

Evaluation de l'efficacité des conservateurs sur la prévention du développement de *Listeria monocytogenes* dans les ensilages

Efficiency assessment of acid organic and lactic ferment preservatives to prevent growth of *Listeria monocytogenes* in silages

J. MARLY (1), V. HEUCHEL (2), D. RIBAUD (2)

(1) INRA, Laboratoire de Pathologie Infectieuse et Immunologie, 37380 Nouzilly

(2) Institut de l'Elevage, 149 rue de Bercy, 75595 Paris Cedex 12

INTRODUCTION

Listeria monocytogenes (Lm) peut être présente et se développer dans les ensilages. L'utilisation de ces fourrages dans l'alimentation des troupeaux laitiers représente un risque vis-à-vis de la qualité sanitaire du lait et des produits au lait cru. Dans le cadre d'un programme de recherches sur l'appréciation et les moyens de maîtrise des risques de contamination du lait à la production par Lm, une expérimentation a été conduite par l'Institut de l'Elevage et l'INRA afin d'évaluer l'efficacité des conservateurs sur la réduction de la contamination des ensilages par cette bactérie.

1. MATERIEL ET METHODES

L'expérimentation a été menée sur des micro-silos (tubes en PVC de 9,5 cm de diamètre et de 40 cm de long) fermés de façon non totalement hermétique, afin de simuler une couverture non étanche de l'ensilage. Deux types de conservateurs ont été évalués : un conservateur acide (acide formique), et un conservateur biologique contenant une souche de bactérie lactique sélectionnée pour sa capacité à produire des bactériocines inhibitrices de la croissance de Lm. Ils ont été incorporés dans le fourrage à raison de 3,3 l par tonne pour le conservateur acide, et de 10 g de ferments par tonne pour le conservateur biologique. Les essais ont été conduits selon un dispositif factoriel équilibré, afin d'évaluer les effets :

- du traitement (absence de conservateur, conservateur acide, conservateur biologique),
- de la nature des fourrages ensilés (maïs, luzerne, *ray-grass*, prairie naturelle),
- du niveau de contamination initiale des fourrages verts, qui ont été inoculés avant d'être ensilés avec une souche de Lm marquée par une résistance à la spectinomycine, selon 2 doses (10^4 et 10^6 bactéries / g de fourrage),
- de la densité de l'ensilage (0,8 à 1 kg de fourrage par micro-silo pour la densité faible, et 1 à 1,2 kg pour la densité élevée).

Les fourrages ont été congelés après leur récolte, stockés, puis décongelés avant leur ensilage (des essais préalables à l'expérimentation avaient montré que la congélation n'avait pas d'incidence sur les processus fermentaires pendant l'ensilage, ni sur le développement de Lm). Pour un essai sur un fourrage donné, tous les micro-silos correspondant aux différentes modalités des facteurs étudiés ont été confectionnés le même jour. Pour chaque combinaison des modalités "traitement x dose inoculée x densité", 4 répétitions ont été effectuées et un micro-silo témoin étanche, réalisé sans conservateur, a également été confectionné. Chaque micro-silo a été ouvert 11 ou 12 jours après sa confection et la souche marquée de Lm a été recherchée (mise en culture sur une gélose sélective Oxford, selon la méthode AFNOR V08055 de 1997, additionnée de spectinomycine) et dénombrée sur deux échantillons de fourrage prélevés respectivement dans les parties superficielle et centrale du silo.

2. RESULTATS

Les résultats présentés dans le tableau montrent que le conservateur acide a permis d'éliminer ou de réduire la contamination des ensilages de maïs par Lm, et dans une moindre mesure, celle de l'ensilage de prairie naturelle. En revanche, il n'a eu aucun effet sur les ensilages de luzerne ou de *ray-grass*. Avec le conservateur biologique, la contamination n'a été réduite dans aucun des fourrages étudiés. Dans les cinq essais, on n'a plus retrouvé trace des Lm inoculées dans les micro-silos témoins étanches.

Tableau 1 : Comparaisons des moyennes* des dénombrements de *L. monocytogenes* dans les différents fourrages en fonction du traitement appliqué (en Log UFC / g. de fourrage)

Conservateur :	Sans	Acide	Biologique
Luzerne (C)	5,19 a	6,20 a	5,11 a
Maïs (C)	3,81 a	0,00 b	3,98 a
Maïs (F)	2,47 a	0,07 b	3,01 a
Prairie (C)	4,54 a	1,80 b	4,54 a
Ray Grass (C)	2,70 a	5,97 b	4,55 b

* Moyennes sur l'ensemble des modalités des facteurs étudiées (C) : fourrage congelé - (F) : fourrage frais - a, b : par ligne, les valeurs affectées d'une lettre différente sont significativement différentes (Test de Dunnett - risque α : 5 %)

3. DISCUSSION

Dans des conditions très défavorables d'ensilage (présence d'air et contamination initiale importantes dans le fourrage), l'application d'un conservateur acide dans le maïs et dans la prairie naturelle permet de détruire Lm ou de limiter fortement son développement. Un tel effet n'a pas été observé sur le *ray-grass* ni sur la luzerne, probablement en raison de leur pouvoir tampon élevé par rapport à celui du maïs. Dans les conditions de l'expérimentation, l'inefficacité du conservateur biologique vis-à-vis de la réduction de la contamination, est vraisemblablement due à la présence d'air trop importante dans les fourrages pour permettre l'activité métabolique des ferments lactiques. Cette hypothèse est confortée par le fait que dans les ensilages réalisés avec les mêmes échantillons de fourrage dans les micro-silos étanches, l'activité fermentaire des bactéries lactiques endogènes a entraîné une forte baisse du pH, permettant la destruction de la souche de Lm initialement inoculée.

CONCLUSION

Les conditions d'anaérobiose apparaissent déterminantes lors de la confection des ensilages pour prévenir le développement de Lm, en favorisant une fermentation lactique (naturelle ou orientée par apport d'un conservateur biologique) permettant une acidification rapide et suffisante du fourrage.

Cette étude a été réalisée dans le cadre du programme Aliment Qualité Sécurité 2000 et a bénéficié du soutien financier du MAAPAR.