Enterococcus faecium* ou *Lactobacillus* spp. (Dapkevicius et al, 2000).

1.3.2. *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes est un pathogène majeur dans les produits de la mer légèrement préservés et consommés crus, comme le carpaccio, les poissons fumés ou légèrement marinés, ou les crevettes cuites emballées sous atmosphère protectrice. La prévalence de *L. monocytogenes* dans ce type de produits est élevée : à titre d'exemple, celle-ci est de 0 à 24% des lots de saumon fumé analysés en France sur la période 2001-2002, dont 18% des cas dépassent la limite de 100 UFC/g (Beaufort et al, 2007). *L. monocytogenes* n'est pas détruit lors des différentes étapes du procédé de transformation, et sa croissance est possible dans la plupart des produits cités. Malgré ces chiffres, assez peu de cas de listériose liés à la consommation de produits de la mer ont été recensés (dix cas avec des crevettes, cinq avec des truites fumées, neuf avec des truites marinées, six avec des moules fumées, deux avec une imitation de chair de crabe, et un avec du poisson) (Rocourt et al, 2000 ; Warriner et Namvar, 2009). Cependant, *L. monocytogenes* reste un pathogène sous haute surveillance dans les produits de la mer, comme dans toutes les denrées alimentaire prêtes à consommer.

1.3.3. *Vibrio* spp.

Le genre *Vibrio* comprend une multitude d'espèces, dont les principales espèces pathogènes sont *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* et *Vibrio cholerae*. Ces bactéries mésophiles et halophiles (exceptée *V. cholerae*) sont présentes dans les eaux tropicales et les eaux tempérées à la fin de l'été. Leur croissance est extrêmement rapide si les produits sont conservés à des températures supérieures à 8°C. La dose infectieuse est de l'ordre de 10⁶ UFC/g. Moins de 5% des souches de *V. parahaemolyticus* sont pathogènes, par production d'hémolysine, alors que la plupart des souches de *V. vulnificus* entraînent des septicémies, mortelles dans 50% des cas. Certaines souches de *V. cholerae* des sérotypes O1 et O139 sont responsables du choléra ; dans ce cas, même si la contamination primaire est liée à l'ingestion de produits contaminés, l'épidémie peut se propager rapidement par les excréments. Au Pérou en 1991, 400 000 cas de choléra ont été recensés, dont 4 000 mortels, dus à la consommation de poissons marinés (Ceviche). Les crevettes tropicales sont également parfois incriminées, notamment s'il y a eu rupture de la chaîne du froid. Enfin, 50% des maladies liées à la consommation de bivalves filtreurs sont dues à des *Vibrio* spp. (Wittman et Flick, 1995).

1.3.4. *Clostridium botulinum*

C. botulinum peut être présent dans les sédiments marins et contaminer les animaux. Ce sont souvent les *Clostridium* non protéolytiques, psychrotolérants de type B, E et F, qui sont retrouvés et qui contaminent plus spécifiquement les animaux des mers froides ou tempérées. *C. botulinum* est un anaérobie strict, maintenant bien contrôlé dans les produits de la mer appertisés. La plupart des cas de botulismes recensés sont liés à des produits légèrement

transformés (fumés, salés, fermentés), de fabrication artisanale et conservés dans de mauvaises conditions. Une conservation à 5°C, associée à un taux de sel de 3-5% en phase aqueuse, permet d'empêcher la croissance, et donc la production de toxine. Dans les cas de produits moins salés, il est conseillé de commercialiser les produits sous forme congelée ou de ne pas les conserver en anaérobiose (utilisation de films perméables à l'oxygène ou addition d'O₂, en cas de conservation sous atmosphère protectrice).

1.4. Les principales flores d'altération des produits aquatiques

La peau, la carapace, le mucus, les branchies et le tractus gastro-intestinal des animaux marins renferment une flore microbienne importante, dont la composition varie avec l'espèce, mais aussi avec les paramètres environnementaux comme la qualité de l'eau, la température, la salinité, la profondeur, etc. De façon générale, on peut dire que le microbiote des poissons d'eaux tempérées est composé de bactéries à Gram négatif, psychrotolérantes appartenant principalement aux genres *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Moraxella*, *Psychrobacter* et *Photobacterium*, et dans une moindre mesure au groupe *Cytophaga-Flavobacter-Bacteroides* (Cahill, 1990 ; Huber et al, 2004 ; Wilson et al, 2008). Cependant, des bactéries à Gram positif, comme *Micrococcus*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Clostridium* ou les Corynéformes, peuvent également être présentes, dans des proportions variables. Chez les poissons tropicaux, la flore a globalement la même composition, mais avec une proportion plus importante de bactéries à Gram positif (*Micrococcus*, *Bacillus*, Corynéformes) et d'entérobactéries (Devaraju et Setty, 1985 ; Huss, 1999 ; Liston, 1992). Le tractus gastro-intestinal renferme souvent des bactéries fermentatives (*Vibrio*, *Acinetobacter*, *Enterobacteriaceae*) qui bénéficient d'un faible pH, du manque d'oxygène et de l'abondance de nutriments. Des staphylocoques et des bactéries lactiques sont également très souvent retrouvés.

Dans la plupart des produits de la mer, le rejet organoleptique arrive bien après que la flore totale ait atteint son maximum. Si une flore variée est présente sur le poisson, seules les bactéries spécifiques d'altération participent réellement à la production de mauvaises odeurs et saveurs. Dans le cas des poissons non transformés, les modifications chimiques qui conduisent au rejet sensoriel, sont en général dues à une seule espèce bactérienne (Hozbor et al, 2006). Dans les produits transformés, en revanche, les mécanismes sont plus complexes, car plusieurs groupes microbiens interagissent entre eux et peuvent contribuer à la dégradation du produit (Joffraud et al, 2006 ; Stohr et al, 2001).

1.4.1. Flore d'altération des produits frais

Les bactéries d'altération des poissons et des crustacés des mers froides ou tempérées sont généralement des *Shewanella putrefaciens* ou des *Shewanella baltica*. Ces bactéries sont capables de pratiquer la respiration anaérobie et d'utiliser l'OTMA comme accepteur final d'électron, lequel est réduit en triméthylamine (TMA) très malodorante. Les *Shewanella* produisent également de l'H₂S. *Shewanella* spp. est typiquement retrouvée sur les espèces riches en OTMA et dont le pH est supérieur à 6, comme les poissons à chair blanche, les poissons démersaux et les crustacés. Dans les poissons marins pauvres en OTMA et dont le pH est inférieur à 6, comme les pélagiques à chair foncée (thon, maquereau, orphie), l'altération est plutôt liée à des *Pseudomonas* (*Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas lundensis*) qui ne produisent, ni TMA, ni H₂S mais plutôt de l'ammoniac, des esters d'acides gras, des cétones et des aldéhydes, responsables d'odeurs fruitées ou pourries.

La conservation sous vide empêche le développement des *Pseudomonas* spp., qui sont uniquement capables de respiration aérobie. En conséquence, les produits sous vide sont surtout altérés par *Shewanella* spp. Par contre, lorsque le poisson est stocké sous atmosphère protectrice (CO₂/N₂), *P. phosphoreum* devient le principal germe d'altération. Comme *S. putrefaciens*, il est capable de réduire l'OTMA en TMA et de produire de l'H₂S, mais il devient dominant, car il est plus résistant au CO₂. Pour les poissons qui contiennent peu d'OTMA ou pour certains poissons tropicaux, les bactéries lactiques et *Brochothrix thermosphacta* peuvent également se développer et altérer le produit, avec des odeurs/saveurs acides, aigres, d'œuf pourri ou de beurre. *Carnobacterium maltaromaticum* a, par exemple, été clairement identifié comme altérant majeur du saumon frais emballé sous CO₂/N₂ (Macé et al, 2012).

La mesure de l'azote basique volatil total (ABVT), qui comprend, entre autres, la TMA et l'ammoniac, est un critère d'altération réglementé en Europe, dont le taux ne doit pas dépasser 25 à 35 mg-N / 100 g de chair pour certaines espèces de poissons.

1.4.2. Flore d'altération des produits de la mer légèrement préservés

Les produits de la mer semi-préservés sont des produits ayant subi un traitement de transformation très léger, comme le salage, le séchage, le fumage ou le marinage, qui aboutit à un pH final supérieur à 5, et un taux de sel inférieur à 6% en phase aqueuse (saumon fumé, carpaccio, gravelax, filet d'anchois marinés, produits cuits et conservés en saumure ou emballés sous atmosphère protectrice, comme les crevettes décortiquées, etc.). La flore initiale de ces produits est souvent dominée par des bactéries à Gram négatif typiques de la flore du poisson frais, comme *Shewanella* spp., *Photobacterium* spp., *Serratia* spp., *Yersinia* spp. et *Vibrio* spp. (Leroi et al, 1998 ; Olofsson et al, 2007). Au cours de la conservation sous vide ou sous atmosphère protectrice, les bactéries à Gram positif deviennent majoritaires, avec une prédominance notable des bactéries lactiques, et particulièrement de *C. maltaromaticum* et *Lactobacillus curvatus* ou *Lactobacillus sakei*. D'autres espèces, telles que *Carnobacterium divergens*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus homohiochii*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus coryniformis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Enterococcus faecalis*, *Weissella kandleri*, *Vagococcus fluvialis* ou *Vagococcus penaei*, sont plus rarement isolées. Selon les produits et les usines, le nombre d'entérobactéries (*Serratia liquefaciens*, *H. alvei*), de *P. phosphoreum* et de *B. thermosphacta*, est également assez élevé (Gonzales-Fandos et al, 2004 ; Jaffrès et al, 2009, 2010 ; Jorgensen, 2000 ; Rachman et al, 2004 ; Truelstrup et al, 1998).

Parmi toutes ces espèces, certaines bactéries lactiques, notamment *C. maltaromaticum*, *L. sakei* et *L. farciminis*, ainsi que *B. thermosphacta* et *S. liquefaciens*, sont les principales bactéries altérantes, avec des odeurs fromage/aigre, de H₂S, de beurre ou de chou/amine, respectivement. Il faut cependant noter que toutes les souches d'une même espèce ne sont pas forcément altérantes. Les composés volatils les plus souvent retrouvés sont le 2,3-butanedione, le 2,3-pentanedione, le 2,3-heptanedione, le 2-heptanone, l'hexanone, le diméthyl disulfure, le TMA, le 2-pentanol, le 3-méthyl-1-butanol et le 2-méthyl-1-butanol (Jaffrès et al, 2011 ; Joffraud et al, 2001).

1.5. Les applications de la biopréservation dans la filière

1.5.1. Le poisson et les coquillages non transformés

Augmentation de la durée de vie du poisson frais

La biopréservation du poisson a fait l'objet de nombreux travaux scientifiques. Ces travaux portent essentiellement sur le poisson transformé, et plus particulièrement sur le saumon fumé. Il existe peu de publications sur l'application de la biopréservation au poisson non transformé.

Dans la plupart des études réalisées, ce sont principalement des bactéries lactiques et leurs métabolites qui ont été mis en œuvre, dans l'objectif de prolonger la durée de conservation du poisson non transformé. La prolongation de la durée de vie des produits est appréciée par la mise en œuvre d'analyses microbiologiques et/ou par évaluation sensorielle. Le dosage d'ABVT est également parfois réalisé pour confirmer les résultats, lorsque l'analyse sensorielle révèle un doute sur la fraîcheur du poisson.

Les premiers travaux recensés ont été réalisés sur de la pulpe de poisson conservée sept semaines à 10°C (Gelman et al, 2001). Parmi 23 souches de bactéries lactiques isolées de harengs, trois souches (*L. plantarum*, *Lactobacillus pentosus* et *L. mesenteroides*) ont été sélectionnées pour évaluer leur potentiel en tant que bactéries bioprotectrices. Les résultats d'analyses microbiologiques ont mis en évidence une inhibition significative de la flore d'altération pour les échantillons de pulpe de poissonensemencés avec les souches de *L. plantarum* et *L. mesenteroides*, alors que les résultats des analyses chimiques et des tests organoleptiques étaient plus satisfaisants avec la souche de *L. mesenteroides*.

Une étude similaire a été menée sur du bar (*Dicentrarchus labrax*)ensemencé avec deux bactéries lactiques (*L. plantarum* et *L. pentosus*) isolées de produits de la mer (El Bassi et al, 2009). Les travaux ont permis de démontrer l'efficacité de ces souches sur l'inhibition de la croissance des bactéries psychrotrophes, des bactéries pathogènes, ainsi que des coliformes totaux. L'activité inhibitrice de *L. plantarum* serait due aux bactériocines qu'il produit, et celle de *L. pentosus* à la production d'acides organiques. Une réduction des valeurs d'ABVT et de TMA a également été observée.

L'efficacité d'une souche de *Streptococcus phocae* sur l'amélioration de la durée de conservation des sardines (*Sardinella longiceps*) et des crevettes (*Penaeus monodon*) a aussi été étudiée (Alagesan et al, 2011). Une nette réduction de *L. monocytogenes*, de *V. parahemolyticus* et des coliformes a été observée dans les échantillons biopréservés, en comparaison aux échantillons témoins ou naturellement contaminés. Pendant la conservation, les auteurs ont également constaté une réduction significative de l'ABVT

Des essais d'amélioration de la durée de conservation de deux lots de filets de saumon frais conditionnés sous atmosphère protectrice, ont été effectués en utilisant deux souches de *Lactococcus piscium* et de *Leuconostoc gelidum* isolées par Matamoros et al (2009a), ainsi qu'un ferment commercial (ferment LLO, Biocéane, Cf 7.5.1.2). Les meilleurs résultats ont été obtenus avec la souche *L. gelidum* EU2247 et le ferment LLO, qui permettent de conserver les caractéristiques d'un produit frais (note sensorielle globale de 1/10) après 9 jours à 2°C et 8°C, alors que les échantillons témoins étaient fortement altérés à cette date (note globale de 8/10) (Brillet et al, 2011).

D'autres auteurs ont étudié l'efficacité combinée de la biopréservation avec un autre traitement. Par exemple, des filets de plie ont été inoculés avec une souche de *Bifidobacterium bifidum* et/ou traités avec du thymol puis conservés à des températures de 4 et 12°C (Altieri et al, 2005). Trois conditionnements ont été testés : sous glace, sous vide et

sous atmosphère protectrice. Les résultats ont mis en évidence un réel effet de synergie entre la souche de *B. bifidum* et le thymol. De même, l'inoculation de cette même souche, combinée à une faible température de conservation et un environnement pauvre en oxygène, a permis d'inhiber la croissance des bactéries.

Dans certains cas, les travaux ont porté sur l'étude de l'efficacité des métabolites produits par les bactéries lactiques sur la croissance bactérienne. Une bactériocine, produite dans le surnageant de culture par *L. plantarum* LPBM10, a été pulvérisée sur des filets de pacus (*Piaractus brachypomus* et *Colossoma macropomum*) (Suarez et al, 2008). Les échantillons ont été conditionnés sous vide et stockés 30 jours à 3°C. Aucune inhibition de la flore mésophile n'a été constatée, une diminution de 1,2 log ayant été observée pour la flore psychrophile. Les résultats ont montré un effet bactériostatique sur la croissance des coliformes totaux. Les dosages d'ABVT et les analyses sensorielles ont révélé de meilleurs résultats pour les échantillons inoculés avec la bactériocine.

L'efficacité des métabolites produits par *L. casei* DSM 120011 et *Lactobacillus acidophilus* 1 M, a également été évaluée sur des filets de tilapia conservés à -18°C pendant 90 jours (Ibrahim et Desouky, 2009). Les surnageants de culture de ces deux souches, filtrés puis autoclavés, ont été incorporés dans l'eau de glazage (eau distillée froide) à une concentration de l'ordre de 2% (volume/volume). L'efficacité des métabolites produits par la souche de *L. casei* a été démontrée sur la croissance de *S. aureus*, d'*E. coli* et de levures, alors que les surnageants de culture de *L. acidophilus* étaient plus efficaces sur le développement des moisissures. L'inhibition de la croissance bactérienne, et en particulier des coliformes, était nettement plus marquée lorsque les métabolites des deux souches avaient été ajoutés simultanément.

Par ailleurs, d'autres produits antimicrobiens disponibles dans le commerce ont été testés. Ils sont composés, soit de nisine, soit de lysozyme, de δ -polylysine ou de chitosan (Takahashi et al, 2011). Des échantillons de thon cru haché, ainsi que d'ufs de saumon, ont été inoculés avec *L. monocytogenes*, puis traités et incubés avec chacun de ces produits, soit 7 jours à 10°C, soit 12 heures à 25°C. La nisapline (composée de nisine), utilisée à une concentration de 500 ppm pour le thon, et de 250 ppm pour les ufs de saumon, exerce un effet inhibiteur sur la croissance de *Listeria*. L'efficacité des autres produits n'a été démontrée qu'à partir de concentrations plus élevées : 2 000 ppm pour le produit composé de lysozyme et celui composé de δ -polylysine, et 10 000 ppm pour celui qui était composé de chitosan.

Inhibition de la formation d'histamine dans le thon frais

A ce jour, la société française Biocéane (Nantes, France) est l'initiatrice des travaux concernant l'inhibition de la formation d'histamine dans le thon, via la biopréservation (Gallois, 2009). Aucune autre étude publiée n'a été menée sur cette problématique. La bactérie utilisée est une bactérie lactique (*Lactococcus lactis*) extraite du merlan. Elle est vendue sous la dénomination commerciale de « ferment LLO ».

La société Biocéane a réalisé cette étude sur deux ans. Le procédé de biopréservation a été appliqué sur des longes de thon albacore importées d'Equateur. Le traitement par pulvérisation du ferment a eu lieu au moment du débarquement du thon. Les poissons ont été découpés en deux longes : une longe témoin, directement conditionnée sous vide, et une longe essai préalablementensemencée avec le ferment, avant d'être conditionnée comme la longe témoin. Les longes de thon ont ensuite été expédiées, à l'état réfrigéré, au laboratoire de la société Biocéane. La formation d'histamine a été générée de manière naturelle. Le dosage d'histamine a été effectué à réception des longes, soit 4 jours après leur conditionnement, puis

après 10 jours de conservation à 5°C. Les résultats ont montré que les longes de thon traitées avec les ferments lactiques avaient un taux d'histamine jusqu'à 100 fois inférieur à celui des longes non traitées (Tableau 7.1). Lorsque le thon était non traité, le taux d'histamine à réception des longes était de l'ordre de 10 à 100 ppm. Après 10 jours de stockage, la moitié des longes non traitées atteignait le seuil de 100 ppm, et 30% des échantillons l'avaient dépassé. Les teneurs en histamine sur les longes biopréservées étaient inférieures à 10 ppm, à réception, pour plus de la moitié des échantillons. Les valeurs les plus élevées étaient de 50 ppm. Après 10 jours de stockage, 90% des longes biopréservées respectaient encore la norme. L'effet du ferment LLO n'est pas encore bien connu. Il pourrait être dû à une inhibition de la croissance des principaux germes responsables de la transformation de l'histidine en histamine. Bien que ces travaux aient surtout porté sur du thon d'Équateur, quelques tests prometteurs ont également été réalisés sur des longes de thon provenant d'Indonésie. Des essais réalisés sur du thon germon de Tahiti ont également renforcé l'intérêt de la biopréservation pour limiter le développement d'histamine.

TABLEAU 7.1 : "Moins d'histamine grâce à un ferment". D'après Gallois (2009).

Inhibition de Vibrio parahaemolyticus dans les coquillages

Xi (2012) a testé l'application de probiotiques pour prévenir la contamination par *V. parahaemolyticus* des huîtres creuses (*Crassostrea gigas*). *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 présente de forts effets bactéricides contre *V. parahaemolyticus*, principalement en raison de sa production d'acides organiques. Lorsque cette souche est introduite dans l'eau de mer à une concentration initiale de 10^6 UFC/g, la concentration en bactéries lactiques dans les huîtres passe de 10^2 à 10^5 UFC/g en 20 h à température ambiante. Cependant, le niveau diminue au cours de l'épuration des coquillages, pour se stabiliser à 10^3 UFC environ. *L. plantarum* a alors été ajouté dans l'eau de mer servant à l'épuration des coquillages, à une concentration de 10^7 UFC/ml. Les huîtres avaient préalablement été contaminées par *V. parahaemolyticus* à 10^4 NPP/g. Les essais de dépuración à 15°C n'ont pas été concluants mais à 10°C, le probiotique a réduit significativement le niveau de *V. parahaemolyticus* par rapport au témoin, après 5 jours, sans qu'aucune mortalité des huîtres ne soit observée.

1.5.2. La saurisserie ó traiteur de la mer

Poissons salés, fumés, sauces et pâtes de poisson

La DLC des produits de la mer légèrement préservés varie, selon les produits, de 10 jours à 6 semaines. Dans ce domaine l'essentiel des travaux concernent la maîtrise de *L. monocytogenes* par biopréservation et ont été réalisés sur le saumon fumé. Les produits de la mer prêts à consommer, et en particulier les poissons, fumés sont en effet, avec les produits carnés, ceux dans lesquels la présence de *L. monocytogenes* est le plus souvent détectée dans l'UE (7% de produits positifs en 2009, près de 10% en 2008), et ceux où le taux de 100 UFC/g est le plus fréquemment dépassé (EFSA, 2011). La maîtrise du danger *L. monocytogenes* dans le produit fini est particulièrement délicate, puisque la teneur en sel (environ 3%), et en phénol (< 1mg/100g) de ces produits ne suffit pas toujours à limiter la croissance de cette bactérie si les conditions de températures ne sont pas rigoureusement maintenues à 4°C (Cornu et al, 2006), et compte tenu de leur longue durée de conservation (4 à 6 semaines). Par ailleurs, le conditionnement sous vide des produits salés et fumés conduit à

un environnement favorable pour l'implantation de bactéries lactiques, qui constituent la flore majoritaire de ces denrées en fin de stockage (Leroi, 2010). L'utilisation de la biopréservation dans ces produits pourrait permettre d'apporter une barrière supplémentaire durable permettant de maintenir, en cas de contamination par *L. monocytogenes*, un niveau de population acceptable.

Parmi les bactéries lactiques testées pour ces activités dans le saumon fumé (Tableau 7.2), celles appartenant au genre *Carnobacterium* occupent largement le devant de la scène. Plusieurs souches des espèces *C. maltaromaticum* et *C. divergens*, majoritairement productrices de bactériocines, ont été testées avec succès pour limiter le développement de *L. monocytogenes* dans le saumon fumé (Nilsson et al, 99, 2004 ; Brillet et al, 2004 ; Yamazaki et al, 2003 ; Tahiri et al, 2009). Leur intérêt réside dans le fait qu'elles appartiennent à la flore majoritaire du saumon fumé en fin de stockage, qu'elles ont une bonne capacité de croissance à basse température et qu'elles sont souvent sans effet majeur sur l'altération du produit, bien que cette dernière caractéristique soit souche dépendante (Brillet et al, 2005 ; Laursen et al, 2005 ; Leisner et al, 2007). Les autres espèces testées sur le saumon fumé appartiennent aux genres *Lactobacillus* et *Enterococcus* (Katla et al, 2001 Weiss et Hammes 2006 ; Vescovo et al, 2006 ; Tomé et al, 2008), mais certaines n'ont été testées que sur *Listeria innocua*.

TABLEAU 7.2 : Principales espèces utilisées pour maîtriser la croissance de *L. monocytogenes* ou de *L. innocua* (*) dans le saumon fumé.

Dans ces différentes études, les effets ont été mis en évidence par la réalisation de challenge-tests avec des niveaux d'inoculation de la bactérie pathogène de 10^2 à 10^4 UFC/g, et des bactéries protectrices de 10^3 à 10^7 UFC/g. Les flores protectrices sélectionnées permettent généralement de maintenir le niveau de *L. monocytogenes* à son taux initial ou de limiter sa croissance de 1,5 à 4 log UFC/g, selon les études, par rapport au témoin. Cet effet se prolonge généralement pendant toute la durée de conservation du produit, qui peut atteindre 21 à 32 jours à température réfrigérée. Ainsi Brillet et al (2005) ont réussi à maintenir un niveau de *L. monocytogenes* inférieur à 100 UFC/g pendant 28 jours de stockage à 4 et 8°C, en la co-inoculant avec la souche *C. divergens* V41 à 10^5 UFC/g. De la même façon, la souche de *C. maltaromaticum* JCM5348 non productrice de bactériocine a permis de maintenir la bactérie pathogène à son niveau d'inoculation (10^3 UFC/g dans l'étude) pendant 24 jours de conservation à 4°C (Yamazaki et al, 2003).

Cependant, dans la plupart de ces études, l'effet des bactéries lactiques sur les caractéristiques organoleptiques des produits n'a pas été vérifié. Or, il s'agit d'un critère particulièrement critique pour des applications dans des produits très sensibles aux altérations d'origine bactérienne. Dans ce domaine, des travaux complets, mettant en œuvre des analyses sensorielles et des dosages physico-chimiques, ont été effectués sur le saumon fumé pour des souches de *Carnobacterium* à effet anti-*Listeria* (Brillet et al, 2005), et pour des souches psychrotrophes de *L. gelidum* et *L. piscium* (Matamoros et al, 2009b). Dans ces mêmes études, les caractéristiques de sécurité des souches (production de métabolites indésirables comme les amines biogènes, résistance aux antibiotiques) ont également été testées.

La plupart des bactéries lactiques mises en œuvre dans ces études produisent une ou plusieurs bactériocines. Il s'agit essentiellement de bactériocines de classe Ia, comme la piscicoline 126, les carnobactériocines BM1 et B2, la divercine V41, la divergicine M35, l'entéroccine B, la pédiocine PA-1 et la sakacine P (Yamazaki et al, 2005 ; Nilsson et al, 1999, 2004 ; Métivier et al, 1998 ; Tahiri et al, 2004 ; Katla et al, 2001). Certains de ces composés ont été testés

seuls ou en combinaison avec des bactéries protectrices, afin de maîtriser la croissance de *L. monocytogenes* dans des produits fumés ou des produits traiteurs. Dans le cas des carnobactériocines, l'utilisation de surnageants filtrés ou de peptides semi-purifiés vis-à-vis de *L. monocytogenes* sur le saumon fumé, montre un effet bactériostatique rapide pendant les premiers jours du stockage, qui tend néanmoins à disparaître au cours du temps, contrairement à ce qui est observé en utilisant les cultures (Duffes et al, 1999 ; Nilsson et al, 1999 ; Tahiri et al, 2009). À l'inverse, la sakacine P pré-purifiée s'est montrée à la fois plus rapide et plus efficace pour maîtriser *L. monocytogenes* pendant toute la durée du stockage que la bactérie productrice (Katla et al, 2001).

La nisine a également été testée pour son activité anti-*Listeria* dans des produits de la mer transformés. Dans une approche consistant à immobiliser de la nisine avec ou sans bactéries lactiques dans un film d'alginate déposé sur des tranches de saumon fumé, Concha-Meyer et al (2011) ont observé une efficacité bactériostatique plus stable dans le temps lorsque les bactéries lactiques sont présentes, qu'elles soient combinées ou non à la nisine.

Des préparations de bactériocines « commerciales », comme la nisine et la pédiocine ACCEL, ont également été testées sur des filets de poisson cuit, mais ces composés ne permettaient pas une maîtrise satisfaisante de la bactérie pathogène (Nilsson et al, 1997 ; Yin et al, 2007).

Enfin l'application de préparations de phages à large spectre d'hôte semble se montrer moins efficace pour empêcher la croissance de *L. monocytogenes* dans le saumon fumé. L'efficacité du LISTEX P100TM anti-*Listeria* a été montrée dans du saumon fumé en tranches (Denis et al, 2011), avec des réductions de 1,6 à 2,7 log. Une réduction de 2 log a également été observée dans des salades de la mer, mais cet effet est variable selon les souches de *L. monocytogenes* utilisées (Guenther et al, 2009). Dans les produits transformés, la maîtrise de la formation d'histamine a fait l'objet de peu de travaux, bien que des concentrations élevées en histamine puissent être retrouvées sur du thon fumé (Emborg et Dalgaard, 2006), du saumon fumé (Brillet et al, 2005), dans des poissons séchés (Kanki et al, 2004 ; Huang et al, 2010) ou dans des sauces et pâtes à base de poisson (Tsai et al, 2006). Les études de biopréservation se sont surtout concentrées sur les bactéries capables de dégrader l'histamine par production d'amine-oxydases. Ainsi, une souche de *Staphylococcus xylosum* ensemencée dans des préparations d'anchois salés et fermentés, est capable de dégrader 38% de l'histamine produite dans des anchois fermentés (Mah et Hwang, 2009). Dans ce même type de produits, une souche de *Halobacterium salinarum* s'est également révélée efficace pour empêcher l'accumulation d'histamine survenant pendant les premières semaines de maturation (Aponte et al, 2010). Dans des sauces à base de poisson, un mélange de *L. plantarum*, *L. casei*, *Pediococcus pentosaceus* et *S. xylosum*, a permis de diminuer de 90% la quantité d'histamine produite (Yongjinet al, 2007). De la même façon, des souches de *Staphylococcus carnosus* et de *Bacillus amyloliquefaciens* ont permis de réduire le taux d'histamine, respectivement de 27,7% et 15,4%, dans des sauces fermentées à base d'anchois (Zaman et al, 2011).

Dans le domaine de l'application de la biopréservation pour améliorer les qualités sensorielles des produits salés et fumés, les études restent limitées dans la mesure où les barrières, déjà mises en œuvre dans la conservation des produits salés, fumés ou marinés, permettent d'obtenir des durées de conservation dépassant deux semaines. Comme pour les produits de la mer frais, l'effet de la biopréservation pour limiter l'altération s'apprécie essentiellement par des tests sensoriels, en l'absence d'indicateurs bactériologiques ou physicochimiques pertinents. En testant des bactéries lactiques inhibitrices psychrotrophes, Matamoros et al (2009b) ont constaté que du saumon fumé ensemencé avec des souches de *L. piscium* garde les caractéristiques sensorielles du produit initial après 4 semaines de stockage, alors que le

produit non ensemencé est jugé fortement altéré. Cet effet n'a cependant pas pu être attribué à l'inhibition de flores microbiennes d'altération spécifiques.

Des essais de préservation de pâte de poisson, effectués avec des bactériocines (entérocoques), ont permis de réduire de 2 log la flore totale des échantillons au cours de la conservation ; toutefois, l'effet était moins important qu'en utilisant des conservateurs classiques, comme le benzoate de sodium et le sorbate de potassium (Dicks et al, 2006).

Crustacés

Les travaux ont été surtout focalisés sur la crevette cuite décortiquée, du fait de son importance économique grandissante. L'utilisation du « guide des bonnes pratiques d'hygiène », créé par l'Association des Cuiseurs de Crevettes et Crustacés (A3C), et l'application des principes H.A.C.C.P à la cuisson des crustacés, ont contribué à améliorer la qualité microbiologique de ces produits. Malgré tout, les traitements technologiques utilisés pour la fabrication des crevettes tropicales cuites décortiquées ne sont pas suffisants pour garantir une absence totale de micro-organismes en sortie d'usine. La combinaison de la réfrigération, du conditionnement sous atmosphère protectrice (50% N₂ ó 50% CO₂) et de l'utilisation de conservateurs, permet une durée de vie des produits de l'ordre de 10 jours. Les acides organiques, malgré leur efficacité, notamment pour limiter la croissance de *L. monocytogenes* (Mejlholm et al, 2008), restent toujours mal perçus par les consommateurs, car ils font partie des additifs et sont mentionnés dans l'étiquetage avec la nomenclature "E". Dans ce contexte, la biopréservation est une solution alternative prometteuse.

Comme dans les produits salés et fumés, les principales bactéries pathogènes sont principalement issues de recontaminations en usine, au cours du procédé de transformation. *L. monocytogenes* reste le danger majeur à maîtriser dans ces produits, du fait de leur durée de vie supérieure à 5 jours. L'utilisation de bactéries lactiques psychrotrophes des espèces *L. piscium* et *L. gelidum* permet de ralentir la croissance de *L. monocytogenes* dans les crevettes cuites décortiquées et de diminuer la concentration finale de 2 à 4 log, par rapport au témoin non biopréservé (Matamoros et al, 2009b, Fall et al, 2010a). Une inhibition de 2 log a également été notée sur *S. aureus* (Matamoros et al, 2009b).

Concernant la maîtrise de l'altération, des essais de biopréservation de crevettes crues entières ou décortiquées ont été effectués avec une souche de *Bifidobacterium breve* combinée ó ou non ó à du sorbate de potassium ou de l'acétate de sodium. Cependant, dans ce cas, l'utilisation de la flore protectrice n'a pas montré d'efficacité supérieure à celle des conservateurs utilisés seuls (Al-Dagal et Bazaraa, 1999). En revanche, en utilisant des souches de bactéries lactiques psychrotrophes appartenant aux espèces *L. piscium* et *L. gelidum*, Matamoros et al (2009b) ont nettement retardé l'altération sensorielle de deux lots de crevettes cuites décortiquées (*Penaeus vanamei*), qui ont conservé toute leur fraîcheur après 28 jours de stockage à 8°C. Cet effet n'a pu être mis en relation avec l'inhibition des indicateurs microbiologiques mesurés (flore totale psychrotrophe, bactéries lactiques, entérobactéries). Par la suite, Fall et al (2010b) ont montré que cette amélioration des qualités sensorielles pouvait être liée à l'inhibition spécifique de *B. thermosphacta*. Quant au mécanisme mis en jeu dans cette inhibition, il ne fait pas intervenir de bactériocine, ni la production d'acide lactique (Fall et al, 2010b, 2012).

Des bactériocines purifiées ou semi-purifiées ont également été testées sur des crevettes dans un but d'amélioration de la qualité sensorielle. La nisine et du surnageant contenant de la bavaricine A ont permis d'augmenter la durée de conservation des crevettes respectivement de 14 et 6 jours, par rapport au témoin non traité, en limitant principalement la croissance des

bactéries lactiques (Einarsson et Lauzon 1995).

Une application industrielle de la biopréservation a été initiée en 2002 avec le ferment LLO. Ce ferment a fait l'objet d'un brevet (Daniel et Lorre, 2001) et est actuellement utilisé pour améliorer la conservation de crevettes cuites décortiquées conditionnées sous atmosphère protectrice (Meyer, 2005) et de coquilles St-Jacques, évitant ainsi l'utilisation de conservateurs.

1.6. Conclusion

Les études portant sur la biopréservation des produits de la mer, relativement récentes, se sont intensifiées dans les années 90, avec l'essor de la production de produits légèrement préservés prêts à consommer et la découverte de l'importance du groupe des bactéries lactiques dans ces produits. Malgré des études prometteuses sur les possibilités d'utiliser des bactéries lactiques pour empêcher le développement de pathogènes et augmenter les DLC, l'application industrielle de ces procédés reste peu développée. Les souches les plus intéressantes appartiennent à des espèces pour lesquelles il n'y a pas d'utilisation traditionnelle, et leur acceptabilité nécessite encore d'apporter certaines preuves de leur innocuité. A ce jour, il existe au moins deux producteurs de ferments, basés en France et en Italie, qui commercialisent des souches spécifiquement pour les produits de la mer.

Références bibliographiques

- AL DAGAL M. M., BAZARAA W. A. 1999. Extension of shelf life of whole and peeled shrimp with organic acid salts and Bifidobacteria. *Journal of Food Protection*, 62, 51-56.
- ALAGESAN P., KANMANI P., SATISHKUMAR R., YUVARAJ N., PATTUKUMAR V., PONNI S., ARUL V. 2011. Biopreservation of *Sardinellalongiceps* and *Penaeusmonodon* using protective culture *Streptococcusphocae* PI 80 isolated from marine shrimp *Penaeus indicus*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 3, 103-111.
- ALTIERI C., SPERANZA B., DEL NOBILE M.A., SINIGAGLIA M. 2005. Suitability of bifidobacteria and thymol as biopreservatives in extending the shelf life of fresh packed plaice fillets. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 294-302.
- APONTE M., BLAIOTTA G., FRANCESCA N., MOSCHETTI G. 2010. Could halophilic archaea improve the traditional salted anchovies (*Engraulisencrasicholus* L.) safety and quality? *Letters in Applied Microbiology*, 51, 697-703.
- BEAUFORT A., RUDELLE S., GNANOU-BESSE N., TOQUIN M.T., KEROUANTON A., BERGIS H., SALVAT G., CORNU M. 2007. Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* innaturally contaminated cold-smoked salmon. *Letters in Applied Microbiology*, 44, 406-411.
- BRILLET A., PILET M.F., PRÉVOST H., BOUTTEFROY A., LEROI F. 2004. Biodiversity of *Listeria monocytogenes* sensitivity to bacteriocin-producing *Carnobacterium* strains and application in sterile cold-smoked salmon. *Journal of Applied Bacteriology*, 97, 1029-1037.
- BRILLET A., PILET M.F., PRÉVOST H., CARDINAL M., LEROI, F. 2005. Effect of inoculation of *Carnobacterium divergens* V41, a biopreservative strain against *Listeria monocytogenes* risk, on the microbiological and sensory quality of cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*, 104, 309-324.

- BRILLET-VIEL A., PILET M.F., CHEVALIER F., CARDINAL M., CORNET J., DOUSSET X., JOFFRAUD J.J., LEROI F. 2011. La biopréservation, une nouvelle technologie de barrière pour améliorer la sécurité et la qualité des produits de la mer. Colloque SFM-RMT Ecosystème microbiens et bioprotection des aliments. Nantes, France, 17-18 novembre 2011.
- CAHILL M.M. 1990. Bacterial flora of fishes: A review. *Microbial Ecology*, 19, 21-41.
- CONCHA-MEYER A.B., SCHÖBITZ R., BRITO C., FUENTES R. 2011. Lactic acid bacteria in an alginate film inhibit *Listeria monocytogenes* growth on smoked salmon. *Food Control*, 22, 485-489.
- CORNU M., BEAUFORT A., RUDELLE S., LALOUX L., BERGIS H., MICONNET N., SÉROT T., DELIGNETTE-MULLER M.L. 2006. Effect of temperature, water-phase salt and phenolic contents on *Listeria monocytogenes* growth rates on cold-smoked salmon and evaluation of secondary models. *International Journal of Food Microbiology*, 106, 159-168.
- DANIEL P., LORRE S. 2001. Novel lactic acid bacteria of the genus *Lactococcus lactis* and use thereof for preserving food products. Patent WO 2003/027268.
- DAPKEVICIUS M., NOUT M.J.R., ROMBOUTS F.M., HOUBEN J.H., WYMENGA W. 2000. Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 57, 107-114.
- DENIS C., LEMONNIER S., CADOT P. 2011. Application de bactériophages pour le contrôle de *Listeria monocytogenes* dans le saumon fumé. Colloque de la Société Française de Microbiologie "Ecosystèmes microbiens et bioprotection des aliments" 17,18 Novembre, Nantes, France
- DEVARAJU A.N., SETTY T.M.R. 1985. Comparative study of fish bacteria from tropical and cold temperature marines waters. In: Reilly A. (ed.) Spoilage of tropical fish and product development. *FAO Fishery Report*, 317 Suppl, 97-107.
- DICKS L.M.T., TODOROV S.D., VAN DER MERWE M.P., DALTON A., HOFFMAN L.C. 2006. Preservation of fish spread with enterocins 1071A and 1071B, two antimicrobial peptides produced by *Enterococcus faecalis* BFE 1071 Vol. 26. Pp 173-183. Hoboken, NJ, ETATS-UNIS: Wiley.
- DUFFES F., CORRE C., LEROI F., DOUSSET X., BOYAVAL P. 1999. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *in situ* produced and semipurified bacteriocins of *Carnobacterium* spp. on vacuum-packed, refrigerated cold-smoked salmon. *Journal of Food Protection*, 62, 1394-1403.
- EFSA. 2011. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. The *EFSA Journal* 9 (3):2090.
- EINARSSON H., LAUZON L. 1995. Biopreservation of brined shrimp (*Pandalus borealis*) by bacteriocins from lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 669-676.
- EL BASSI L., HASSOUNA M., SHINZATO N., MATSUI T. 2009. Biopreservation of refrigerated and vacuum-packed *Dicentrarchus labrax* by lactic acid bacteria. *Journal of Food Science*, 74, 335-336.
- EMBORG J., DALGAARD P. 2006. Formation of histamine and biogenic amines in cold-smoked tuna: an investigation of psychrotolerant bacteria from samples implicated in cases of histamine fish poisoning. *Journal of Food Protection*, 69, 897-906.
- FALL P.A., LEROI F., CHEVALIER F., GUERIN C., PILET M.F. 2010a. Protective effect of a non-bacteriocinogenic *Lactococcus piscium* CNCM I-4031 strain against *Listeria monocytogenes*

in sterilized tropical cooked peeled shrimp. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 19, 84-92.

FALL P.A., LEROI F., CARDINAL M., CHEVALIER F., PILET M.F. 2010b. Inhibition of *Brochothrix thermosphacta* and sensory improvement of tropical peeled cooked shrimp by *Lactococcus piscium* CNCM I-4031. *Letters in Applied Microbiology*, 50, 357-361.

FALL P.A., PILET M.F., LEDUC F., CARDINAL M., DUFLOS G., GUÉRIN C., JOFFRAUD J.J., LEROI F. 2012. Sensory and physicochemical evolution of tropical cooked peeled shrimp inoculated by *Brochothrix thermosphacta* and *Lactococcus piscium* CNCM I-4031 during storage at 8°C. *International Journal of Food Microbiology*, 152, 82-90.

FAO - Comité des pêches - sous-comité du commerce du poisson, Faits nouveaux concernant le commerce de poisson, Buenos Aires (Argentine), 26-30 avril 2010, pp 1-13.

FRANCEAGRIMER, les cahiers de FranceAgriMer, les filières pêche et aquaculture en France / Production, entreprises, échanges, consommation, édition avril 2011, p 1-35.

FRANCEAGRIMER, consommation des produits de la pêche et de l'aquaculture, données statistiques 2010, édition mai 2011, p 1-126.

GALLOIS S. 2009. Moins d'histamine grâce à un fermenté. *Produits de la Mer*, 113, 10.

GELMAN A., DRABKIN V., GLATMAN L. 2001. Evaluation of lactic acid bacteria isolated from lightly preserved fish products, as starter cultures for new fish-based food products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1, 219-226.

GONZALES-FANDOS E., GARCIA-LINARES M.C., VILLARINO-RODRIGUEZ A., GARCIA-ARIAS M.T., GARCIA-FERNANDEZ M.C. 2004. Evaluation of the microbiological safety and sensory quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processed by the sous vide method. *Food Microbiology*, 21, 193-201.

GUENTHER S., HUWYLER D., RICHARD S., LOESSNER M.J. 2009. Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 93-100.

HOZBOR M.C., SAIZ A.I., YEANNES M.I., FRITZ R. 2006. Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon (*Pseudoperca samifasciata*). *LWT Food Science and Technology*, 39, 99-104

HUANG Y.R., LIU K.J., HSIEH H.S., HSIEH C.H., HWANG D.F., TSAI Y.H. 2010. Histamine level and histamine-forming bacteria in dried fish products sold in Penghu Island of Taiwan. *Food Control*, 21, 1234-1239.

HUBER I., SPANGGAARD B., APPEL K.F., ROSSEN L., NIELSEN T., GRAM L. 2004. Phylogenetic analysis and *in situ* identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of Applied Microbiology*, 96, 117-132.

HUSS H.H. 1999. La qualité et son évolution dans le poisson frais. Changements *post-mortem* dans le poisson. *FAO Document Technique sur les Pêches*, 348, 1-26.

HUSS H.H., REILLY A., BEN EMBAREK P.K. 2000. Prevention and control of hazards in seafood. *Food Control*, 11, 149-156.

IBRAHIM S.M., DESOUKY S.G. 2009. Effect of antimicrobial metabolites produced by lactic acid bacteria on quality aspects of frozen tilapia fillets (*Oreochromis niloticus*). *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 1, 40-45.

JAFFRÈS E., LALANNE V., MACÉ S., CORNET J., CARDINAL M., SÉROT T., DOUSSET X.,

- JOFFRAUD J.J. 2011. Sensory characteristics of spoilage and volatile compounds associated with bacteria isolated from cooked and peeled tropical shrimps using SPME-GC-MS analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 147, 195-202.
- JAFFRÈS E., PRÉVOST H., ROSSERO A., JOFFRAUD J.J., DOUSSET X. 2010. *Vagococcus penaei* sp. nov., isolated from spoilage microbiota of cooked shrimp (*Penaeus vannamei*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 2159-2164.
- JAFFRÈS E., SOHIER D., LEROI F., PILET M.F., PRÉVOST H., JOFFRAUD J.J., DOUSSET X. 2009. Study of the bacterial ecosystem in tropical cooked and peeled shrimps using a polyphasic approach. *International Journal of Food Microbiology*, 131, 20-29.
- JOFFRAUD J.J., CARDINAL M., CORNET J., CHASLES J.S., LÉON S., GIGOUT F., LEROI F. 2006. Effect of bacterial interactions on the spoilage of cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*, 112, 51-61.
- JOFFRAUD J.J., LEROI F., ROY C., BERDAGUÉ J.L. 2001. Characterisation of volatile compounds produced by bacteria isolated from the spoilage flora of cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*, 66, 175-184.
- JORGENSEN L.V. 2000. Spoilage and safety of cold-smoked salmon. Ph.D., The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark.
- KANKI M., YODA T., ISHIBASHI M., TSUKAMAMOTO T. 2004. *Photobacterium phosphoreum* caused a histamine fish poisoning incident. *International Journal of Food Microbiology*, 92, 79-87.
- KATLA T., MORETRO T., AASEN I. M., HOLCK A., AXELSSON L., NATERSTAD K. 2001. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in cold smoked salmon by addition of sakacin P and/or live *Lactobacillus sakei* cultures. *Food Microbiology*, 18, 431-439.
- LAURSEN B.G., BAY L., CLEENWERCK I., VANCANNEYT M., SWINGS J., DALGAARD P., LEISNER J.J. 2005. *Carnobacterium divergens* and *Carnobacterium maltaromicum* as spoilers or protective cultures in meat and seafood: phenotypic and genotypic characterisation. *Systematic and Applied Microbiology*, 28, 151-164.
- LEE R.J., RANGDALE R.E. 2008. Bacterial pathogens in seafood. In: Borresen, T., (Ed.), Improving seafood products for the consumer. Woodhead publishing limited, Cambridge. pp 247-291.
- LEISNER J.J., LAURSEN B.G., PRÉVOST H., DRIDER D., DALGAARD P. 2007. *Carnobacterium*: positive and negative effects in the environment and in foods. *FEMS Microbiology Reviews*, 31, 592-613.
- LEROI F., JOFFRAUD J.J., CHEVALIER F., CARDINAL M. 1998. Study of the microbial ecology of cold smoked salmon during storage at 8°C. *International Journal of Food Microbiology*, 39, 111-121.
- LEROI F. 2010. Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. *Food Microbiology*, 27, 698-709.
- LISTON J. 1992. Bacterial spoilage of seafood. In: H.H. Huss, M. Jakobsen and J. Liston. (eds.), Quality assurance in the fish industry, Proceedings of an international conference, Copenhagen, Denmark, August 1992. Elsevier, Amsterdam. pp93-105.
- MACÉ S., CORNET J., CHEVALIER F., CARDINAL M., PILET M.F., DOUSSET X., JOFFRAUD J.J. 2012 Characterisation of the spoilage microbiota in raw salmon (*Salmo salar*) steaks stored undervacuum or modified atmosphere packaging combining conventional methods and PCR-

TTGE. *Food Microbiology*, 30, 164-172.

MAH J.H., HWANG H.J. 2009. Inhibition of biogenic amine formation in a salted and fermented anchovy by *Staphylococcus xylosus* as a protective culture. *Food Control*, 20, 796-801.

MATAMOROS S., PILET M.F., GIGOUT F., PRÉVOST H., LEROI F. 2009a. Selection and evaluation of seafood-borne psychrotrophic lactic acid bacteria as inhibitors of pathogenic and spoilage bacteria. *Food Microbiology*, 26, 638-644.

MATAMOROS S., LEROI F., CARDINAL M., GIGOUT F., KASBI CHADLI F., CORNET J., PRÉVOST F., PILET M.F. 2009b. Psychrotrophic lactic acid bacteria used to improve the safety and quality of vacuum-packaged cooked and peeled tropical shrimp and cold-smoked salmon. *Journal of Food Protection*, 72, 365-374.

MEJLHOLM O., KJELDGAARD J., MODBERG A., VEST M.B., BØKNÆS N., KOORT J., BJÖRKROTH J., DALGAARD P. 2008. Microbial changes and growth of *Listeria monocytogenes* during chilled storage of brined shrimp (*Pandalus borealis*). *International Journal of Food Microbiology*, 124, 250-259.

MÉTIVIER A., PILET M.F., DOUSSET X., SOROKINE O., ANGLADE P., ZAGOREC M., PIARD J.C., MARION D., CENATIEMPO Y., FREMAUX C. 1998. Divercin V41, a new bacteriocin with two disulphide bonds produced by *Carnobacterium divergens* V41: primary structure and genomic organization. *Microbiology*, 144, 2837-2844.

MEYER H.L. 2005, La bioprotection élargit son périmètre. *La Revue de l'Industrie Agroalimentaire*, 659, 57-58.

NILSSON L., GRAM L., HUSS H.H. 1999. Growth control of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon using a competitive lactic acid bacteria flora. *Journal of Food Protection*, 62, 336-342.

NILSSON L., HUSS H.H., GRAM L. 1997. Inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon by nisin and carbon dioxide atmosphere. *International Journal of Food Microbiology*, 38, 217-227.

NILSSON L., NG Y.Y., CHRISTIANSEN J.N., JORGENSEN B.L., GROTHINUM D., GRAM L. 2004. The contribution of bacteriocin to inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Carnobacterium piscicola* strains in cold-smoked salmon systems. *Journal of Applied Microbiology*, 96, 133-143.

OLOFSSON T.C., AHRNÉ S., MOLIN G. 2007. The bacterial flora of vacuum-packed cold-smoked salmon stored at 7°C, identified by direct 16S rRNA gene analysis and pure culture technique. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 109-119.

RACHMAN C., FOURRIER A., SY A., DE LA COCHETIERE M.F., PRÉVOST H., DOUSSET X. 2004. Monitoring of bacterial evolution and molecular identification of lactic acid bacteria in smoked salmon during storage. *Le Lait*, 84, 145-154.

ROCOURT J., JACQUET C., REILLY A. 2000. Epidemiology of human listeriosis and seafoods. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 197-209.

SATOMI M., FURUSHITA M., OIKAWA H., YOSHIKAWA-TAKAHASHI M., YANO Y. 2008. Analysis of a 30 kbp plasmid encoding histidine decarboxylase gene in *Tetragenococcus halophilus* isolated from fish sauce. *International Journal of Food Microbiology*, 126, 202-209.

STOHR V., JOFFRAUD J.J., CARDINAL M., LEROI F. 2001. Spoilage potential and sensory profile

associated with bacteria isolated from cold-smoked salmon. *Food Research International*, 34, 797-806.

SUAREZ M. H., FRANCISCO A., BEIRAO L. H. 2008. Influence of bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* LPBM10 on shelf life of cachama hybrid fillets *Piaractus rachypomus* and *Colossoma macropomum* vacuum packaged. *Vitae, Revista de la Facultad de Quimica farmaceutica*, 15, 32-40.

TAHIRI I., DESBIENS M., BENECH R., KHEADR E., LACROIX C., THIBAUT S., OUELLET D., FLISS I. 2004. Purification, characterization and amino acid sequencing of divercin M35: a novel class IIa bacteriocin produced by *Carnobacterium divergens*. *International Journal of Food Microbiology*, 97, 123-136.

TAHIRI I., DESBIENS M., KHEADR E., LACROIX C., FLISS I. 2009. Comparison of different application strategies of divergicin M35 for inactivation of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked wild salmon. *Food Microbiology*, 26, 783-793.

TAKAHASHI H., KURAMOTO S., MIYA S., KOISO H., KUDA T., KIMURA B. 2011. Use of commercially available antimicrobial compounds for prevention of *Listeria monocytogenes* growth in ready-to-eat minced tuna and salmon roe during shelf life. *Journal of Food Protection*, 74, 994-998.

TOMÉ E., GIBBS P.A., TEIXEIRA P.C. 2008. Growth control of *Listeria innocua* 2030c on vacuum-packaged cold-smoked salmon by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 121, 285-294.

TRUELSTRUP HANSEN L., HUSS H.H. 1998. Comparison of the microflora isolated from spoiled cold-smoked salmon from three smokehouses. *Food Research International*, 31, 703-711.

TSAI Y.H., LIN C.Y., CHIEN L.T., LEE T.M., WEI C.I., HWANG D.F. 2006. Histamine contents of fermented fish products in Taiwan and isolation of histamine-forming bacteria. *Food Chemistry* 98, 64-70.

VESCOVO M., SCOLARI G., ZACCONI C. 2006. Inhibition of *Listeria innocua* growth by antimicrobial-producing lactic acid cultures in vacuum-packed cold-smoked salmon. *Food Microbiology*, 23, 689-693.

WARRINER K., NAMVAR A. 2009. What is the hysteria with *Listeria*? *Trends in Food Science and Technology*, 20, 245-254.

WEISS A., HAMMES W.P. 2006. Lactic acid bacteria as protective cultures against *Listeria* spp. on cold-smoked salmon. *European Food Research and Technology*, 222, 343-346.

WILSON B., DANILOWICZ B.S., MEIJER W.G. 2008. The Diversity of Bacterial Communities Associated with Atlantic Cod *Gadus morhua*. *Microbial Ecology*, 55, 425-434.

WITTMAN R.J., FLICK G.J. 1995. Microbial contamination of shellfish: prevalence, risk to human health, and control strategies. *Annual Review of Public Health*, 16, 123-140.

XI D. 2011. Application of probiotics and green tea extract in post-harvest processes of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) for reducing *Vibrio parahaemolyticus* and extending shelf life. PhD thesis. Oregon State University, USA.

YAMAZAKI K., SUZUKI M., KAWAI Y., INOUE N., MONTVILLE T.J. 2005. Purification and characterization of a novel class IIa bacteriocin, piscicocin CS526, from surimi-associated *Carnobacterium piscicola* CS526. *Applied and Environment Microbiology*, 71, 554-557.

YAMAZAKI K., SUZUKY M., KAWAI Y., INOUE N., MONTVILLE T.J. 2003. Inhibition of *Listeria*

monocytogenes in cold-smoked salmon by *Carnobacterium piscicola* CS526 isolated from frozen surimi. *Journal of Food Protection*, 66, 1420-1425.

YIN L.J., WU C.W., JIANG S.T. 2007. Biopreservative effect of pediocin ACCEL on refrigerated seafood. *Fisheries Science*, 73, 907-912.

YONGJIN H., WENSHUI X., XIAOYONG L. 2007. Changes in biogenic amines in fermented silver carp sausages inoculated with mixed starter cultures. *Food Chemistry*, 104, 188-195.

ZAMAN M.Z., ABU BAKAR F., JINAP S., BAKAR J. 2011. Novel starter cultures to inhibit biogenic amines accumulation during fish sauce fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 84-91.