

## Sujet de stage de Master 2

### Laboratoire d'accueil :

Laboratoire de Sécurité des Aliments de l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail  
23 avenue du Général De Gaulle  
94706 Maisons-Alfort cedex

### Maîtres de stage :

Dr Olivier Firmesse  
[olivier.firmesse@anses.fr](mailto:olivier.firmesse@anses.fr), tél : 01 49 77 22 67

Dr Brigitte Carpentier  
[brigitte.carpentier@anses.fr](mailto:brigitte.carpentier@anses.fr), tél : 01 49 77 26 46

### Equipe d'accueil :

L'équipe « Listeria » de l'Unité « *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria* » fait partie du Laboratoire de Sécurité des Aliments qui regroupe 140 personnes dont l'activité est principalement tournée vers les dangers biologiques et chimiques qui peuvent affecter la sécurité sanitaire et la qualité des aliments. Au sein de cette équipe, des travaux de recherche sont menés depuis 20 ans sur l'hygiène des locaux et des équipements agro-alimentaires dans le cadre de projets collaboratifs nationaux ou internationaux et consistent en des études de laboratoire et des observations de terrain afin de comprendre la réalité industrielle.

Les mots clefs de l'activité : nettoyage-désinfection, biofilm, hygiène des matériaux, interactions bactériennes, transferts bactériens depuis les surfaces vers les aliments, écologie microbienne, hygiène des équipements frigorifiques, persistance bactérienne, état viable non cultivable, microbiologie conventionnelle et biologie moléculaire.

### Titre et sujet du stage : Impact de la fréquence de désinfection sur la survie de *Listeria monocytogenes* dans les conditions rencontrées dans les ateliers agro-alimentaires.

Ce stage s'inscrit dans un vaste projet ANR (EcoSec, programme ALID 2012 coordonné par l'équipe d'accueil) dont l'objectif est l'optimisation de la déshumidification de l'air pour diminuer l'impact environnemental des opérations d'hygiène dans les ateliers agro-alimentaires réfrigérés. En déshumidifiant l'air, les surfaces séchent et les bactéries ayant survécu aux opérations d'hygiène subissent alors un stress de dessiccation qui provoque une mortalité cellulaire supplémentaire. Dans les ateliers réfrigérés, il est fréquent d'observer une ou plusieurs souches de *Listeria monocytogenes* persistantes, c'est-à-dire présentes pendant des mois voire des années malgré l'application correcte et fréquente des procédures d'hygiène. *L. monocytogenes* est une espèce bactérienne pathogène redoutée (fort taux de létalité de la maladie en recrudescence en Europe depuis 2005). C'est une bactérie qui est également connue pour sa capacité à s'adapter à un stress hydrique, notamment sous forme non cultivable. Il a donc été choisi de rechercher les stratégies de déshydratation les plus létales possibles pour cette bactérie.

Le stage a pour objectif d'évaluer la survie de *L. monocytogenes* adhérente sur des surfaces soumises quotidiennement à des opérations d'hygiène en comparant d'une part des protocoles d'hygiène respectueux ou non de l'environnement et d'autre part en incluant dans ces protocoles une étape de séchage. Plusieurs facteurs pouvant influencer cette survie seront étudiés et combinés par des plans d'expériences fractionnaires : utilisation d'une souillure alimentaire ou d'un milieu de culture modèle, utilisation d'un matériau nettoyable ou non nettoyable, culture de *L. monocytogenes* seule ou en présence d'une souche qui favorise son adhésion. La survie bactérienne sera évaluée par méthode culturale de microbiologie conventionnelle mais aussi par PCR quantitative après prétraitement au monoazoture de propidium pour mettre en évidence les cellules viables mais non cultivables.

### Références bibliographiques récentes des maîtres de stage dans le domaine :

- Khamisse, E., Firmesse, O., Christieans, S., Chassaing, D., & Carpentier, B. (2012). Impact of cleaning and disinfection on the non-culturable and culturable bacterial loads of food-contact surfaces at a beef processing plant. *Int J Food Microbiol*, 158(2), 163-168.
- Carpentier, B., Lagendijk, E., Chassaing, D., Rosset, P., Morelli, E., & Noël, V. (2012). Factors impacting microbial load of food refrigeration equipment. *Food Control*, 25(1), 254-259.
- Firmesse, O., Morelli, E., Vann, S., & Carpentier, B. (2012). Monitoring of bacterial load in terms of culturable and non-culturable cells on new materials placed in a delicatessen serve over counter. *Int J Food Microbiol*. Sous presse.
- Carpentier, B. (2011). A suggested method for assessing the cleanability of flooring materials. *EHEDG Year book 2011/2012*, 16-20.
- Carpentier, B., & Cerf, O. (2011). Review -- Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *Int J Food Microbiol*, 145(1), 1-8.
- Firmesse, O., Chassaing, D., Leconte, A.-M., & Carpentier, B. (2011). Comparison of materials used in food refrigeration equipment with respect to ease of removal of organic soil. *EHEDG Yearbook 2011/2012*, 21-25.
- Marouani-Gadri, N., Firmesse, O., Chassaing, D., Sandris-Nielsen, D., Arneborg, N., & Carpentier, B. (2010). Potential of *Escherichia coli* O157:H7 to persist and form viable but non-culturable cells on a food-contact surface subjected to cycles of soiling and chemical treatment. *Int J Food Microbiol*, 144, 96-103.