



Projet d'étude AFSCA SP 2015-04 : Étude exploratoire relative à l'application de l'analyse métagénomique en tant qu'outil de surveillance de la sécurité alimentaire des fromages au lait cru à pâte molle

Prof. Nico Boon¹, Prof. Mieke Uyttendaele², Dr. Hugo Roume¹

¹Centrum voor microbiële ecologie en technologie (CMET), Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, Universiteit Gent (UGent)

²Laboratorium Levensmiddelenmicrobiologie en -conservering (LFMFP), Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, Universiteit Gent (UGent)

01/03/2016 – 14/12/2016

Résumé

Objectif

L'objectif du présent projet d'étude restreint était de vérifier les possibilités d'utilisation de l'analyse métagénomique en tant qu'outil lors de la surveillance de la sécurité alimentaire des fromages au lait cru à pâte molle. Par analyse métagénomique, on entend l'étude de tout le matériel génétique directement retrouvé dans un échantillon biologique complexe. La principale demande concernait l'évaluation de la possibilité de détecter, via des analyses métagénomiques, des profils bactériens ou des organismes indicateurs spécifiques (tels que *Escherichia coli*) dans divers types de fromages au lait cru qui seraient indicatifs de la présence et de la prolifération de *Listeria monocytogenes*.

Protocole expérimental

Trois fromages fermiers belges au lait cru ont été sélectionnés, à savoir un fromage à pâte molle à croûte fleurie et un fromage à pâte mi-dure à croûte lavée, tous deux à base de lait cru de vache et un fromage à pâte molle à croûte fleurie à base de lait cru de chèvre. Les fromages ont été inoculés par *Listeria monocytogenes*, aussi bien sur une surface de coupe que sur la croûte du fromage. Les fromages ont été conservés durant 9 jours à des températures de 7°C et 12°C et ont été échantillonnés sur la surface de coupe et sur la croûte. Les paramètres physicochimiques ont été mesurés (teneur en sel, activité de l'eau et degré d'acidité). Des analyses microbiologiques ont été réalisées à l'aide de techniques classiques sur boîtes de pétri (*Listeria monocytogenes*, *E. coli* et bactéries lactiques) et par analyse métagénomique (à savoir analyse de séquence de l'ADNr 16S).

Conclusions

Les paramètres physicochimiques présentaient des variations aussi bien au sein d'une même sorte de fromage qu'entre différentes sortes de fromages. Pour certains fromages, le nombre d'*E.coli* était relativement élevé et tous les fromages contenaient des nombres élevés de bactéries lactiques. Dans certains fromages, *E. coli* a pu se développer lors de la conservation à 12°C tandis que le nombre de bactéries lactiques restait constamment élevé. *Listeria monocytogenes* n'était pas naturellement présente dans ces fromages au début de l'essai (avant l'inoculation artificielle). La croissance de *Listeria monocytogenes* était possible dans deux des trois fromages après inoculation. Cette croissance était plus élevée à 12°C qu'à 7°C. *Listeria monocytogenes* n'a pas toujours pu être détectée dans les fromages inoculés à l'aide de l'analyse métagénomique étant donné que les nombres étaient trop faibles et que



Listeria monocytogenes ne faisait donc pas (souvent) partie de la population bactérienne abondante du fromage. Les résultats de l'analyse métagénomique des échantillons inoculés et des échantillons de contrôle avant et après conservation n'ont pas permis de tirer des conclusions claires quant à l'influence de la présence de *Listeria monocytogenes* sur les populations bactériennes et inversement. De manière générale, la température de conservation a entraîné davantage de changements dans les profils métagénomiques sur la surface de coupe que sur la croûte. Vu l'importante variabilité au sein d'un même lot et entre différents lots, il n'a pas toujours été possible de parvenir à des conclusions claires. Aucune population bactérienne pouvant inhiber la croissance de *Listeria monocytogenes* ou liée à la présence de cette dernière n'a pu être identifiée.

Évaluation des objectifs de l'étude

La caractérisation microbiologique à l'aide de l'analyse métagénomique sur des échantillons de fromages à pâte molle au lait cru n'a pu donner, dans la présente étude, aucune indication sur l'éventuelle présence de *Listeria monocytogenes* ou sur le risque de croissance de celle-ci durant la conservation. L'analyse métagénomique n'a pas davantage pu être utilisée pour établir des profils de risque pour les fromages à pâte molle au lait cru analysés. Cette étude limitée n'a pas pu démontrer que l'analyse métagénomique apporte une plus-value par rapport aux techniques microbiologiques classiques pour l'évaluation de la sécurité alimentaire des fromages au lait cru à pâte molle. Aussi bien les méthodes de culture classiques que l'analyse métagénomique peuvent être appliquées pour obtenir une idée de la nature des bactéries présentes mais elles fournissent peu d'informations sur la fonctionnalité ou les interactions qui surviennent au sein d'une population bactérienne.

Il est clairement ressorti de la présente étude que les analyses métagénomiques actuelles n'offrent aucune plus-value pour l'évaluation des risques de contamination par des pathogènes dans les fromages au lait cru. Cela est dû à i) leurs limites dans la détection de faibles densités de populations bactériennes, ii) l'insensibilité des populations bactériennes à la présence des pathogènes, iii) la diversité limitée des populations bactériennes dans les fromages, ce qui limite le nombre d'organismes indicateurs potentiels et iv) la bonne performance intrinsèque de la technique classique des boîtes de pétri pour la détection de *Listeria monocytogenes* dans le fromage qui, dans cette étude également, a donné plus d'échantillons positifs.