



Programme de soutien à l'innovation en agroalimentaire

Rapport

**Amélioration de la qualité microbiologique et de l'innocuité
de la viande de lapin**

Projet PSIA no 811206

Responsable scientifique :

Prof. Linda Saucier Ph.D., agr., chm.

Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation

Université Laval



L'équipe

Chercheurs impliqués :

Prof. Linda Saucier Ph.D., agr., chm.	Investigatrice principale et spécialiste en microbiologie des viandes
Prof. Dany Cinq-Mars Ph.D., agr.	Spécialiste en production cunicole
Prof. Frédéric Guay Ph.D., agr.	Spécialiste en nutrition animale
Prof. André Gosselin Ph.D., agr.	Spécialiste en phytologie
Prof. Yves Desjardins Ph.D., agr.	Spécialiste en phytochimie

Partenaires financiers :

Julien Pagé, Président Syndicat des producteurs de lapins du Québec	Ils ont fourni des animaux
Christian Bruneau Pancosma SA	Ils ont fourni les huiles essentielles commerciales
Sébastien Léonhart Nutra Canada Inc.	Ils ont fourni les extraits de végétaux

Autres collaborateurs :

Bien que ces industriels aient reçu une rémunération pour les services rendus au projet, leur collaboration était essentielle à la bonne marche des travaux. La tenue d'expériences en industrie impose inévitablement des ajustements à la routine de production et le ralentissement des processus de transformation.

Belisle Solution Nutrition St-Mathias-sur-Richelieu	Cette meunerie est en mesure de fabriquer des granules à froid et en petits lots mieux adaptés à la taille de nos expériences
Canard du Lac Brome	Premier abattage et découpe sous inspection fédérale (arrêt de l'abattage du lapin et depuis, l'usine a été victime d'un incendie)
Abattoir Rolland Pouliot et fils Inc. Saint-Henri de Lévis	Abattage sous inspection provinciale
Les Gibiers Canabec Inc.	Désossage sous inspection provinciale
Griffith Foods Scarborough, ON.	Ils ont fourni la Micocin®. Ils se sont joints au projet à l'an 3.

Cultivons l'avenir, une initiative fédérale–provinciale–territoriale

Stratégies nutritionnelles novatrices pour améliorer la qualité de la viande de lapin

Linda Saucier^{1,3}, Dany Cinq-Mars¹, Frédéric Guay¹, André Gosselin^{2,3}, Yves Desjardins^{2,3}

No de projet : PSIA 811206

Durée : 03/2012 – 10/2016

FAITS SAILLANTS

La production de lapins est marginale au Québec, mais la demande actuelle dépasse l'offre disponible et son développement est important pour la diversité de l'offre alimentaire notamment à Noël, Pâques, St-Valentin, etc. et pour le marché des HRI (HRI : hôtels, restaurants, institutions). La restauration, toujours à l'affût de nouveautés, vise une expérience gustative positive pour le consommateur qui devrait conduire à des achats éventuels de produits de lapin transformés et frais en épicerie. Toutefois, cette niche exige une qualité microbiologique et organoleptique irréprochable avec une durée de vie de tablette permettant une gestion des inventaires bien articulée. Ainsi, le présent projet de recherche avait pour but de développer des stratégies alimentaires simples, sans investissement majeur pour le producteur, qui permettraient d'optimiser la qualité de la viande de lapin. Les résultats de l'ajout de polyphénols de sources naturelles (oignon, canneberge, fraise, huiles essentielles) à l'alimentation des lapins sur la qualité microbiologiques de la viande ont été positifs, mais sporadiques pendant l'entreposage et avec des réductions logarithmiques relativement modestes. En contrepartie, au niveau du statut oxydatif des protéines et des lipides, le ralentissement de l'oxydation est significatif et le bénéfique bien net et bien réel dans les conditions étudiées. Au niveau microbiologique, c'est la modulation de la microflore par l'ajout à la ration d'une culture protectrice qui a donné les résultats les plus prometteurs avec une réduction logarithmique de *Listeria monocytogenes* pouvant atteindre 2,1 Log dans la viande hachée emballée sous vide et entreposée à 4 °C.

OBJECTIF(S) ET MÉTHODOLOGIE

Objectif : Évaluer l'efficacité de sources naturelles de polyphénols comme agents antimicrobiens et antioxydants lorsqu'ajoutés à la ration des lapins. Alternativement, Micocin®, une culture protectrice (*Carnobacterium maltaromaticum* CB1) autorisée dans les produits de viande transformés, a été ajoutée à la moulée lors du cubage à froid dans le but de moduler la microflore de la carcasse et de la viande.

Des lapines fraîchement sevrées de race Grimaud ont été élevées dans des cages commerciales en groupe de six et nourries *ad libitum* jusqu'à un poids d'abattage minimal de 2,2 kg. Les performances zootechniques (gain de poids, prise alimentaire, conversion alimentaire), la qualité de la viande (pH, couleur, perte en eau, perte à l'entreposage (exudat), perte à la cuisson) de même que la qualité microbiologique sous emballage réfrigéré aérobie et anaérobie ont été mesurés.

¹Département des sciences animales, ²Département de phytologie, ³Institut sur la nutrition et les aliments fonctionnels, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval.

RÉSULTATS SIGNIFICATIFS POUR L'INDUSTRIE

Les premiers essais ont été effectués avec des extraits d'oignons, de canneberges, de fraises et d'huiles essentielles (Xtract™ Instant) à des doses relativement faibles de 10 ppm de composés actifs correspondant à la dose autorisée d'Xtract™ (100 ppm) chez le lapin pour une bonne santé gastro-intestinale. Des effets positifs relativement limités et sporadiques durant l'entreposage réfrigéré ont été observés, surtout en conditions anaérobies et avec les huiles essentielles. Des doses de 5 à 10X plus élevées ont été testées pour l'oignon, l'oignon et la canneberge en combinaison, de même que l'oignon avec Xtract™ sans amélioration importante au niveau du contrôle microbien. En contrepartie, l'effet antioxydant sur les lipides et les protéines ont été significatifs, les composés en combinaison ayant été les plus efficaces.

Les cultures probiotiques ont été largement étudiées pour leurs effets bénéfiques sur la santé des animaux, mais pas pour leur impact sur la salubrité des carcasses et des produits animaux qui en découlent. *C. maltaromaticum* CB1 a été ajouté à la ration des lapins afin d'évaluer si cette culture protectrice homologuée pour les produits de viande prêt-à-manger pouvait moduler positivement la microflore de la viande lorsqu'ingérée du sevrage à l'abattage. En utilisant trois gènes spécifiques, il a été possible de suivre la prévalence de cet organisme dans les fèces et la viande car les animaux recevant la diète témoin ont été isolés dans une salle différente de celle des animaux recevant la diète enrichie avec la culture protectrice; des mesures de biosécurité très strictes ont été établies afin de limiter les contaminations croisées entre les deux groupes. De fait, un meilleur contrôle des *Enterobacteriaceae*, des coliformes, des *Staphylococcus aureus* présumptifs ainsi que de *L. monocytogenes* a été observé en conditions anaérobies avec le groupe recevant la culture protectrice.

Aucune des stratégies nutritionnelles étudiées n'a eu d'effet négatif sur les performances zootechniques ni sur la qualité de la viande.

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET/OU SUIVI À DONNER

Les résultats sur l'amélioration de la stabilité oxydative de la viande par l'ajout de polyphénols de sources naturelles à l'alimentation des animaux peuvent déjà faire l'objet d'une validation à l'échelle commerciale en production cunicole. D'autres sources, seul ou en mélange, pourront être étudiées afin d'optimiser l'effet. Un cubage à froid a été utilisé pour la formation des granules de moulées dans le but de minimiser les pertes d'ingrédients actifs. L'effet du cubage à chaud devra également être évalué pour savoir si l'efficacité biologique des produits résiste à ce traitement thermique particulier. Alternativement, les composés pourraient être protégés par encapsulation comme c'est le cas pour Xtract utilisé dans ce projet.

Quant à la modulation positive de la microflore, maintenant que la preuve de concept a été faite avec la culture protectrice commerciale Micocin® (*C. maltaromaticum* CB1), d'autres microorganismes ou mélange de microorganismes pourraient être étudiés. Plusieurs compagnies d'alimentation animale offrent des formulations de probiotiques vendues pour leur effet bénéfiques sur la santé des animaux. Leurs impacts sur la qualité microbiologique des carcasses, et des produits carnés qui en découlent, pourraient déjà être validés à l'échelle commerciale et en entreposage. De nouvelles souches, plus performantes, pourraient également faire l'objet d'études pour optimiser l'effet positif sur la salubrité des produits carnés.

D'ores et déjà, nos résultats de recherche peuvent être transférés rapidement vers les producteurs en procédant à une validation en conditions commerciales. Par la suite, au fur et à mesure que les recherches se poursuivront pour trouver de nouveaux extraits, molécules, produits plus performants, etc., l'effet positif observé ne pourra qu'être amélioré.

POINT DE CONTACT POUR INFORMATION

Nom du responsable du projet : Prof. Linda Saucier Ph.D., agr., chm.

Téléphone : 418-656-2131 #6295

Télécopieur : 418-656-3766

Courriel : linda.saucier@fsaa.ulaval.ca

Information complémentaire :

Saucier, L. 2016. Microbial spoilage, quality and safety within the context of meat sustainability. Meat Science, 120:78-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.027>

Kone AP*, Cinq-Mars D, Desjardins Y, Guay F, Gosselin A, **Saucier L. 2016.** Effects of plant extracts and essential oils as feed supplements on quality and microbial traits of rabbit meat. World Rabbit Science, 24:107-119. doi:10.4995/wrs.2016.3665

Fortier, M.-P.*, **Saucier, L.**, Guay, F. **2012.** Effects on microbial quality of fresh pork loin during storage from natural polyphenol diet supplementation in pigs. Canadian Journal of Animal Science, 92:465-471.

REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme de soutien à l'innovation en agroalimentaire, un programme issu de l'accord du cadre Cultivons l'avenir conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et Agriculture et Agroalimentaire Canada. Le Syndicat des producteurs de lapins du Québec a gracieusement fourni des animaux, Pancosma SA (Genève, Suisse) les huiles essentielles (Xtract™ Instant) et Nutra Canada Inc. (Champlain, Québec, Canada) les extraits d'oignons, de canneberges et de fraises.

Activités de diffusion et de transfert aux utilisateurs

Comme investigatrice principale, je me suis jointe à la Structure de concertation cunicole, à la demande du Syndicat des producteurs de lapins du Québec (SPLQ), avant même le début de ce projet; Mme Stéphanie Roy, alors Coordinatrice des secteurs cunicole et des oiseaux fermiers, avait recommandé ma participation compte tenu de mon expertise dans le secteur des viandes. De fait, le présent projet, de même que celui soumis à Innov'Action (Projet IA116563 *Optimisation du jeûne préabattage en production cunicole pour préserver la qualité et la conservation des produits de lapin frais et transformés*), sont des actions directes issues de ma collaboration avec le secteur. L'avancement des travaux a été présenté régulièrement à la Table de concertation cunicole (voir l'annexe 1).

La preuve la plus probante que la diffusion et le transfert aux utilisateurs ont été bien faits c'est le dépôt d'un deuxième projet au programme Innov'Action du MAPAQ. Dans le cadre du présent projet PSIA 811206, les premiers lapins ont été abattus chez Canard du Lac Brome (été 2013, abattoir sous inspection fédérale); une durée de transport de sept heures a été nécessaire. Nous avons alors suivi le protocole de mise à jeun demandé par le SPLQ et l'abattoir, soit un minimum 20h de jeûne, sans dépasser 24h. L'analyse de la qualité de la viande a révélé un pH assez élevé, où plusieurs carcasses avaient un pH plus haut que 6, suggérant que les réserves musculaires en glucose-glycogène des animaux étaient limitées avant l'abattage et que ceux-ci avaient fort probablement souffert d'un jeûne trop long. Dans une seconde phase expérimentale (été 2014) nous avons cette fois réduit le jeûne à 15h, dans le but d'obtenir des carcasses avec des pH moins élevés. Les animaux ont été abattus à l'abattoir Pouliot de Saint-Henri de Lévis (abattoir sous inspection provinciale), car celui de Canard du Lac Brome avait cessé ses activités dans le lapin. L'abattoir Pouliot est situé à 45 min du lieu d'élevage, un transport beaucoup plus court a donc été effectué. En comparant les groupes témoins de ces deux phases expérimentales, nous avons observé une amélioration du pH de la viande. Lors de la réunion de la Structure de concertation cunicole du 14 janvier 2015, nous avons appris que le SPLQ n'a pas de données sur la qualité de la viande produite au Québec et n'a, notamment pas d'information sur le pH de la viande. Il devenait évident qu'une étude sur les paramètres influençant la qualité de la viande de lapin produite au Québec s'impose, et c'est d'ailleurs la décision qui a été prise lors de l'Assemblée générale annuelle du SPLQ le 14 novembre 2014. Les producteurs ont décidé d'aller de l'avant et de supporter le projet sur le jeûne pré-abattage compte tenu des résultats obtenus dans le présent projet.

Transfert et leadership scientifiques

Formation de personnels hautement qualifiés :

Une étudiante au doctorat, Amenan Prisca Koné, et un étudiant à la maîtrise, Mohamed Zied Abdelwahead, sont présentement en rédaction de thèse et de mémoire, respectivement. Ils sont tous deux boursiers de leur pays d'origine, respectivement la Côte d'Ivoire et la Tunisie. Prisca s'est concentrée sur les aspects microbiologiques et Zied sur la stabilité oxydative. Pendant ses études, Prisca s'est méritée la bourse Germain Brisson et récemment le Percy Gitelman Memorial Scholarship de l'Association scientifique canadienne de la viande. Le projet a également permis à une immigrante colombienne, Monica Gil, d'obtenir son premier travail au Canada comme professionnelle de recherche.

Articles scientifiques avec évaluation par les pairs :

Kone AP*, Cinq-Mars D, Desjardins Y, Guay F, Gosselin A, Saucier L. 2016. Effects of plant extracts and essential oils as feed supplements on quality and microbial traits of rabbit meat. *World Rabbit Science*, 24:107-119. doi:10.4995/wrs.2016.3665

Kone AP*, Velez-Zea, JM, Gagne D, Cinq-Mars D, Guay F, Saucier L. En correction chez les coauteurs. Application of *Carnobacterium maltaromaticum* as a feed additive for weaned rabbits to improve meat microbial quality and safety. Sera soumis à *Meat Science*.

Présentation orale où les résultats ont été présentés :

Kone AP*, Velez Zea JM*, Cinq-Mars D, Guay F, Saucier L. 2015. Amélioration de la qualité microbiologique des carcasses de lapin par ajout à la ration d'une culture protectrice commerciale. 83^{ème} congrès de l'ACFAS, Section n°207 – Ressources naturelles, Université du Québec à Rimouski (UQAR), 25-29 mai, Rimouski, Qc.

Saucier, L. 2014. Meat microbial quality and safety, From farm to table. Conférence plénière. XVI International Congress in Food Safety, 6-8 November (7 Nov), Nuevo Vallarta, Nayarit, Mexique.

Saucier L. 2016. Microbial spoilage, quality and safety within the context of meat sustainability. The 62nd International Congress on Meat Science and Technology, 13-19 août, Bangkok, Thaïlande. À titre de "Keynote Speaker", mon déplacement a été remboursé par le comité organisateur du congrès.

Compte-rendu de conférence :

Saucier, L., Koné, A.P.*, Gagné, D., Cinq-Mars, D. Guay, F. 2016. Positive modulation of meat microbial ecology by feeding strategies. 62nd International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST), August 13-19th, Bangkok, Thaïlande.

Présentation d'affiches :

- Koné AP*, Cinq-Mars D, Desjardins Y, Guay F, Gosselin A, Saucier L. 2013. Effets de l'ajout d'extrait d'oignon, de fraise, de marc de canneberge et d'huiles essentielles sur la qualité microbiologique de la viande de lapin. Journée de la recherche de la Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval, 26 novembre, Québec, Qc.
- Koné, AP*, Cinq-Mars, D, Desjardins, Y, Guay, F, Gosselin, A, Saucier, L. 2014. Improvement of rabbit meat microbial quality by feed supplementation with natural sources of polyphenols. Symposium annuel de l'Association scientifique canadienne de la viande (ASCV), 7-9 mai, Toronto, ON. Meat Science 99 (2015): 145.
- Koné AP*, Velez Zea JM*, Abdelwahed MZ*, Cinq-Mars D, Guay F, Desjardins Y, Gosselin A, Saucier L. 2015. Amélioration de la qualité microbiologique des carcasses de lapin par ajout à la ration d'une culture protectrice commerciale. Journée de la recherche de la Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval, 20 mai, Québec, Qc.
- Koné, AP, Abdelwahed, MZ, Cinq-Mars D, Guay F, Desjardins Y, Gosselin A, Saucier L. 2016. Stratégies nutritionnelles à base d'extraits de plantes et d'huiles essentielles pour améliorer la qualité de la viande de lapin. Symposium des étudiants membres de l'INFA, 28 avril, Québec, Qc.
- Koné AP*, Abdelwahed MZ*, Cinq-Mars D, Desjardins Y, Guay F, Gosselin A, Saucier, L. 2016. Improvement of rabbit meat microbial quality by feed supplementation with plant extracts and essential oils. 96th Annual Canadian Meat Council Conference 27-29 sept., Ottawa, ON.
- Abdelwahed MZ*, Koné AP*, Cinq-Mars D, Desjardins Y, Guay F, Gosselin A, Saucier, L. 2016. Improvement of rabbit meat oxidative status using feeding strategies. 96th Annual Canadian Meat Council Conference 27-29 sept., Ottawa, ON.

Leadership scientifique :

L'équipe investie dans ce projet de recherche est devenue un incontournable canadien en recherche cunicole. Plusieurs professeurs du Département des sciences animales de l'Université Laval ont également été codemandeurs sur l'appel à projets de l'Agence canadienne d'inspection des aliments sur l'homologation de médicaments pour le lapin, projet déposé en collaboration avec le Prof. Jérôme Del Castillo de la Faculté de médecine vétérinaire. Plus récemment, les affiches présentées au 96th Annual Canadian Meat Council Conference à Ottawa, en septembre dernier, ont été particulièrement bien reçues, notamment par l'équipe de la directrice adjointe, section de la viande rouge d'Agriculture et agroalimentaire Canada, Mme Patti Negrave (voir l'annexe 2).

Réalisations scientifiques et avancement des connaissances

Polyphénols dans le sang

Lors de l'évaluation du projet, on nous avait demandé d'inclure une analyse sanguine pour s'assurer qu'une absence d'effet ne serait pas liée à un problème d'assimilation des molécules actives. Pour répondre à cette demande, une première phase animale avec 5 lapines pour le groupe contrôle et le groupe dont la ration avait été supplémentée à 10 ppm de polyphénols, provenant d'un extrait d'oignon, a été effectuée. Les animaux ont reçu la ration témoin pendant une semaine et la supplémentation a suivi pendant trois semaines avant la mise à jeun et les prélèvements sanguins à 0, 5, 10, 15 et 20h. Le potentiel antioxydant du plasma, mesuré par la méthode H-ORAC, indique que celui-ci diminue avec le jeûne préabattage. La mesure de la teneur totale de DHPA, Proto, HPA et HPA-2 mesurée par LC-MS/MS va dans le même sens tout comme la teneur totale en dérivés de quercétine. Donc, les composés actifs issus des polyphénols de la ration passent bien dans le sang.

Incorporation des polyphénols à faibles doses

Un total de 240 lapines sevrées de race Grimaud a été divisé en cinq groupes expérimentaux de 48 animaux à raison de 6 animaux par cage. Soucieux des coûts de production et des problèmes d'appétence pouvant être causés par les ajouts à la ration, une dose faible de 10 ppm d'ingrédients actifs a d'abord été utilisée. Cette faible concentration correspond à la dose permise de Xtract™ (100 ppm à 10% d'ingrédients actifs) chez le lapin pour une bonne santé gastro-intestinale.

Groupe 1 : témoin

Groupe 2 : huiles essentielles (Xtract™ Instant, Pancosma SA)

Groupe 3, 4 et 5 : extraits d'oignons, de fraises et de canneberges, respectivement (Nutra Canada Inc.)

Les résultats de cette expérience sont déjà publiés et présentés à l'annexe 2.

Incorporation des polyphénols à doses élevées et en combinaison

La même expérience a été répétée à des doses beaucoup plus élevées soit

Groupe 1 : témoin

Groupe 2 : 1000 ppm d'extrait d'oignons

Groupe 3 : 500 ppm d'extrait d'oignons

Groupe 4 : 500 ppm d'extrait d'oignons et 500 ppm d'extrait de canneberges

Groupe 5 : 500 ppm d'extrait d'oignons et 100 ppm de Xtract

Les résultats de cette expérience ont été présentés sous forme d'affiche au 96th Annual Canadian Meat Council Conference; l'affiche se trouve à l'annexe 2.

Conclusion sur le pouvoir antimicrobien des polyphénols, lorsqu'ajouté à la ration des lapins :

Les résultats de l'ajout de polyphénols de sources naturelles (oignon, canneberge, fraise, huiles essentielles) à l'alimentation des lapins sur la qualité microbiologique de la viande ont été positifs, mais variables pendant l'entreposage et avec des réductions logarithmiques relativement modestes à faibles des comptes microbiens; nous avons observé des résultats semblables à des doses plus élevées en polyphénols.

Pouvoir antioxydant des polyphénols sur la viande hachée

La viande hachée issue des animaux ayant reçu des doses élevées de polyphénols a été entreposée à 4 °C pendant 9 jours à l'abri de la lumière. L'oxydation des lipides a été évaluée par la méthode TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) et les protéines par la méthode DNPH (2,4-dinitrophenylhydrazine) qui mesure les carbonyles. Les résultats ont été présentés sous forme d'affiche au 96th Annual Canadian Meat Council Conference ; l'affiche se trouve à l'annexe 2. Le pouvoir antioxydant, des polyphénols ajoutés à la ration, autant sur les lipides que les protéines, est très net, et ce plus particulièrement quand on les utilise en mélange. Ainsi, les effets des polyphénols sur la qualité de la viande ne sont pas tant au niveau antimicrobien, mais plutôt antioxydant.

Modulation positive de la microflore de la carcasse avec une culture protectrice commerciale, Micocin®

Puisque les étudiants gradués participant dans ce projet étaient boursiers, et grâce à une gestion judicieuse et serrée du budget, il a été possible d'ajouter une autre phase animale pour inclure une étude visant à gérer la microflore par exclusion compétitive en utilisant une bactérie lactique, *Carnobacterium maltaromaticum* CB1, vendue commercialement sous le nom de Micocin® comme culture protectrice pour les produits prêt-à-manger. Cette stratégie est issue des résultats générés dans le cadre d'un autre projet PSIA dans lequel des probiotiques commerciaux avaient été servis à des porcs deux semaines avant l'abattage (PSIA no). Les résultats de cette expérience suggèrent qu'il n'est pas facile de moduler une microflore déjà bien établie. C'est pourquoi nous avons alimenté ici les lapins avec la culture protectrice du sevrage à l'abattage. Les résultats de cette expérience démontrent que l'enrichissement de l'alimentation des animaux d'élevage avec une microflore désirable améliore l'innocuité des

produits de viande qui en découlent. Ils réitèrent également l'importance d'élever nos animaux dans les meilleures conditions d'hygiène possible. Les résultats sont présentés sous forme d'article à l'annexe 2 et sont présentement en correction chez les coauteurs avant soumission au journal scientifique Meat Science.