

**COLLOQUE DE CLOTURE
DU PROGRAMME NATIONAL DE RECHERCHE
EN ALIMENTATION ET NUTRITION HUMAINE**

**PNRA
Edition 2005**



10 au 12 mars 2009

**Perception sensorielle et comportement du consommateur
Nutrition
Qualité et sécurité des aliments**

SOMMAIRE

Programme	Page 3
❖ <u>SESSION 1. PERCEPTION SENSORIELLE ET COMPORTEMENT DU CONSOMMATEUR</u>	
AROMALIM : Représentations sensorielles de l'arôme des aliments & état nutritionnel : de la réception à la cognition. Rémi GERVAIS	Page 9
NUTRISENS : Détection des nutriments et contrôle de la prise alimentaire : Impact des déséquilibres nutritionnels. Luc PENICAUD	Page 13
GLUTAMATE : Les récepteurs du goût du L. Glutamate. Annick FAURION	Page 16
EDUSENS : Effet d'une éducation sensorielle sur les préférences et les comportements alimentaire d'enfants âgés de 8 à 10 ans. Pascal SCHLICH	Page 20
❖ <u>SESSION 2. NUTRITION</u>	
COMPALIMAGE : Comportements alimentaires et qualité du vieillissement. Rôle du statut inflammatoire, du stress oxydant, de l'insulino-résistance et de certains facteurs génétiques. Serge HERCBERG	Page 27
CANCERALCOOL : Consommation de boissons alcoolisées (vin, bière et alcools forts) et mortalité par différents types de cancers sur une cohorte de 100 000 sujets suivie depuis 25 ans. Dominique LANZMANN-PETITHORY	Page 30
TRANSQUAL : Les acides gras trans d'origine naturelle dans la chaîne alimentaire laitière. Comparaison avec leurs homologues d'origine technologique. Jean-Michel CHARDIGNY	Page 35
MONA LISA-NUT : Relations entre les habitudes alimentaires et la prévalence des facteurs de risque cardiovasculaire dans trois régions. Chantal SIMON	Page 39
POLNUTRITION : Politiques Nutritionnelles, Régulation des Filières Alimentaires et Consommation. Philippe BONTEMS	Page 45
TREMBLATYPIC : Investigations sur les cas d'encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles atypiques chez les petits ruminants. Jacques GRASSI	Page 49
❖ <u>SESSION 3. QUALITE ET SECURITE DES ALIMENTS</u>	
VDQA : Vins de Qualité à teneur réduite en Alcool. Jean-Louis ESCUDIER	Page 55
PASTALEG : Conception d'aliments à base de blé dur et de légumineuses : Contribution de la structuration des constituants à leurs qualités nutritionnelles et organoleptiques. Valérie MICARD	Page 61
SIMPFRI : Sûreté, Innovation et Maîtrise de l'Energie dans les Procédés et équipements FRIgorifique. Jacques GUILPART et Graciela ALVAREZ	Page 63
SCN BEER : Les staphylocoques à coagulase négative dans les fromages, les salaisons et les ateliers de fabrication : Evaluation de la biodiversité et des risques sanitaires. Michel GAUTIER	Page 68
B CEREUS : Nouvelle approche et nouveaux outils pour étudier l'émergence d'une bactérie pathogène dans les filières alimentaires - Le cas de <i>Bacillus cereus</i> dans les produits non stériles traités thermiquement. Christophe N'GUYEN THE	Page 73
GENOFERMENT : Compréhension du fonctionnement d'espèces microbiennes cibles dans des matrices alimentaires et origine de leur diversité génétique. Koenraad DUHEM et Sylvie LORTAL	Page 77
STEC : Analyse de la supériorité écologique conférée, par l'acido-résistance, à des <i>Escherichia coli</i> producteurs de shigatoxines (STEC), de la fourche à la fourchette. Christine VERNOSY-ROZAND ...	Page 81
ID-TAG : Traçabilité de la chaîne du froid et durée de vie des aliments frais. Renaud VAILLANT (Cryolog) Présentation de Dominique THUAULT (ADRIA Développement)	Page 84
Listes des participants	Page 88

PROGRAMME

1er COLLOQUE FINAL DU PROGRAMME NATIONAL DE RECHERCHE EN ALIMENTATION ET NUTRITION HUMAINE PROJETS 2005

Après-midi du 10 mars 2009

13h30 : Accueil participants

14h00 : Introduction par Jacqueline LECOURTIER, Directrice de l'ANR et
Yves Bayon DE NOYER, Président du comité de pilotage du programme.
Objectifs des journées.

Session 1 : Perception sensorielle et comportement du consommateur

Président de séance : Patrick ETIEVANT

14h30 : **AROMALIM** : *Représentations sensorielles de l'arôme des aliments et état nutritionnel : de la réception à la cognition.*
Rémi GERVAIS - Neurosciences sensorielles, UMR CNRS/Univ. Lyon 1

15h30 : **NUTRISENS** : *Détection des nutriments et contrôle de la prise alimentaire : impact des déséquilibres nutritionnels.*
Luc PENICAUD - Neurobiologie Plasticité Tissulaire et Métabolisme Energétique, UMR CNRS/Univ. Toulouse 1

16h30 : *Pause*

17h00 : **GLUTAMATES** : *Les récepteurs au goût du L-glutamate*
Annick FAURION - Neurobiologie de l'olfaction et de la prise alimentaire, UMR Inra/Univ. Paris 11 Jouy en Josas

17h30 : **EDUSENS** : *Effet d'une éducation sensorielle sur les préférences et les comportements alimentaires d'enfants âgés de 8 à 10 ans.*
Pascal SCHLICH - Centre Européen des Sciences du goût, UMR CNRS/Univ. Bourgogne/Inra Dijon

18h30 Fin de la première session

Session 2 : Nutrition

Président de séance : Ambroise MARTIN

09h00 : **COMPALIMAGE** : *Comportements alimentaires et qualité du vieillissement. Rôle du statut inflammatoire, du stress oxydant, de l'insulino-résistance et de certains facteurs génétiques.*

Serge HERCBERG - Épidémiologie nutritionnelle, UMR Inserm/Inra/Cnam/Univ. Paris 13

10h00 : **CANCERALCOOL** : *Consommation de boissons alcoolisées (vin, bière et alcools forts) et mortalité par différents types de cancers sur une cohorte de 100 000 sujets suivie depuis 25 ans.* Dominique LANZMANN-PETITHORY - GESVAB, Univ. Bordeaux 2

10h30 : *Pause*

11h00 : **TRANSQUAL** : *Les acides gras trans d'origine naturelle dans la chaîne alimentaire laitière. Comparaison avec leurs homologues d'origine technologique.*

Jean-Michel CHARDIGNY - UNH, UMR Inra/Univ. Clermont 1

12h00 : **MONALISA NUT** : *(Monitoring national du risque artériel – nutrition). Relations entre les habitudes alimentaires et la prévalence des facteurs de risque cardiovasculaire dans trois régions françaises.* Chantal SIMON – EA 1801, Univ. Strasbourg

12h45 : *Déjeuner sur place*

13h45 : **POLNUTRITION** : *Politiques nutritionnelles, régulation des filières alimentaires et consommation.* Philippe BONTEMS – Unité MAIA, Inra Toulouse

14h30 : **TREMBLATYPIC** : *Investigations sur les cas d'encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles atypiques chez les petits ruminants.*

Jacques GRASSI - Service de pharmacologie et d'immunologie, CEA Gif- sur-Yvette

15h00 : *Pause*

Session 3 : Qualité et sécurité des aliments

Président de séance : Marie-Hélène CHASSAGNE

15h30 : **VDQA** : *Vins de qualité à teneur réduite en alcool.*

Jean-Louis ESCUDIER - Unité expérimentale de Pech Rouge, Inra Gruissan

16h30 : **PASTALEG** : *Conception d'aliments méditerranéens à base de blé dur et de légumineuses : contribution de la structuration des constituants à leurs qualités nutritionnelles et organoleptiques.*

Valérie MICARD - Ingénierie des agropolymères et technologies émergentes (IATE), Inra/Cirad/Supagro Montpellier

17h00 : **SIMPRI** : *Sûreté, innovation et maîtrise de l'énergie dans les procédés et équipements frigorifiques.*

Jacques GUILPART - Génie des procédés frigorifiques, Cemagref Antony

18h00 Fin de la journée

Matin du 12 mars 2009

09h00 : **SCN/BEER** : *Les staphylocoques à coagulase négative dans les fromages, les salaisons et les ateliers de fabrication : évaluation de la biodiversité et des risques sanitaires.*

Michel GAUTIER - Science et technologie du lait et de l'œuf, (STLO)

Inra/Agrocampus Rennes

10h00 : **B CEREUS** : *Nouvelle approche et nouveaux outils pour étudier l'émergence d'une bactérie pathogène dans les filières alimentaires. Le cas de Bacillus cereus dans les produits non stériles traités thermiquement.*

Christophe NGUYEN-THE - Sécurité et qualité des produits d'origine végétale (SQPOV), Inra/Univ. Avignon

11h00 : *Pause*

11h30 : **GENOFERMENT** : *Compréhension du fonctionnement d'espèces microbiennes cibles dans des matrices alimentaires et origine de leur diversité génétique.*

Koenraad DUHEM - CNIEL (Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière), Paris

12h30 : **STEC** : *Analyse de la supériorité écologique conférée, par l'acido-résistance, à des Escherichia coli producteurs de shigatoxines, de la fourche à la fourchette.*

Christine VERNOZY-ROZAND - Microbiologie, École nationale vétérinaire de Lyon

13h15 : **ID-TAG** : *Traçabilité de la chaîne du froid et durée de vie des aliments frais.*

Dominique THUAULT - ADRIA développement

13h45 Buffet

14h00 Fin colloque

SESSION 1.

PERCEPTION SENSORIELLE ET COMPORTEMENT DU CONSOMMATEUR



*Représentations sensorielles de l'arôme des aliments & état nutritionnel :
de la réception à la cognition*

L'ensemble du projet avait pour objectif de mieux comprendre comment l'information sensorielle olfactive issue des aliments est traitée et intégrée en fonction de l'état interne et de l'expérience du sujet et comment en retour l'information olfactive module la prise alimentaire. Le projet était divisé en 3 workpackages (WP) complémentaires et concernait 14 équipes (voir annexe). Les enjeux scientifiques spécifiques du projet concernent la compréhension 1) de la perception des mélanges odorants, du traitement périphérique aux processus perceptifs, 2) de l'importance de la relation réciproque entre état métabolique interne et perception sensorielle et 3) des règles et mécanismes qui sous-tendent les apprentissages alimentaires. L'originalité du projet est de proposer une approche en parallèle chez l'homme et l'animal. Les défis techniques tiennent notamment à la mise au point de nouvelles épreuves comportementales chez l'animal et chez l'Homme pour l'étude du comportement alimentaire, à l'application de méthodes d'étude originales concernant l'interaction entre odorants et récepteurs olfactifs et enfin à l'utilisation de méthodes novatrices d'imagerie cérébrale chez l'animal et chez l'Homme

WP1 Codage des odeurs alimentaires : de la réception à la perception de l'image sensorielle *Jean Claude Pernellet et Catherine Ronin. (Equipes 3, 4, 5, 6, 7 et 10)*

L'objectif était d'accroître notre compréhension du codage périphérique et centrale des odeurs alimentaires. Nous avons étudié les interactions qui ont lieu à plusieurs niveaux du traitement de l'information olfactive, depuis la réception par le neurone primaire jusqu'à la perception sensorielle. Les odeurs alimentaires étant constituées de mélanges d'odorants l'une des questions centrale était de mieux comprendre le traitement périphérique et central des mélanges. Une approche intégrée fondée sur l'étude des mêmes odorants a permis de caractériser l'interaction entre molécules odorantes d'un mélange et d'en construire un modèle mathématique prédictif. Les approches expérimentales reposaient sur des études de biologie moléculaire, d'électrophysiologie et sur des études de psychophysiques. Les efforts collaboratifs des différentes équipes convergent pour construire un schéma général du codage précoce des odeurs, le premier du genre selon nos sources. En dépit de systèmes expérimentaux diversifiés et d'une approche verticale (moléculaire/tissulaire/ intégrée), l'ensemble des résultats indiquent une séquence ordonnée de la réception des odorants comme celle des mélanges odorants. De fait, des contrôles ordonnés génèrent une séquence d'évènements précoces qui est la suivante : 1) la prise en charge des odorants par une protéine porteuse et/ou modification des odorants par des enzymes de détoxification spécifique par la muqueuse olfactive. 2) une modulation des sites récepteurs disponibles par l'olfactory binding protein » (OBP) liée. 3) des interactions complexes des odorants sur les sites récepteurs comportant plusieurs groupes d'agonistes et des antagonistes compétitifs. 4) la synergie ou le masquage du signal au niveau des neurones olfactifs avec très probablement une régulation subtile de la transduction du signal par le calcium intra et extracellulaire. 5) enfin une intégration sensorielle de l'odeur différente selon la voie de réception ortho ou rétronasale avec des effets de masquage pour certains mélanges d'odorants

Le travail du WP1 confirme le rôle déterminant des étapes précoces de la réception et jette les bases d'un codage combinatoire exponentiel conduisant pour chaque odorant au sein de mélanges différents à la genèse d'une image olfactive spécifique tant qualitative que quantitative. Ces résultats n'auraient pas pu être acquis pendant la durée du contrat par une équipe voire deux isolées.

WP2 Interactions entre informations olfactives, métaboliques et état nutritionnel *Patricia Viret (Equipes 3, 12, 13 et 14)*

Ce groupe de travail a étudié les interactions entre l'information sensorielle olfactive et l'état nutritionnel et métabolique dans le but de mieux comprendre certains des déterminismes des comportements alimentaires normaux et physiopathologiques. Les principales questions abordées sont : 1) comment l'odeur alimentaire est-elle intégrée à niveau du SNC en fonction de l'état alimentaire ? 2) quelles sont les conséquences métaboliques de la perception de l'odeur alimentaire sur les fonctions métaboliques ? Où et comment l'état métabolique module le traitement de l'odeur alimentaire ? Il s'agit de travaux chez l'animal témoin et chez des souches de rats typiquement maigres et obèses. Les données comportementales, électrophysiologiques et métaboliques sont obtenues à l'état de faim et de satiété. Une attention particulière a été accordée à l'étude de l'impact sur les structures olfactives de peptides comme l'orexine, l'insuline et la leptine dont on connaît par ailleurs l'importance dans la régulation de la prise alimentaire. Nous avons notamment mis en évidence la présence de récepteurs à ces peptides au niveau de la muqueuse olfactive et du bulbe olfactif. Nous avons mesuré l'impact de ces peptides sur l'activité neuronale et sur la sensibilité aux odeurs. La carte d'activation neuronale aux odeurs alimentaires est fortement augmentée dès le niveau du bulbe olfactif par l'état de faim ; cette augmentation est supprimée lors d'une l'injection de leptine ou d'antagonistes des récepteurs à l'orexine. Par ailleurs les approches par la biologie moléculaire ont permis de révéler dans quelle mesure l'état de faim module l'expression de certains gènes au niveau de la muqueuse olfactive. Parmi les 15 gènes qui voient leur taux d'expression modulée se trouve une « Olfactory binding protein ». (OPB) dont a pour fonction de moduler l'accès des molécules odorantes aux sites accepteurs.

L'ensemble des travaux révèle de nouveaux mécanismes tant au niveau central que périphérique qui permettent au statut métabolique de l'animal de réguler finement la sensibilité du système olfactif aux odeurs.

WP 3 Odeurs alimentaires et mémoire : circuits neuronaux et comportement) *Anne-Marie Mouly (Equipes N°1, 2, 5, 8 et 11)*

L'odeur d'un aliment donné est inévitablement associée aux autres propriétés de cet aliment, que ce soit ses caractéristiques immédiates (goût, apparence visuelle, texture, nom) ou différées (conséquences post-ingestives). Par le biais de ces diverses associations, l'odeur acquiert progressivement une valeur hédonique, positive ou négative, qui peut être rappelée de notre mémoire et influencer notre comportement vis à vis de cet aliment (consommer ou rejeter). Nous avons étudié les mécanismes qui sous-tendent d'une part la formation par apprentissage associatif du caractère appétitif ou aversif de l'odeur et d'autre part le rappel de cette représentation en mémoire. Ces questions ont été abordées en parallèle chez l'animal et chez l'Homme. Chez l'animal des études comportementales ont permis de révéler l'importance respective de la perception olfactive ortho et rétronasale dans l'acquisition et le rappel d'une aversion olfactive conditionnée. L'étude des bases neuronales de l'aversion olfactive a permis de confirmer la participation de l'amygdale et de mettre en évidence une réponse électrophysiologique caractéristique à l'odeur apprise dans un réseau spécifique de structures cérébrales. Alors que l'aversion alimentaire est largement étudiée, peu de travaux se consacrent à l'acquisition des préférences alimentaires. C'est pourquoi nous avons mis au point un protocole original chez le rat qui permet d'en étudier les bases neuronales. Nous avons ainsi mis en évidence que la préférence olfacto-gustative met en jeu la convergence d'informations vers certains neurones du cortex insulaire. Par ailleurs, nous avons étudié l'influence des expériences olfactives néonatales sur le comportement à l'âge adulte. Nous avons ainsi montré que des conditionnements olfactifs précoces (chez le raton) avaient des incidences sur différents types d'apprentissages olfactifs à l'âge adulte, que ce soit au niveau de la performance

comportementale ou à celui du réseau neuronal sous-jacent. Enfin, chez l'Homme, nous avons montré que l'exposition répétée aux odeurs alimentaires induisait une préférence pour ces odeurs, corrélée à un raccourcissement des latences des potentiels évoqués olfactifs, ce qui traduit une facilitation du traitement de l'odeur alimentaire. Par ailleurs les résultats d'imagerie cérébrale ont été plus particulièrement analysés dans le cadre de la théorie du traitement du signal. Notamment, nous avons pu mettre en évidence des réseaux neuronaux spécifiques associés à la reconnaissance correcte ou incorrecte d'odeurs présentées au préalable.

Par rapport aux enjeux de ce programme de recherche PNRA 2005, notre contribution concerne la thématique Comportement du consommateur. Les recherches menées dans le cadre de notre projet AROMALIM ont contribué de façon significative à la connaissance des mécanismes et des règles de la formation de l'image sensorielle, de l'incidence de l'état physiologique sur la réponse comportementale et neuronale aux odeurs alimentaires et des mécanismes neuronaux qui sous-tendent les apprentissages des préférences et des aversions alimentaires. Le programme ouvre des perspectives nouvelles vers des études coordonnées chez l'animal et chez l'Homme sur ces questions.

Les équipes d'AROMALIM

Nom Prénom	Organisme et unité d'appartenance	Adresse
RAVEL Nadine	CNRS UCBL	CNRS UMR 5020 Neurosciences Sensorielles, comportement, cognition (NSCC) - Lyon
ROUBY Catherine	CNRS UCBL	UMR 5020 NSCC
DUCHAMP-VIRET Patricia	CNRS UCBL	UMR 5020 NSCC
PERNOLLET Jean Claude	INRA	INRA – Unité NOPA - Jouy-en-Josas
SULMONT Claire d'ANGUIN Thomas	INRA	INRA - UMR FLAVIC - Dijon
RONIN Catherine	CNRS Univ Aix Marseille	CNRS Neuroglycobiologie - UMR 6149 Marseille
LE BON Anne Marie	INRA	INRA - UMR Toxicologie alimentaire - Dijon
BARKAT Melissa	CNRS	CNRS - ICAR PRAXILING UMR 5191 - Montpellier
VALENTIN Dominique	CNRS INRA Univ	CNRS INRA UMR 5170 – CESG - Dijon
ROSPARS Jean Pierre	CNRS Université	INRA UMR Physiologie de l'insecte, signalisation et communication - Versailles cedex
FERREIRA Guillaume	INRA	INRA UMR 6175 - Physiologie de la Reproduction et des Comportements - Nouzilly
CAILLOL Monique	INRA	INRA – Unité NOPA - Jouy-en-Josas
DUCHAMPS Claude	CNRS UCBL	UMR 5132 CNRS-UCBL1, Villeurbanne
BONNY Jean Marie	INRA	STIM INRA Centre de Theix, Saint-Genes Champanelle

NOTES

NUTRISENS Coordinateur : Luc PENICAUD

Détection des nutriments et contrôle de la prise alimentaire : Impact des déséquilibres nutritionnels

La compréhension des mécanismes de contrôle de la prise alimentaire est identifiée comme une des priorités dans les pays industrialisés. Indépendamment de l'aspect invalidant tant physique que psychologique, les conséquences pathologiques des troubles de l'ingestion chez l'homme constituent une charge sociétale supérieure, en termes de dépenses de santé, à celles qui sont liées à des pathologies comme le cancer.

La sensibilité viscérale en provenance du tractus digestif est un élément essentiel du contrôle à court terme de l'ingestion, notamment au travers de la modulation de la satiété et de l'aversion alimentaire. Le processus de détection de l'information nutritionnelle procède soit d'une détection via les cellules entérochromaffines, soit d'une interaction directe avec les neurones intrinsèques du système nerveux entérique (SNE). Des mécanismes de détection des nutriments existent également dans le circuit veineux hépatoportal. La remontée de l'information nerveuse vers le cerveau (SNC) se fait principalement par le nerf vague avec une intégration centrale au niveau du bulbe, suivie par des projections multiples vers des structures supérieures. La remontée de l'information par voie humorale implique des hormones ou peptides gastro-intestinaux ou d'autres origines. De nombreuses données montrent également un effet direct au niveau cérébral des principales classes de nutriments. D'autre part il a été démontré que l'exposition préalable à une alimentation déséquilibrée affecté l'effet satiétogène de certains nutriments ainsi que leur détection.

L'objectif principal de **Nutrisens** était d'étudier les différentes voies impliquées dans la détection des nutriments tant au niveau périphérique (tractus digestif) que dans le système nerveux central (cerveau). Des approches *in vivo* et *in vitro* ont été utilisées dans des modèles complémentaires rongeurs et porc. Ce projet a reposé sur des interactions fortes entre dix équipes affiliées à différents organismes de recherche (3-CNRS, 3-INRA, 4-INSERM et Universités) ayant des compétences et approches complémentaires.

Les nombreux résultats obtenus dans le cadre du projet **Nutrisens** ont permis des avancées substantielles concernant: 1) l'importance relative des différents sites de détection (duodénum, veine porte, cerveau) pour chaque classe de nutriments (lipides, glucides et acides aminés); 2) les mécanismes cellulaires et moléculaires permettant la détection des nutriments à ces différents niveaux; 3) leurs altérations lors de régimes de type occidental. Cette approche intégrée, utilisant de multiples outils disponibles dans chacune des équipes impliquées, a représenté un élément-clé du projet.

Ainsi on peut rapporter comme résultats principaux mais non exhaustifs : 1) que bien que des différences inter espèces existent, les lipides sont détectés au niveau central et duodéal et le glucose principalement au niveau portal; 2) la cartographie des centres nerveux impliqués a été précisé par imagerie cérébrale chez le porc ; 3) la mitochondrie via les espèces actives de l'oxygène, qu'elle produit, joue un rôle central dans la détection cellulaire des nutriments et que des perturbations de ce système existent dans des conditions de prise alimentaire anormales; 4) la démonstration de la mise en jeu d'une protéine particulière dans la détection des acides aminés au niveau cérébral ; 5) le rôle du Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1) comme modulateur des effets de certains nutriments sur la prise alimentaire ; 6) les voies neuronales mises en jeu sont différentes chez des animaux en régime riche ; 7) de même les fonctions de la barrière hématoencéphalique, et du système nerveux entérique sont perturbées.

Outre les avancées sur les déterminants biologiques de la prise alimentaire, la perception de la qualité par l'organisme, l'intégration de ces déterminants par le système nerveux central, le programme **Nutrisens** ouvre de nombreuses perspectives. Ainsi, s'il a permis de montrer chez l'animal les effets de l'état physiologique et des caractéristiques des aliments ; ses données doivent être confirmées dans l'espèce humaine. Il devrait également déboucher sur une meilleure

compréhension des déterminants et processus de formation de l'image sensorielle en combinant les données obtenues sur les qualités sensorielles externes de l'aliment et celles qui sont décrites ici de détection de signaux internes à l'organisme.

L'ensemble de ces facteurs sont des facteurs clés influençant l'évolution des comportements alimentaires.

Equipes partenaires

Equipe N°	Nom Prénom	Adresse
1	PENICAUD Luc	UMR 5018 CNRS/ Univ Paul Sabatier, BP 84225 31432 Toulouse Cedex 4
2	AKAOKA Hidéo	INSERM U.433/Univ Lyon1 Faculté de Médecine Laennec Rue G. Paradin 69372 Lyon cedex 08
3	BURCELIN Rémy	UMR 5018 CNRS/Univ Paul Sabatier BP 84225 31432 Toulouse Cedex 4
4	FAFOURNOUX Pierre	UNMP, INRA de THEIX 63122 St Genes Champanelle
5	LAVIALLE Monique	NSA U909 INRA Domaine de Vilvert 78352 Jouy en Josas
6	MAGNAN Christophe	UMR 7059 CNRS, Case courrier 7126 75251 Paris Cedex 05
7	MALBERT Charles-Henri	MR SENAH INRA 35590 Saint-Gilles
8	MITHIEUX Gilles	INSERMU.449/INRA1235/Univ Lyon1 Faculté de Médecine Laennec Rue G. Paradin 69372 Lyon cedex 08
9	NAVEILHAN P	INSERM UMR 643, 30Bd Jean Monnet 44093 Nantes
10	NEUNLIST M	INSERM UMR 539, 1, rue Gaston Veil 44000 NANTES

NOTES

Le goût du glutamate

Coordinateur : Annick FAURION

Les récepteurs du goût du L.Glutamate

Le projet a été engagé dans le but de comprendre les mécanismes de perception de la qualité par le consommateur, les facteurs biologiques déterminant la formation de l'image sensorielle, en tenant compte des apprentissages.

Nous avons réalisé sur 310 sujets dont 142 indépendants génétiquement une catégorisation en sujets sensibles, spécifiquement agueusiques ou hypogueusiques pour le glutamate, fondée sur une évaluation quantitative de la sensibilité pour ce composé sapide, après familiarisation. On a vérifié que les sujets peu ou non sensibles étaient normalement sensibles à d'autres composés sapides dont le saccharose. Nous avons montré par RT-PCR et immunohistochimie à partir de bourgeons du goût prélevés sur les sujets que les récepteurs candidats de la littérature Tas1R1-Tas1R3 sont exprimés de manière équivalente chez tous les sujets sensibles ou non sensibles au glutamate ; par contre, nous avons trouvé et décrit (*Raliou et al, 2009, 1*) des polymorphismes nucléotidiques nouveaux qui changent l'acide aminé dans la protéine exprimée (nsSNP) dont la prévalence est significativement différente chez les sujets sensibles comparativement aux agueusiques au glutamate. Donc, cette étude de la relation **phénotype – génotype** (*Raliou et al, in press, 2*) à l'échelle individuelle confirme que le principal récepteur candidat dans la littérature (dimère Tas1R1-Tas1R3) est bien impliqué dans la signalisation du glutamate chez l'homme. C'est un résultat original. Ces résultats sont confirmés par l'expression fonctionnelle de ces récepteurs in vitro qui montrent, pour les différents récepteurs sauvage et mutés, des réponses en accord avec les résultats in vivo (*Raliou et al., en préparation, 3*).

Cependant, il ne peut pas être seul responsable de cette sensibilité : aucun de ces nsSNPs n'est ni suffisant ni nécessaire pour caractériser spécifiquement des sujets agueusiques au glutamate. Dix-sept sujets agueusiques ou hypogueusiques sur 48 ne présentent aucune mutation sur ces deux gènes.

En outre, les SNPs que nous observons dans le mGluR1 (récepteur métabotrope du système nerveux central) contribuent de manière statistiquement significative à expliquer la variance de sensibilité interindividuelle. Si l'on ajoute ce récepteur, seuls deux sujets sans mutation et non sensibles au glutamate sur 48 restent inexplicables, indiquant la contribution de mGluR1. On confirme donc, avec les patterns de mutations dans trois récepteurs, l'hypothèse de travail selon laquelle d'autres récepteurs pourraient contribuer à signaler le glutamate.

De plus, les enregistrements de la corde du tympan du hamster montrent que les antagonistes CNQX (inhibiteur des récepteurs AMPA/kaïnate au glutamate du système nerveux central) et MSOP (inhibiteur des mGluRs de type III et préférentiellement mGluR4) réduisent l'amplitude de la réponse de la corde du tympan au MSG (glutamate monosodique) appliqué sur la langue mais pas celle de la réponse au NaCl. Ceci renforce la notion que d'autres récepteurs que le dimère Tas1R1-Tas1R3 peuvent signaler le glutamate. Chez l'homme, certains agonistes (acide homoadipique, acide homocystéique, etc.) de ces mêmes récepteurs présentent également un goût très proche de celui que suscite le glutamate.

Dans le même ordre d'idées, les enregistrements unitaires de neurones gustatifs périphériques montrent que les agonistes des récepteurs du SNC au glutamate (ionotropiques AMPA/kaïnate et métabotropiques mGluRs) peuvent donner des réponses sous la forme d'inhibition de l'activité spontanée. L'anion glutamate seul, appliqué par iontophorèse, produit lui-même deux types de réponses : un tiers d'activation et deux tiers d'inhibition (*Vendenbeuch et al., en cours de révision, 4*). De telles inhibitions ne sont pas inconnues dans le système gustatif périphérique (Yamamoto et al., 1981) mais elles sont rarement considérées. Ces données convergent pour suggérer un rôle de signalisation des stimulus sapides sur la langue aux récepteurs du SNC au glutamate.

Un autre résultat de notre étude est l'observation inattendue de sujets humains (n = 30) qui perçoivent moins fort le Na⁺ en présence de l'anion glutamate qu'en présence de l'anion chlore, c'est-à-dire qu'ils perçoivent moins fort une solution de glutamate de sodium (MSG) qu'une solution de NaCl isomolaire. De même, chez le hamster, la réponse au glutamate de sodium peut

être supérieure, égale ou inférieure à la réponse au chlorure de sodium isomolaire (le hamster n'est pas consanguin et présente, comme l'homme, des différences de sensibilité interindividuelles).

La réponse au MSG plus faible que la réponse au NaCl isomolaire peut s'expliquer par l'effet pluriel de l'anion glutamate que nous avons observée sur l'activité des neurones gustatifs. Le goût "umami" du glutamate de sodium pourrait résulter de la balance, dans la corde du tympan, entre un tiers d'activation due à l'anion Glu, deux tiers d'inhibition due à l'anion Glu et une activation due au Na⁺. Chez certains sujets, la part inhibitrice due à l'anion glutamate dominerait la part activatrice due aux ions sodium. La nature exacte de ce mécanisme inhibiteur reste à être étudiée plus précisément mais il est tentant de se référer aux récepteurs activateurs et aux récepteurs inhibiteurs du glutamate déjà connus.

Au bilan, notre étude montre que l'absence de perception du glutamate observée chez certains sujets (agueusie spécifique) ne peut s'expliquer simplement ni par l'absence de T1R1-T1R3 ni par des SNPs dans les séquences codantes. Actuellement, d'autres études confortent l'hypothèse que d'autres protéines réceptrices contribuent à la signalisation du glutamate (ex : Damak et al., 2003 ; Maruyama et al., 2006 ; Toyono et al., 2005 ; San Gabriel et al., 2005 ; Yasuo et al., 2008). L'identification de certaines de ces protéines réceptrices comme des récepteurs métabotropiques du glutamate ou des variants de ceux-ci est la plus documentée, sans exclusion, de notre point de vue, d'autres types de récepteurs. Nous souhaiterions maintenant tester ces autres récepteurs hypothétiques, dans un nouveau programme.

Autres résultats

Indépendamment de la sensibilité quantitative, certains sujets expriment une valence hédonique positive, à l'inverse de la majorité pour le glutamate en solution dans l'eau.

Il semble que l'environnement salivaire des sujets agueusiques au glutamate diffère significativement de celui des sujets sensibles.

A ce jour une étude est en cours visant à observer si les sujets dont la sensibilité au cation Na⁺ est diminuée en présence de l'anion glutamate présentent un comportement alimentaire vis-à-vis du NaCl et du glutamate différent de ceux dont la sensibilité au sel n'est pas affectée.

Perspectives

Le goût du glutamate, pris comme exemple dans ce projet, résulte donc probablement de l'interaction du stimulus avec différents récepteurs ; si certains ont subi certaines mutations, ils sont moins fonctionnels ou ne sont plus fonctionnels mais le signal pour le glutamate n'est pas nul, d'autres récepteurs restant fonctionnels. Certains sujets sensibles au glutamate expriment des perceptions de nature très différente pour ce composé, y compris « amère », « douce » ou « sucrée ». Bien des sujets qui discriminent le MSG du NaCl ne perçoivent aucun des goûts considérés standards pour le glutamate (ex : goût de bouillon). Il est clair que selon ses polymorphismes dans un ensemble de gènes, l'image sensorielle n'est pas la même d'un sujet sensible à un autre sujet sensible au glutamate.

Les résultats d'électrophysiologie nous apprennent que pour susciter la perception dite umami, le système requière simultanément l'intégrité de récepteurs qui inhibent l'activité spontanée des fibres gustatives et d'autres récepteurs qui activent l'activité spontanée d'autres fibres. Il reste que les agueusiques ne perçoivent non seulement pas le goût typique du glutamate mais ils ne perçoivent rien en dehors du goût salé. Pour percevoir le goût umami précis, il faut aussi un certain équilibre entre les effets activateurs et les effets inhibiteurs qui signent différents récepteurs.

Il serait souhaitable que nous puissions maintenant élargir notre *étude de la relation phénotype - génotype*, d'une part, à d'autres récepteurs que Tas1R1-Tas1R3, d'autre part, à la mesure de la sensibilité à d'autres molécules organiques que celles suscitant le goût umami, ce dont nous avons la maîtrise, et enfin, à la recherche de nsSNPs dans ces autres récepteurs, tout cela dans le cadre d'un appel d'offre nouveau.

(Ici, la difficulté provient de ce que peu d'appels d'offre -et c'est un euphémisme- aussi bien au niveau de l'ANR que du programme européen FP7 sont susceptibles d'accepter un projet à caractère **fondamental en chimioréception**. La raison en est que nous sommes douze fois moins de chercheurs, doctorants et post-docs dans cette thématique en Europe de l'ouest qu'au Japon ou aux USA. (newsletter ECRO n°75, www.ecro-online.info, in: literature).

On attend d'un tel projet la compréhension généralisée à tout stimulus sapide du mécanisme de codage de l'information périphérique gustative par des récepteurs multiples peu spécifiques différemment mutés chez les individus, qui vont susciter des qualités gustatives différentes d'un individu à l'autre pour un même stimulus.

L'application évidente en est la prescription de régimes –par exemple, dans le cas de pathologies qui le nécessitent- adaptés aux perceptions du sujet, par la seule connaissance des mutations de ses différents récepteurs gustatifs, ce que l'on peut faire sur une goutte de sang ou des cellules buccales.

En résumé, l'étude de 2006-2008 répond bien aux enjeux du PNRA concernant les déterminants biologiques de la perception de la qualité par le consommateur, responsables de la formation de l'image sensorielle. Comme nous l'avons déjà démontré, les apprentissages du goût, qui engagent le niveau des récepteurs stimulus spécifiques (Berteretche et al., 2004), sont primordiaux ; en effet, si l'on n'y prend garde, on peut croire à 30% de la population non ou peu sensible au glutamate *a priori*. En testant répétitivement les sujets, on découvre que presque tous acquièrent une sensibilité pour ce composé tandis que d'autres ne l'acquerront jamais. Une publication sur les effets de la familiarisation au glutamate, réunissant des données concernant différents stimulus est en cours de rédaction (**Berteretche et al., 5**).

Une leçon importante, pour les industriels aussi bien, est que parmi les déterminismes du comportement alimentaire, il faut prendre en compte le fait que la sensibilité différentielle d'un individu à l'autre dépendra en partie de la variabilité génétique des récepteurs individuels et pas seulement des comportements de la famille. En outre, la familiarisation qui modifie, jusqu'à un certain point, l'équipement périphérique signalant le stimulus est aussi à prendre en compte. C'est-à-dire que la variabilité génétique que l'on peut lire dans l'ADN génomique compte pour le goût que perçoivent les différents sujets pour un stimulus chimiquement pur donné mais aussi le potentiel de son expression réalisé grâce à l'apprentissage. Chaque mesure expérimentale nécessitera d'être répétée sur chaque individu.

Equipes participantes

Equipe N°	Nom Prénom	Organisme et unité d'appartenance	Adresse
1	FAURION Annick	INRA UR1197 NOPA	Neurobiologie Sensorielle – NOPA Bâtiment 325 Domaine de Vilvert 78352 Jouy-en-Josas Cedex
2	MONTMAYEUR Jean-Pierre	CNRS UMR5170 CSG	15 rue Hugues Picardet 21000 Dijon
3	PERNOLLET Jean Claude	INRA UR1197 NOPA	Biochimie de l'Olfaction et de la Gustation – NOPA Bâtiment 526 Domaine de Vilvert 78352 Jouy-en-Josas Cedex

NOTES

Effet d'une éducation sensorielle sur les préférences et les comportements alimentaires d'enfants âgés de 8 à 10 ans

Contexte et objectif

Il y a une trentaine d'années, Jacques Puisais lançait les « **Classes du Goût** », un programme d'une douzaine de leçons sur le goût dispensé par les instituteurs aux enfants de 7 à 10 ans. Leur principe et leur philosophie tiennent dans ces quelques mots de Jacques Puisais « *apprendre à déguster pour mieux goûter les instants de la vie* ». Cette éducation sensorielle a une double finalité hédoniste, prendre du plaisir à goûter, et humaniste, s'ouvrir à la différence. Au fur et à mesure qu'il apprend à goûter, l'enfant prend conscience de l'extraordinaire acuité de ses sens et il est progressivement gagné par la curiosité : d'où vient cet aliment ? Comment est-il préparé ? Pourquoi a-t-il ce goût ?... Et bien souvent, ces apprentissages sensoriels, concrets et ludiques, stimulent l'envie de goûter des aliments nouveaux ou initialement aversifs.

Pourtant, les *Classes du Goût* sont restées relativement confidentielles. Aujourd'hui, face à l'alarmante croissance du taux de prévalence de l'obésité infantile et au peu de résultats des campagnes d'information nutritionnelle, l'éducation sensorielle apparaît comme une seconde chance pour améliorer les comportements alimentaires des enfants. Ainsi, le projet *EduSens* propose de tester par une approche scientifique expérimentale l'effet d'une éducation sensorielle du type des « Classes du Goût » sur les préférences et les comportements alimentaires des enfants, avec pour hypothèses une amélioration de la capacité à décrire le goût des aliments et les sensations perçues à leur dégustation, une réduction de la néophobie (peur de manger des aliments inconnus), une plus grande recherche de variété alimentaire et une évolution des préférences vers des aliments au goût moins intense mais plus complexe.

EduSens déborde du cadre de la classe scolaire dans la mesure où il propose aussi de tester les effets d'une éducation sensorielle dispensée dans les contextes de la restauration scolaire et du milieu familial. *EduSens* vise à comparer les mérites respectifs de ces 3 contextes dans le but d'élaborer à terme un programme d'éducation au goût intégré aux trois contextes et capitalisant leurs avantages respectifs.

Enjeux et défis scientifiques et techniques

Le défi technique du projet était donc d'associer l'école, la restauration scolaire et les familles à une démarche expérimentale nécessitant le développement d'outils nouveaux aussi bien pour la diffusion d'une éducation sensorielle dans ces trois contextes que pour la mesure des préférences et des comportements alimentaires des enfants en laboratoire. Au-delà de tous ces efforts techniques, l'enjeu scientifique du projet était de démontrer l'intérêt de l'éducation sensorielle. La perspective sociétale du projet est de contribuer à une dynamique existante qui vise à promouvoir l'éducation sensorielle des enfants de tous âges.

Pratiquement, les partenaires du projet ont donc développé deux nouveaux programmes d'éducation sensorielle, les « **Restos du Goût** » et les « **Familles du Goût** », adaptés respectivement au contexte de la restauration scolaire et du foyer familial. De plus, une batterie de tests de mesure en laboratoire des préférences et des comportements alimentaires des enfants en âge de lire et d'écrire a été développée et validée.

Fort de ces outils, le projet a mis en place 3 expérimentations successives (une par contexte d'éducation) de 15 mois chacune dans lesquelles un groupe expérimental (recevant l'éducation sensorielle) et un groupe contrôle, chacun composé d'une centaine d'enfants de 8 à 10 ans, sont venus au **Centre Européen des Sciences du Goût** à Dijon pour passer la batterie de tests de mesure des préférences et des comportements alimentaires. Ces mesures ont été réalisées pour les deux groupes avant l'éducation sensorielle du groupe expérimental, juste après la fin de cette éducation (en général d'une durée de 6 mois) et enfin 6 à 9 mois plus tard afin d'évaluer la rémanence des effets éventuellement observés.

Résultats

Les 3 expérimentations prévues ont pu être mises en place grâce à des conventions avec l'Académie de Dijon et la Ville de Dijon pour le recrutement de classes de CM1 et de restaurants scolaires. La première de ces 3 expérimentations a commencé 4 mois avant le démarrage officiel du projet ANR et la troisième vient juste de se terminer fin février 2009. Ainsi, l'ANR a accordé une année supplémentaire au projet pour saisir et exploiter les dernières données et pour démarrer d'ores et déjà la valorisation de certains résultats. Ceux présentés ici doivent donc être considérés comme partiels et provisoires, le bilan final étant dû fin 2009 seulement.

Etablir et valider la batterie de tests de laboratoire pour la mesure des préférences et des comportements alimentaires des enfants a constitué une grande partie de la thèse de Caroline Reverdy (équipe 1) soutenue en 2008. Ces tests sont d'ores et déjà utiles à un autre projet ANR (EpiPref, programme ALIA 2008) visant à mesurer les préférences vis-à-vis du gras, du salé et du sucré et qui vient de démarrer en associant, entre autres, les équipes 1 et 2 du projet *EduSens*.

Les équipes 1 et 3 ont donc construit, avec les conseils des équipes 2, 4 et 6, deux nouveaux programmes d'éducation au goût qui ont reçu un accueil enthousiaste de la part des animateurs et des personnels d'office pour les *Restos du Goût* et de la part des familles pour les *Familles du Goût*. Il est donc apparu nécessaire de valoriser ces outils sous la forme de manuels permettant à ces publics de se les approprier. Réaliser le manuel des *Restos du Goût* est donc l'une des deux raisons qui ont conduit à la prolongation d'une année du projet ANR. Un synopsis de cet ouvrage a été envoyé aux éditeurs potentiels et 3 d'entre eux se sont d'ores et déjà déclarés intéressés pour publier cet ouvrage lorsqu'il sera achevé courant 2009.

Les résultats de l'expérimentation *Classes du Goût* montrent que sous l'effet de l'éducation sensorielle les comportements alimentaires des enfants évoluent bien dans le sens attendu d'une moindre néophobie, d'une capacité plus grande à décrire ses sensations lors de la dégustation et d'une aptitude à catégoriser les odeurs inconnues davantage par des critères objectifs qu'hédoniques. Pour les préférences alimentaires, elles évolueraient bien vers la complexité aromatique, mais autant dans le groupe contrôle que dans le groupe expérimental, ce qui suggère que cet effet serait davantage un effet d'exposition que d'éducation. Par contre, le 3ème point de mesure semble montrer que cette évolution ne se maintient que pour le groupe expérimental, suggérant une empreinte de l'éducation sensorielle à effet différé et militant, de manière pratique, pour une éducation sensorielle qui serait « distillée » tout au long du parcours scolaire de l'enfant. La présence des sciences de l'éducation (équipe 5) dans le projet visait d'une part à contrôler la qualité de l'échantillonnage des classes de CM1 et d'autre part à mettre en place des tests de niveau scolaire avant et après l'éducation sensorielle afin de vérifier si les résultats à ces tests ne seraient pas meilleurs dans le groupe expérimental suite à l'éducation sensorielle. Cette hypothèse reposait sur l'idée que cette éducation pourrait jouer un rôle bénéfique à l'ambiance générale de la classe et donc offrir de meilleures conditions d'apprentissage aux enfants. Toutefois, la significativité statistique d'un tel effet n'a pas été trouvée dans les données des tests de français et de mathématiques mis en place par l'équipe 5.

Lorsque l'éducation est dispensée en restauration scolaire et par le biais des familles, les comportements alimentaires des enfants semblent évoluer dans le même sens que celui des *Classes du Goût* mais avec une moindre intensité. Par exemple, la réduction de la néophobie alimentaire n'est plus meilleure dans le groupe expérimental que dans le groupe contrôle pour les *Restos du Goût* et tout juste pour les *Familles du Goût*. L'amélioration de la capacité à décrire ses sensations est également moins bonne avec ces deux programmes qu'avec celui en classe scolaire. Le groupe de projet s'attache en ce moment à interpréter les résultats de ces analyses.

L'approche sociologique (équipe 4), aborde les changements chez les enfants qui ont suivi une éducation sensorielle à travers la perception qu'en ont leurs parents. En se fondant sur des entretiens avec ces familles, il apparaît que le troisième dispositif pédagogique, « *les Familles du goût* » apporte, selon le jugement des parents, des modifications beaucoup plus profondes du comportement de l'enfant dans le sens d'une plus grande sensibilisation et ouverture vis-à-vis des produits alimentaires, de leur goût et de la manière de les cuisiner. Par delà l'existence ou non des effets de l'éducation sensorielle, cette analyse sociologique, en cours d'élaboration car les derniers entretiens ne sont disponibles que depuis peu et que la synthèse finale n'est pas encore achevée, devrait permettre de caractériser les familles pour lesquelles une évolution des comportements a eu lieu et ainsi de comprendre les processus régulant ces évolutions. Cette approche est

essentielle pour aboutir *in fine* à la construction d'une méthode intégrant les trois lieux possibles de l'éducation au goût.

Bilan et perspectives

Il est donc encore trop tôt pour dresser le bilan du projet EduSens et *a fortiori* pour en délimiter toutes les perspectives. Mais, on peut d'ores et déjà avancer qu'une éducation au goût est essentielle pour permettre à l'enfant d'acquérir la capacité de verbaliser ses sensations, ce qui lui donnera la possibilité de dépasser le stade hédonique pour atteindre celui de la description. Par voie de conséquence, il pourra alors adopter des comportements davantage ouverts à la nouveauté et à l'expérimentation. En voulant quantifier finement l'évolution de ses préférences vers la complexité, plutôt que vers l'intensité, le projet EduSens avait mis la barre très haut... toutefois, même si les effets démontrés sont plus faibles que les effets espérés, de nouveaux outils pour l'éducation sensorielle et pour son évaluation sont désormais disponibles.

Equipes partenaires du projet

Equipe	Responsable	Organisme et unité d'appartenance	Adresse électronique
1	Pascal SCHLICH (coordinateur)	UMR Sciences du Goût. INRA-CNRS- Université de Bourgogne. Equipe LIRIS	schlich@cesg.cnrs.fr
2	Sylvie ISSANCHOU	UMR FLAVIC. INRA-ENESAD	sylvie.issanchou@dijon.inra.fr
3	Nathalie POLITZER	Institut du Goût. Association loi 1901	npolitzer@idg.asso.fr
4	Claude WISNER- BOURGEOIS	AgroParisTech. Unité de Sociologie Rurale	wisner@agroparistech.fr
5*	Jean BOURDON	Institut de Recherche en Sciences de l'Éducation (IREDU). CNRS-Université de Bourgogne	jean.bourdon@u- bourgogne.fr
6*	Vincent BOGGIO	Faculté de Médecine de Dijon	vincent.boggio@chu-dijon.fr
7*	Ep KÖSTER	Utrecht University. Psychology Department	ep.koster@wxs.nl

*En raison des faibles budgets demandés, ces 3 équipes étaient sous-traitantes de l'équipe 1

NOTES

SESSION 2.

NUTRITION



Comportements alimentaires et qualité du vieillissement. Rôle du statut inflammatoire, du stress oxydant, de l'insulino-résistance et de certains facteurs génétiques

1- Objectifs de l'étude. Pourquoi l'étude a été lancée et dans quel contexte précis (en particulier économiques ou de santé publique).

L'augmentation du nombre de personnes âgées de plus de 60 ans et de la longévité est un phénomène observé dans tous les pays développés. Dès 2025, 25% de la population française aura plus de 60 ans et 40% aura cinquante ans ou plus. Selon l'OCDE, le nombre de personnes dépendantes en 2020 comparé à 2000 augmentera, dans l'hypothèse basse, de 24,8 %, et de 42,6 % dans l'hypothèse haute. Le projet COMPALIMAGE repose sur la cohorte SU.VI.MAX initiée en 1994, large population d'adultes d'âge mur. Les objectifs sont de deux ordres. Le premier objectif est l'étude des relations entre comportements alimentaires, facteurs nutritionnels spécifiques (estimés à partir de données collectées en 1994-1996) et la qualité du vieillissement évaluée en 2007-2009, en intégrant également des données portant sur les contraintes socio-économiques, les préférences alimentaires, et le niveau d'activité physique. Le deuxième objectif est d'évaluer le rôle de certains mécanismes (stress antioxydant, statut inflammatoire, l'insulino-résistance et certains facteurs génétiques) dans ces relations. L'identification de facteurs environnementaux modifiables, notamment alimentaires, préservant la qualité de vie et la santé des sujets vieillissants afin d'aboutir à un vieillissement «réussi» est donc un élément essentiel en terme de santé publique. Les implications de cette problématique sont donc majeurs compte tenu des conséquences des déficits fonctionnels et des coûts de prise en charge des pathologies liées au vieillissement.

2- Enjeux et défis scientifiques et techniques

Les enjeux scientifiques concernent la mise en relation de données épidémiologiques portant sur la qualité du vieillissement, les consommations alimentaires, les déterminants socio-économiques de l'alimentation, la qualité de vie, l'activité physique d'une part et pour des sous-échantillons de données biologiques relatives aux potentiels mécanismes impliqués tels que le statut inflammatoire, le stress oxydant, ainsi que des génotypes particuliers.

3- Résultats acquis : ce qui est vraiment nouveau ou original, en termes de réponses aux questions et de mises au point d'outils ou de méthodes.

A partir des données recueillies sur environ 7000 volontaires au cours de la consultation clinique, des indicateurs de la qualité du vieillissement physique et cognitif ont été sélectionnés afin de mettre au point un score global du vieillissement sur 24 points basé sur la distribution des différents indicateurs. Dans le cadre de l'identification de typologies alimentaires, un indicateur d'adéquation aux recommandations du PNNS (Plan national Nutrition Santé) a été développé et validé. Ce score porte sur les 9 repères et est coté sur 15 points.

Des analyses préliminaires ont permis d'observer un meilleur score de qualité du vieillissement chez les sujets ayant un meilleur score d'adéquation aux recommandations du PNNS.

Cette relation est retrouvée tant sur la composante physique que cognitive. Les premières analyses concernant les déterminants socio-économiques des comportements alimentaires ont permis la mise en évidence de relation entre la PCS et la consommation de produits frais ou préparés notamment. Une étude de validation d'un questionnaire alimentaire semi-quantitatif de fréquences a été réalisée, les analyses sont en cours.

Sur la cohorte de 3500 sujets, les dosages relatifs au statut inflammatoire ont été réalisés et les dosages relatifs au stress oxydant sont en cours. Environ 6.5%, respectivement 0.3%, des sujets présentaient une albuminémie inférieure à 30g/L, respectivement 20g/L.. Par ailleurs, 7.34% des sujets présentaient une valeur de CRP supérieure à 5mg/L et 1.18% des sujets présentaient une valeur d'orosomucoïde supérieur à 1.2 g/L. Sur le sous-échantillon pour lequel les dosages de

marqueurs du stress oxydant sont disponibles, 23% des sujets présentait une valeur de MDA supérieur à 2.86µmole/L.

Les sujets présentant une meilleure adéquation aux recommandations du PNNS, présentaient des valeurs d'orosomucoïde significativement plus faibles. Par ailleurs, les sujets ayant un meilleur score de qualité du vieillissement présentaient des valeurs d'orosomucoïde plus faibles.

L'ADN d'environ 3500 sujets a été extrait et génotypé pour les gènes candidats sélectionnés. Ces génotypes seront mis en relation avec les données de qualité de vieillissement.

Des sous-groupes de sujets ont été sélectionnés à partir des scores de qualité du vieillissement (2X120) et d'adéquation aux recommandations du PNNS (2X100). De nouveaux prélèvements sanguins sont en cours de réalisation afin de doser un éventail de paramètres biologiques.

3- Perspectives et nouvelles questions de recherche soulevées

Nous espérons vérifier les hypothèses concernant le rôle des comportements alimentaires et des facteurs nutritionnels impliqués dans les processus d'avancée en âge et mettre en évidence le poids relatif de comportements susceptibles de conditionner la qualité du vieillissement. Par ailleurs, ce projet devrait également permettre de déterminer le rôle de l'inflammation, du stress oxydant et de facteurs génétiques dans la qualité du vieillissement.

4- Réponses apportées par le projet aux enjeux majeurs du programme PNRA en 2005

Ce projet aura des retombées dans les domaines de la prévention nutritionnelle, du dépistage et de la prise en charge du vieillissement. Il contribuera à aider à la décision les responsables en charge des politiques de santé publique, pour l'élaboration de recommandations nutritionnelles pour les consommateurs et pour les professionnels de santé.

Partenaires	Affiliation	Mails
Serge Hercberg	UMRIInra/Inserm/Cnam/Paris 13	s.hercberg@uren.smbh.univ-paris13.fr
Karine Clément	INSERM Nutriomique U872 Université Pierre et Marie Curie-Paris 6	karine.clement@psl.aphp.fr
Jean-Michel Oppert	UMRIInra/Inserm/Cnam/Paris 13	jean-michel.oppert@psl.aphp.fr
Jean-Daniel Zucker	INSERM Nutriomique U872 Université Pierre et Marie Curie-Paris 6	Jean-Daniel.Zucker@ird.fr
France Caillavet	INRA ALISS	France.Caillavet@ivry.inra.fr
Martine Laville	CRNH Rhône-Alpes	Martine.Laville@adm.univ-lyon1.fr
Francois Laporte	CIB CHU Grenoble	FLaporte@chu-grenoble.fr
Favier Alain	Université Grenoble	AFavier@chu-grenoble.fr
Noel Cano	CRNH Auvergne	noel.cano@clermont.inra.fr
Véronique Coxam	CRNH Auvergne	veronique.coxam@clermont.inra.f
Dominique Dardevet	CRNH Auvergne/ INRA UMR 1019	dardevdp@clermont.inra.fr
Patrick Borel	UMR 1260 INRA/ 476 INSERM/ Universités d'Aix-Marseille I et II	Patrick.BOREL@univmed.fr
Claude Jeandel	Réseau CNEG	c-jeandel@chu-montpellier.fr
Serge Briançon	EA Santé Publique / Université Henri Poincaré, Nancy 1	briancon@chu-nancy.fr

NOTES

Consommation de boissons alcoolisées (vin, bière et alcools forts) et mortalité par différents types de cancers sur une cohorte de 100 000 sujets suivie depuis 25 ans.

Objectifs de l'étude

Les objectifs de l'étude étaient de déterminer les relations entre la consommation de différentes boissons alcoolisées (vin, bière, alcools forts, selon la dose), et les risques de décès par cancers sur une cohorte de l'est de la France (la cohorte COLOR), comprenant 100 000 sujets examinés au Centre de Médecine Préventive de Nancy entre 1978 et 1985, dont la mortalité a été suivie jusqu'en 2005.

1. A partir de quelle quantité de différentes boissons alcoolisées, le risque de décès par cancer de la prostate, du côlon, du poumon, du sein augmente-t-il chez l'adulte d'âge moyen ?
2. Y a-t-il des différences selon les boissons alcoolisées ?
3. Existe-t-il une dose de certaines boissons alcoolisées correspondant à une protection contre certains types de cancers ? Chez l'homme ? Chez la femme ?

Cette étude consiste à suivre depuis 25 ans les causes de mortalité d'une cohorte adulte de 100 000 sujets, 45 000 hommes et 55 000 femmes, aujourd'hui âgés de 60 à 90 ans, dont on connaît les habitudes de consommation de boissons alcoolisées et les principaux paramètres biométriques et biologiques de santé au point de départ. Elle a été la première en France à avoir montré qu'une consommation modérée d'alcool, plus particulièrement de vin est associée avec une réduction de 40% de la mortalité cardio-vasculaire chez l'homme d'âge moyen. L'analyse de notre cohorte a pour la première fois démontré que le vin, consommé à la dose de 1 à 3 verres par jour chez l'homme, et seul le vin parmi les boissons alcoolisées, était associé avec une baisse de 20% de la mortalité par cancers. (Renaud S, Guéguen R, Siest G, Salamon R. *Wine, beer and mortality in middle-aged men from Eastern France. Arch Intern Med 1999;159:1865-70.*). Ces résultats ont été confirmés au Danemark. (Gronbaek M, Becker U, Johansen D et al. *Type of alcohol consumed and mortality from all causes, coronary heart disease and cancer. Ann Intern Med 2000;133:411-9.*).

1. Enjeux et défis scientifiques et techniques

Enjeux : ce projet intéresse un segment de l'économie française : la viticulture. Il contribue à clarifier les relations entre la mortalité par cancers et la consommation de différents types de boissons alcoolisées, qui pour l'instant ne sont pas différenciées dans les rapports d'experts internationaux comme celui du Fond Mondial de Recherche contre le Cancer de l'automne 2007.

Défis scientifiques : la plupart des études épidémiologiques publiées jusqu'à présent sur ce sujet ne permettent pas de conclure clairement sur les corrélations entre différentes boissons alcoolisées et les différents types de cancer, à cause de la taille insuffisante des populations étudiées. Nous disposons d'une puissance statistique assez élevée avec 98 000 sujets.

Une des premières difficultés a été d'identifier tous les sujets décédés de la base de données. Il a fallu développer une méthode particulière et travailler à partir des fichiers nationaux INSEE de décès, puis obtenir les causes de décès à partir du service CEPI-DC de l'INSERM.

La difficulté a été aussi d'utiliser des données d'observation pour émettre des hypothèses sur le rôle étiologique de l'alcool et des différentes boissons alcoolisées et de développer des modèles d'analyses de la survie avec autant de cofacteurs et d'interactions potentielles.

Enfin, il a fallu travailler avec 2 limites :

- Un recueil pas très fin de la consommation d'alcool, le premier seuil étant à ¼ l, c'est-à-dire l'équivalent de 2 verres de vin, ce qui est un vrai problème pour la femme chez laquelle les seuils se situent probablement en deçà pour de nombreux risques de cancer,
- L'absence de données alimentaires, ce qui nous interdit tout ajustement sur l'alimentation.

La première limite fait que nos résultats chez la femme sont décevants car peu discriminants.

Quant à la seconde, elle représente aussi un obstacle dans l'interprétation des résultats car on peut se demander si l'alimentation des buveurs à dominance vin n'est pas plus équilibrée que celle des autres buveurs, ce qui contribuerait à un effet protecteur. Nous savons que beaucoup des cofacteurs sur lesquels nous ajustons nos résultats sont directement reliés à l'alimentation (glycémie, cholestérol, corpulence, consommation de boissons sucrées etc.), ce qui compense en partie l'absence d'ajustement sur l'alimentation. D'autre part, nous avons étudié l'alimentation des buveurs de vin dans différentes cohortes, soit lorraines, soit nationale, en collaboration avec d'autres équipes. Avec la même approche que dans la cohorte COLOR, c'est-à-dire en différenciant les buveurs consommant plus ou moins 50% de leur alcool sous forme de vin, ces équipes ont pu mettre en évidence des différences significatives dans l'équilibre alimentaire dans le sens d'un meilleur équilibre des buveurs de vin mais de faible amplitude, qui à notre avis ne permettent pas d'expliquer l'ampleur des corrélations entre vin et décès.

2. Résultats

Nous avons exploré dans un premier temps la mortalité prématurée < 65 ans sur la population des 45 à 60 ans ayant visité le Centre de Médecine Préventive entre 1978 et 1985, car la totalité de cette population a dépassé 65 ans fin 2005, année jusqu'à laquelle nous disposons de tous les cas de décès avec leur cause. Après exclusion des individus sous traitement à visée cardiovasculaire et à ECG anormal, nous disposons de 31332 hommes dont 3316 sont décédés prématurément. Les modèles de régression logistique à l'aide du logiciel R ont tenu compte de 12 cofacteurs qui balayent de façon satisfaisante les différents facteurs confondants possibles : âge, niveau d'études, tension artérielle systolique, cholestérol, glycémie, tabagisme, BMI (corpulence), activité physique, consommation d'alcool en g/kg poids/jour, consommation de boissons sucrées, consommation d'eau, préférence vin (> 50% d'alcool sous forme de vin).

Nous retrouvons les facteurs de risque classiques de mortalité de toutes causes, niveau d'éducation peu élevé, tension artérielle dès les valeurs de systolique supérieures à 12, tabagisme, sédentarité. Parmi les notions moins répandues : nous ne trouvons pas le cholestérol comme étant un facteur de risque de mortalité prématurée de toutes causes, c'est même le contraire chez l'homme. Un BMI < 20 est un facteur de risque chez l'homme. Une consommation de plus de 500 ml de boissons sucrées par jour est associée à une augmentation significative du risque de mortalité de toutes causes, de même que le fait de ne presque pas boire d'eau chez l'homme. La préférence vin est associée chez les hommes avec un risque significativement plus bas de mortalité prématurée de toutes causes (RR = 0.75, p<0.0001), par cancers (RR = 0.77, p = 0.0002) et par maladies cardio-vasculaires (RR = 0.74, p = 0.003), pour les cancers du tube digestif (œsophage, estomac, intestin, côlon, rectum) : (RR = 0.66, p = 0.01), pour les cancers du poumon : (RR = 0.78, p=0.04).

En mortalité générale par cancer, non prématurée, sur population « saine » au départ, 4128 décès par cancers chez les hommes et 2077 décès par cancers chez les femmes ont été pris en compte dans des modèles de Cox ajustés sur 12 cofacteurs.

Chez 36118 hommes de la cohorte COLOR, nous observons comme facteurs de risque de mortalité par cancer : niveau d'éducation bas, tension artérielle élevée, cholestérol bas, BMI < 20 (même en retranchant les décès des 5 premières années), tabagisme, sédentarité, de même que le fait de ne presque pas boire d'eau. Alors que plus la consommation d'alcool est élevée

(en g/kg poids), plus le risque de mortalité par cancer augmente, la préférence vin, quelle que soit la dose d'alcool, est associée avec un risque significativement plus bas de mortalité par cancers (RR = 0.84, p <0.0001), par cancer du poumon (RR = 0.82, p = 0.02), par cancer du tube digestif VADS comprises (RR = 0.73, p = 0.001), de la bouche et pharynx (RR = 0.42, p < 0.0001). Le risque de mortalité par cancer du côlon, de l'estomac, du pancréas, du foie, de la prostate n'est pas relié à la préférence vin, tendance non significative pour le rectum/anus (RR = 0.57, p = 0.06) et pour la vessie (RR = 0.62, p = 0.06).

Chez 39561 femmes, les facteurs de risque de mortalité par cancer sont les suivants : tension artérielle élevée, tabagisme, BMI ≥ 30. La consommation élevée d'alcool est associée avec un risque significativement plus élevé de mortalité par cancers (en g d'alcool/kg poids 0.30 à 0.70 : RR=1.27, p = 0.009), (> 0.70 : RR = 1.46, p = 0.006), alors que la préférence vin n'est pas significative (RR = 1.01, p=0.84). De la même façon, le risque de mortalité par cancer du sein augmente avec la dose d'alcool mais n'est pas relié à la préférence vin.

Tableau de
synthèse
36 118 hommes

Type de cancer	Préférence vin			alcool			
	risque diminué	RR	p-value	risque augmenté	Seuil quantité (g/kg)	RR	p-value
Tous cancers	oui	0,84	<0,0001	oui	> 0,70	1,29	0,001
larynx	oui	0,55	0,04	oui	> 1,40	3,04	0,01
lèvre, cavité buccale, pharynx	oui	0,42	<0,0001	oui	> 0,70	3,59	<0,0001
poumon	oui	0,82	0,02	oui	> 1,40	1,55	0,004
œsophage	NS	0,72	0,14	oui	> 1,40	5,01	<0,0001
estomac	non	0,92	0,73	non			
côlon	non	1,00	1,00	oui	> 1,40	2,42	0,03
rectum/anus	tendance NS	0,57	0,06	oui	> 1,40	3,29	0,04
pancréas	non	1,15	0,41	non			
foie	non	0,79	0,30	oui	> 0,70	2,67	0,008
rein	non	1,00	1,00	non			
vessie	tendance NS	0,62	0,06	non			
prostate	NS	1,34	0,15	non			

3. Perspectives

Le programme est prolongé de 6 mois afin que nous puissions étudier le chaînage des examens de santé de la cohorte COLOR. En effet, entre 50 et 60% des individus reviennent au Centre de Médecine Préventive au bout de 5 ans. C'est pourquoi nous projetons d'approfondir les relations entre l'évolution dans le temps des habitudes de consommation de boissons alcoolisées et les risques de mortalité en utilisant le chaînage des examens de santé pour les individus qui reviennent une deuxième, 3ème ou même 4ème fois, tous les 5 ans. Ceci permettra d'affiner les interactions temps - cofacteurs que nous avons pu observer grâce aux modèles de Gray qui ne permettent pas d'expliquer cette interaction.

4. Réponses apportées par le projet aux enjeux majeurs du programme PNRA en 2005

« Il s'agit de l'axe thématique « Alimentation et prévention – adaptation inadaptation nutritionnelle aux évolutions de l'alimentation et de l'environnement. » Analyse de l'impact de la nutrition sur la prévention des pathologies, intégration de cette thématique au sein d'une cohorte épidémiologique existante. »

Ce programme nous rappelle que le vin, contrairement aux autres boissons alcoolisées courantes, est le mélange d'une substance à effets délétères, l'alcool, et de substances à effets bénéfiques provenant du jus de raisin, avec une extraction supplémentaire des polyphénols au cours de la macération des peaux et des pépins. Alors que la consommation d'alcool est clairement un facteur de risque de cancer, les fruits entrent dans la catégories des aliments qui

protègent contre différents cancers à des degrés divers de niveaux de preuve (probable, ou évocateur). Il n'est donc pas étonnant que la consommation de vin, jus de fruits fermenté, mélange de deux types de substances à effets antagonistes : - l'alcool et - le jus de fruit enrichi en polyphénols, s'avère différente de celles des autres boissons alcoolisées dans son association avec le risque de mortalité par cancer.

La santé et l'hygiène de vie des français sont caractérisés par le « French Paradox », c'est-à-dire le plus bas taux de mortalité cardio-vasculaire du monde occidental (et N°2 mondial après le Japon), toujours vrai aujourd'hui, malgré des facteurs de risque égaux ou supérieurs, et aussi par la première consommation de vin per capita. Il faut réfléchir au fait que la manière traditionnelle française de consommer le vin, modérément et régulièrement au moment des repas, représente apparemment un modèle de nutrition préventive, à rapprocher du modèle dit « méditerranéen », et une alternative aux modèles anglo-saxons et américains (« binge drinking » et « fast food ») comme mode de vie favorisant un bon état de santé, à condition bien sûr, de proscrire tout excès, dont on connaît trop bien les dangers.

Equipes partenaires :

Equipe N°	Nom Prénom et adresse e-mail du correspondant principal par équipe	Organisme et unité d'appartenance	Adresse
1	Lanzmann-Petithory Dominique dominique.lanzmann@erx.aphp.fr	Université Bordeaux 2	GESVAB EA 3675 UFR Pharmacie / Université Victor Segalen Bordeaux2 ISVV - CS 50008 210, Chemin de Leysotte / F-33882 Villenave d'Ornon
2	Guéguen René rene.gueguen@cmp.u-nancy.fr	Centre de Médecine Préventive de Vandoeuvre-les-Nancy	Service Statistique. Centre de Médecine Préventive. 54500 Vandoeuvre les Nancy
3	Henri Olivier olivier.henry@erx.aphp.fr	Assistance Publique des Hôpitaux de Paris	Hôpital Émile Roux Pavillon Buisson-Jacob 1 avenue de Verdun, 94456 Limeil-Brévannes Cedex
4	Féredj Roland roland.feredj@vins-bordeaux.fr	Comité Interprofessionnel des Vins de Bordeaux C. I. V. B.	1, cours du XXX juillet 33075 Bordeaux Cedex

NOTES

Les acides gras trans d'origine naturelle dans la chaîne alimentaire laitière. Comparaison avec leurs homologues d'origine technologique.

1- Objectifs de l'étude. Pourquoi l'étude a été lancée et dans quel contexte précis (en particulier économiques ou de santé publique)

Compte tenu de l'absence de données scientifiques, il était envisageable que les acides gras *trans* (AGT) issus des ruminants tels que l'acide vaccénique n'aient pas les mêmes effets biologiques que les AGT des huiles végétales partiellement hydrogénées (HVPH), principalement acide élaïdique et 18 :1 trans10. Alors que l'implication de l'acide élaïdique dans l'augmentation du risque cardiovasculaire était bien établie (Zock & Katan, J Lipid Res 1992, 33 : 399-410, Mensink et al, Am J Clin Nutr 2003, 77 : 1146-55), aucune étude n'avait été conduite chez l'Homme pour appréhender les effets spécifiques d'autres isomères tels que l'acide vaccénique (18 :1 trans 11) ou le 18 :1 trans 10 (Editorial de A Aro, TFA isomers and the missing evidence, Eur J Lipid Sci Technol, 2004, 106 : 345-346), bien que des études chez le lapin aient montré des différences entre les isomères trans 10 et trans 11 (Roy et al, 2007, Animal, 1 :467-476).

2- Enjeux et défis scientifiques et techniques

Les AGT sont des acides gras (AG) insaturés qui contiennent au moins une double liaison de configuration *trans*, contrairement à la configuration *cis* qui est la plus courante naturellement. Ce sont des constituants à la fois des graisses de ruminants et des huiles végétales partiellement hydrogénées (HVPH).

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande depuis les années 90 une consommation maximale d'AGT de 1% de l'apport énergétique total (AET) afin de limiter les répercussions en terme de santé publique.

En effet, des études d'intervention ont montré une implication potentielle des AGT présents dans les HVPH dans des altérations des paramètres liés au risque de maladies cardiovasculaires tels que le cholestérol HDL, le cholestérol-LDL et d'autres facteurs de risque. Par ailleurs, les données cliniques ou épidémiologiques concernant les AGT présents dans les graisses de ruminants, notamment la matière grasse laitière (MGL) sur les facteurs de risque de maladie cardiovasculaire ne permettaient pas de conclure de façon univoque.

Ces deux sources se distinguent par une différence d'origine, naturelle vs technologique, qui se traduit par des différences de composition (profil isomérique), ainsi que de leur teneur. Dans les graisses de ruminants dont la MGL, les AGT résultent de la biohydrogénation ruminale des acides gras polyinsaturés. Les AGT ne représentent que de 2 à 6 % des AG totaux et l'acide vaccénique (11-*trans*) représente 40-75 % des AGT alors que dans les HVPH, les AGT peuvent représenter de 3 à 60% des acides gras, les isomères principaux étant l'acide élaïdique (9-*trans*) et l'isomère 10-*trans*.

Au niveau national (AFSSA) et européen (AESAs), des comités d'experts en nutrition humaine ont conclu au besoin de réduction de la consommation des AGT. L'absence de données sur les effets spécifiques des acides gras *trans* de la MGL conduit à considérer tous les AGT de manière identique, malgré des origines et donc des profils isomériques totalement différents. L'AFSSA a recommandé un étiquetage dans un rapport publié en 2005. Au Danemark, une réglementation fixe une valeur maximale de 2 % d'AGT dans les matières grasses alimentaires (huiles, margarines), mais les acides gras *trans* naturels sont exclus de l'étiquetage. Aux Etats-Unis, la FDA a mis en place une obligation d'étiquetage en 2006, et des mesures spécifiques ont été prises dans différents Etats.

Il était donc important que des programmes de recherche soient initiés afin de pouvoir différencier les effets sur la santé des différents AGT en fonction de leurs origines pour assurer la sécurité et l'information du consommateur et ne pas pénaliser les produits de la filière lait par un étiquetage qui, par défaut, ne serait pas forcément le reflet de leurs véritables propriétés nutritionnelles. Une politique d'étiquetage inadaptée pourrait avoir des effets à long terme sur l'économie laitière française, alors que l'industrie agroalimentaire française est le principal exportateur et que l'industrie laitière est première dans ce secteur.

3- Résultats acquis : ce qui est vraiment nouveau ou original, en termes de réponses aux questions et de mises au point d'outils ou de méthodes

- Différence d'impact des acides gras trans naturels et technologiques sur les facteurs de risques cardiovasculaires
- Pas de diminution du cholestérol HDL induite par les AGT naturels
- Pas d'effet délétère des AGT naturels sur la sensibilité à l'insuline, et un effet bénéfique sur l'insulino-résistance induite par l'acide palmitique.
- Comparativement à l'acide palmitique, pas d'effet délétère des AGT naturels sur la sensibilité à l'insuline.
- Connaissance de l'impact des AGT sur le lipidome hépatique chez le rat (modèle « sain ») et la souris ob/ob (modèle « pathologique »)
- Meilleure connaissance du métabolisme de l'acide vaccénique chez l'Homme et le ruminant (modèle chèvre)
- Lois de réponses consolidées quant à la production d'AGT chez le ruminant en fonction des rations et ses liaisons avec les processus digestifs et la méthanogénèse.

4- Perspectives et nouvelles questions de recherche soulevées

Quel est l'implication des AGT dans la sensibilité à l'insuline et la tolérance au glucose : problématique à approfondir, notamment en terme de mécanismes intracellulaires et dans des tissus extra musculaires

Meilleure connaissance de la biodisponibilité intestinale des AGT en fonction du profil isomérique (modèle rat)

- Chez le ruminant, mieux comprendre le rôle des AGT dans la régulation de la lipogénèse mammaire, et établir des lois de réponse quantitatives des réponses des AGT du lait en fonction des interactions entre fourrages-concentrés- nature, dose et traitements technologiques des oléagineux

5- Réponses apportées par le projet aux enjeux majeurs du programme PNRA en 2005

Le projet s'est inscrit dans la thématique « Qualité et sécurité des aliments : Construction de la qualité, dans la chaîne alimentaire complète, de l'aval vers l'amont » :

En particulier, notre démarche allant des effets santé des acides gras trans vers la production de matières grasses laitières modulées par l'alimentation du bétail constitue une approche intégrée qui permet de mieux appréhender l'ensemble des compartiments de la production au consommateur.

Nos données sont ainsi prise en compte par l'AFSSA dans l'évaluation du risque lié aux acides gras trans et dans l'évaluation de l'impact des pratique d'élevage sur la qualité nutritionnelle des produits.

Liste des principaux participants

Partenaires	Contacts	Adresse électronique
UMR 1019 INRA-Université Clermont I « Nutrition Humaine »	JM Chardigny	chardign@clermont.inra.fr
CNIEL	K Duhem	KDUHEM@CNIEL.com
UMR INSERM- Université de Bourgogne	M Narce	Michel.narce@u-bourgogne.fr
ITERG	N Combe	n.combe@iterg.com
UR « Herbivores » INRA	Y Chilliard	yves.chilliard@clermont.inra.fr
CRNH Rhône-Alpes	MC Michalski	marie-caroline.michalski@sante.univ-lyon1.fr
Lactalis R&D	P LeRuyet	pascale.leruyet@lactalis.fr
Valorex	G Chesneau	guillaume.chesneau@valorex.com
CEA	O Loreau	Olivier.LOREAU@cea.fr

NOTES

Résultat Provisoire

Relations entre les habitudes alimentaires et la prévalence des facteurs de risque cardiovasculaire dans trois régions françaises. EA 1801, Strasbourg, INSERM-UMR744, Lille ; INSERM 558, Toulouse, INRA-UMPE, Clermont-Ferrand, EA 3424, Strasbourg, INSERM-UMR870, Lyon.

1- Contexte et objectif

Les données récentes des 3 registres français des cardiopathies ischémiques (1997-2000) suggèrent un **ralentissement de la baisse des taux d'événements coronaires** qui avait été constatée dans les années 1980/90. Cette évolution masque en fait une divergence entre les trois centres : alors que la Communauté Urbaine de Lille (CUdL) se caractérise par une baisse des taux d'événements et de mortalité coronaires, la Haute-Garonne (HG) semble plutôt suivre une évolution croissante et le Bas-Rhin (BR) avoir des taux stables, suggérant ainsi, de plus, une réduction du gradient Nord-Sud de la maladie en France. Les raisons sous-jacentes de ces observations ne sont pas connues mais on peut émettre l'hypothèse que des évolutions divergentes de la prévalence des facteurs de risque cardiovasculaires (FRCV) sont en cours et/ou que les modifications majeures du mode de vie des dernières décennies ont favorisé l'émergence de facteurs de risque qui restent à définir.

L'objectif de MONA LISA NUT est de déterminer si **des profils de consommation alimentaire et d'activité physique ont pu contribuer à cette évolution**. Cette étude s'appuie sur une enquête épidémiologique de prévalence des FRCV dans la population, l'étude MONA-LISA, menée dans des échantillons randomisés des populations couvertes par les 3 registres entre octobre 2005 et décembre 2007. Elle fait suite à deux enquêtes similaires menées en 1985-1987 et en 1995-1997 dans les mêmes régions (projet OMS MONICA).

2- Enjeux et défis scientifiques

Plus spécifiquement, les objectifs de MONA LISA-NUT sont

- d'étudier **la prévalence et l'évolution** au cours des dernières décennies des **FRCV** des hommes et femmes de 35 à 64 ans des trois centres MONICA français (CUdL, HG, BR), trois régions classiquement caractérisées par un risque CV et des modes de vie contrastés,
- d'identifier **des typologies de consommation alimentaire et d'activité physique** et d'en préciser les **déterminants sociodémographiques, culturels, économiques et psychosociaux**,
- d'analyser **les relations des typologies avec les marqueurs du RCV**,
- d'étudier **l'évolution sur 20 ans** des profils de consommation alimentaire des hommes de 45 à 64 ans de ces trois régions, en relation avec celle du RCV,
- **de constituer une DNathèque** afin d'étudier les interactions entre les facteurs nutritionnels et les facteurs de susceptibilité génétique sur l'expression des FRCV.

Afin de répondre à ces objectifs, **une enquête épidémiologique transversale, multicentrique** portant sur un échantillon aléatoire représentatif de **la population d'hommes et de femmes de 35 à 74 ans** (l'évolution et le versant nutritionnel concernent les 35-64 ans) a été menée entre octobre 2005 et décembre 2007, selon une méthodologie identique à celle des enquêtes MONICA 1986 et 1996. Les participants ont été sélectionnés après stratification sur la taille des communes, puis sur l'âge et le sexe, de façon à obtenir 200 femmes et 200 hommes par centre et par tranche d'âge de 10 ans (soit 1600 sujets par centre). L'enquête comprenait un questionnaire administré (données socio-démographiques et économiques, **activité physique**, antécédents médicaux, **FRCV**, traitements suivis), un examen clinique (paramètres anthropométriques, pression artérielle, fréquence cardiaque), un prélèvement sanguin à jeun (glycémie, lipides sanguins, CRP..) et une **enquête alimentaire prospective de 3 jours**, réalisés selon des protocoles standardisés et identiques pour les trois enquêtes. Les données de l'enquête nutritionnelle menée en 2006 ont été complétées par 1) la détermination dans un sous-échantillon **de la composition en acides gras**

des lipides plasmatiques (n=1200) et des hématies (n=534), 2) l'administration d'un questionnaire spécifiquement développé pour évaluer **les attitudes alimentaires et certains déterminants psycho-sociaux des choix alimentaires**, et 3) la réalisation **d'enquêtes sociologiques qualitatives sous forme de focus groupes (n=9)** dans les trois régions. Les taux de participation ont été de 50% pour MONA-LISA et de 88% pour la composante MONA LISA NUT, identiques chez les hommes et les femmes.

3- Résultats acquis

a) PREVALENCE ET EVOLUTION DES FACTEURS DE RISQUE CARDIOVASCULAIRE

Afin de permettre une meilleure comparaison de l'évolution des différents FRCV, indépendamment de l'évolution de la structure de la population française, leurs prévalences chez **les hommes et les femmes de 35 à 64 ans** ont été standardisées sur la structure d'âge de la population française de l'année 2000. Les prévalences sont présentées pour les trois centres réunis, par sexe et avec un intervalle de confiance à 95%.

Facteur de risque	Hommes			Femmes		
	1996	2006	p	1996	2006	p
Hypercholestérolémie (%)	50.1 [47.7-52.5]	45.8 [43.5-48.1]	0.02	38.1 [35.9-40.3]	30.8 [28.8-32.8]	<0.01
Hypertension artérielle (%)	45,9 [42,7-49,0]	41,5 [38,6-44,5]	0.03	34,8 [32,1-37,5]	27,4 [25,0-29,7]	<0.001
Diabète (%)	7.6 [6.4 ; 8.7]	6.1 [5.0 ; 7.1]	0.07	5.7 [4.6 ; 6.8]	3.5 [2.7 ; 4.3]	<0.01
Obésité (%)	17,3 [15,5-19,1]	18,4 [16,6-20,2]	0,39	17,3 [15,5-19,1]	17,3 [15,6-19,0]	0,97
Syndrome métabolique (%)	26,3 [23,9-28,7]	23,1 [20,9-25,3]	0,07	18,1 [16,1-20,1]	15,1 [13,3-16,9]	0,02
Cons. d'alcool (%) (g/l)	84.1 [82.4-85.9]	82.5 [80.7-84.3]	0.22	62.9 [60.6-65.2]	59.5 [57.2-61.8]	<0.001
	37.6 [35.5-39.7]	25.1 [23.9-26.2]	<0.001	15.2 [14.2-16.1]	11.2 [10.5-11.9]	<0.001
Fumeurs actuels (%)	34,8 [31,9-37,6]	27,6 [25,1-30,1]	<0,001	19,6 [17,4-21,8]	20,1 [17,9-22,2]	0,51
Inactivité physique (%)	18,4 [16,3-20,4]	18,2 [16,2-20,2]	0,90	27,1 [24,6-29,6]	24,0 [21,7-26,3]	0,04

*Définitions des facteurs de risque :

Hypercholestérolémie: traitement hypolipémiant et/ou LDL-cholestérol ≥ 1.60 g/l ou cholestérol total ≥ 2.50 g/l

Hypertension artérielle: traitement ou régime hypotenseur et/ou PA systolique ≥ 140 mm Hg et/ou PA diastolique ≥ 90 mm Hg.

Diabète : traitement hypoglycémiant et/ou glycémie à jeun ≥ 1.26 g/l

Obésité : IMC ≥ 30 kg/m²

Syndrome métabolique : ≥ 3 parmi les 5 facteurs suivants: tour de taille ≥ 102 cm (l'homme), ≥ 88 (femme) ; PA $\geq 130/85$ mm Hg ; triglycérides $\geq 1,5$ g/l ; HDL cholestérol $< 0,4$ g/l (homme) ou $0,5$ g/l (femme); glycémie à jeun $\geq 1,0$ g/l ou diabète.

Consommateurs d'alcool: au moins une fois au cours de la semaine type. Consommation (g/l) calculée parmi les buveurs

Tabac: fumeurs actuels de cigarettes et/ou cigares et/ou pipe.

Inactivité physique (questionnaire en 4 classes) : moins d'une activité physique légère toutes les semaines, en dehors du travail.

Si les prévalences de l'hypercholestérolémie et de la consommation de tabac ou d'alcool diffèrent peu entre les trois centres, un gradient Nord-Sud (prévalence plus élevée à Lille et Strasbourg qu'à Toulouse) est observé pour l'obésité, l'hypertension artérielle, le diabète et le syndrome métabolique. Comme attendu la prévalence de l'ensemble des facteurs de risque, à l'exception du tabac, augmente avec l'âge. En revanche on observe une tendance à la baisse des principaux facteurs de risque entre 1996 et 2006 à l'exception de l'obésité. Si la prévalence de fumeurs a également diminué chez les hommes, notamment chez les plus jeunes, et chez les femmes âgées

de 35 à 44 ans, une augmentation sensible est observée chez les femmes dans les deux catégories d'âge les plus élevées et principalement chez les 45-54 ans.

b) Typologies de comportement alimentaire et d'activité physique

Les données des 3 enquêtes alimentaires des 3 jours (86, 96 et 06) ont été codées et transformées en nutriments à partir de la table CIQUAL complétée par la table SUVIMAX et regroupées en 66 classes d'aliments prédéfinies. L'activité physique a été évaluée avec le questionnaire MOSPA. Les typologies de comportement ont été recherchées à l'aide d'analyses en composantes principales (ACP). Le niveau socio-économique des individus a été évalué à l'aide de la durée d'études (tertiles calculés par enquête, centre, sexe et classe d'âge pour tenir compte de l'évolution de ce facteur au cours du temps). Deux séries d'analyses ont été menées :

- Une 1ère sur les données 2006 d'enquête alimentaire et de composition en acides gras des hématies (hommes et femmes de 35 à 64 ans) pour identifier des typologies de comportements et préciser leurs déterminants sociodémographiques, à la lueur des résultats des focus-groupes.
- La 2ème sur les données 1986, 1996, 2006 (hommes de 45 à 64 ans) pour étudier l'évolution de leurs comportements au cours des deux dernières décennies.

Typologies de comportements en 2006

La 1ère série d'analyse permet d'identifier deux axes : le premier axe met en opposition une alimentation « **traditionnelle et riche** » (pommes de terre, viandes rouges, huiles, alcool, beurre, pain, charcuteries, condiments, sauces) et une alimentation « **saine et légère** » (lait, fruits, yaourt et dans une moindre mesure poisson et huile d'olive). Le second axe oppose la consommation de « **légumes et de produits frais** » préparés à la maison à une alimentation de type « **easy, fast, and snack** » composée de confiseries et gâteaux, de snack food, de riz, pâtes, semoules, farine, pâtes à pizza, plats cuisinés ou préparés du commerce etc. Un comportement de type sédentaire (TV élevée) est associé à l'alimentation « traditionnelle et riche », la marche de loisir et les activités domestiques sont associées à la consommation de « légumes et de produits frais préparés à la maison » et une activité physique importante au travail à celle de type « easy, fast and snack ».

Lien avec les Caractéristiques Sociodémographiques des Sujets

L'analyse des caractéristiques sociodémographiques permet d'individualiser des regroupements d'individus.

- **Les hommes** se démarquent par une alimentation plus « **traditionnelle et riche** » que les femmes,
- **les 35-44 ans** par une alimentation plus souvent de type « **easy, fast, and snack** » que les sujets plus âgés. On peut rapprocher de ces données, les ACP préliminaires de la composition en acides gras des hématies qui permettent de discriminer de façon assez nette les 35-44 ans des **45-64 ans** sur un axe opposant acides gras saturés aux **acides gras n-3, aux CLA** (acides gras trans provenant des produits laitiers) et **aux diméthylacétals** (qui reflètent les phospholipides à liaison vinyl-ether ou plasmalogènes).
- La consommation de type « **traditionnelle et riche** » **est inversement liée à la durée d'études des sujets.**
- **La Haute-Garonne** se détache des deux autres centres par une consommation plus forte d'aliments « **sains et légers** » **et de « légumes et produits frais »**, ce quelle que soit la durée d'études, l'effet de celle-ci étant faible dans ce département. L'analyse par le niveau d'imposition donne des résultats similaires.

On peut rapprocher de ces données quelques unes des informations issues des focus groupes qui révèlent une bonne connaissance des FRCV (l'alimentation étant le plus spontanément évoqué) et une idéalisation des produits du « terroir » qualifiés « d'idéaux » mais peu accessibles, car trop chers et plus longs à préparer. Les facteurs socio-économiques mis en avant dans le non-respect des campagnes de prévention vont de paire avec une certaine désresponsabilisation des sujets qui rejettent cette responsabilité sur les modes de vie modernes et sur la « filière agroalimentaire », de

façon d'autant plus nette que le niveau d'éducation est faible. Si l'ensemble des consommateurs identifie « le gras » comme aliment à risque, sa consommation est cependant justifiée différemment en fonction des régions : alors qu'en Alsace, le gras est associé à une tradition gastronomique et que dans le Nord il est justifié par un environnement social contraignant, le Sud-Ouest se caractérise par une représentation plus positive de son alimentation, les « bonnes graisses » étant associées à un environnement régional favorable.

Lien avec les connaissances et les comportements de Santé

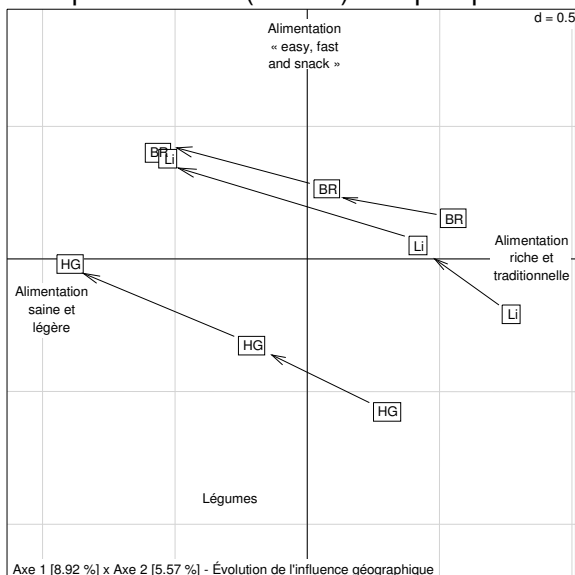
Les premières analyses montrent que les sujets sont relativement lucides sur la « qualité nutritionnelle » de leur alimentation ; cependant les individus qui déclarent que manger représente un moyen de conserver une bonne santé ou que l'alimentation est un facteur de risque de pathologie différent peu des autres. En revanche, sans surprise, une alimentation plus favorable comme la consommation de fruits, de légumes ou de poisson, est clairement associée à différents comportements de santé, tels que l'activité physique mais aussi des préoccupations de santé associées à des conduites de dépistage (de l'hypertension artérielle, du cholestérol ou du diabète), qui pourraient contribuer à l'effet bénéfique associé à la consommation de certains aliments.

LIEN AVEC LES FRCV

Une série d'analyses préliminaires confirment l'existence, dans notre population, de relations entre la consommation de certains nutriments (qualité des acides gras), groupes alimentaires (fruits et légumes, laitages) et l'existence de l'un ou l'autre FRCV. Ces relations telles que l'existence d'une association entre la consommation alimentaire d'acide alpha-linolénique d'une part et le taux de HDL-cholestérol (relation positive) ou de CRP (relation inverse) doivent être confirmées par des analyses plus fines et confortées par l'analyse de la composition en acides gras des phospholipides plasmatiques et des hématies

EVOLUTION DES TYPOLOGIES ALIMENTAIRES DE 1986 A 2006 CHEZ LES HOMMES DE 35 A 54 ANS.

Les typologies identifiées sur les 3 enquêtes sont très proches de celles observées en transversal (à l'exclusion de l'activité physique et du questionnaire de fréquence alimentaire non disponibles sous cette forme lors de la première enquête). La projection des données par centre, numéro d'enquête et NSE (tertiles) indique que :



- **La HG** se distingue clairement, quelle que soit l'enquête, par une alimentation **plus riche en légumes et plus « saine et légère »**, (fruits et poissons) que celle du BR et de la CUdL.
- **Au cours des trois décennies**, l'alimentation s'est modifiée de façon notable avec dans les trois centres une évolution parallèle traduisant **une diminution de l'alimentation « riche et traditionnelle »** (viande, pommes de terre, etc.) au profit d'une alimentation plus souvent **« saine et légère »** (fruits et poissons) mais aussi d'une alimentation moins favorable de type **« easy, fast, and snack »** (confiseries, gâteaux, « snack food », riz, pâtes, pâtes à pizza, etc.) et une stabilité de la consommation de légumes.

Le couplage de **la durée des études** et des centres montre que l'évolution de l'alimentation va

dans le même sens quel que soit le niveau socio-économique, les niveaux socio-économiques les plus faibles se traduisant toutefois par un « retard » sur les classes favorisées et une évolution plus forte vers l'alimentation de type **« easy, fast, and snack »**, ceci de façon plus nette dans la CUdL que dans les deux autres centres.

4- Conclusion et Perspectives

Si les premières données de MONA-LISA NUT montrent une prévalence élevée et augmentant avec l'âge des principaux FRCV, elle objective cependant une évolution favorable pour la majorité d'entre eux, sauf pour l'obésité dans les deux sexes et le tabac chez la femme. Parallèlement elle met en lumière une évolution non univoque des typologies alimentaires, dont les relations avec les marqueurs de risque CV seront affinées. L'ensemble des résultats présents et à venir, associés aux données socio-comportementales, devrait fournir des éléments essentiels pour l'élaboration des politiques de prévention en santé publique et pour la filière agro-alimentaire.

Equipes partenaires

Equipe N°	Nom Prénom	Organisme et unité d'appartenance	Adresse
1	Chantal Simon	EA 1801	Université Louis Pasteur Strasbourg
2	Jean Dallongeville	INSERM 508	Institut Pasteur de Lille
3	Jean Ferrières	INSERM 558	Faculté de Médecine de Toulouse
4	Jean-Louis Sebedio	Laboratoire de Nutrition Humaine-UMPE	INRA-Université d'Auvergne
5	Frank Hausser	EA 3424 GERSULP/IRIST	Université Louis Pasteur Strasbourg

NOTES

Politiques Nutritionnelles, Régulation des Filières Alimentaires et Consommation

Si pendant longtemps l'objectif principal des politiques alimentaires fut de garantir la sécurité alimentaire des populations, il s'agit dorénavant de poursuivre, au moins dans les pays développés, des objectifs plus qualitatifs. En effet, "mieux" manger devient de plus en plus important dans un contexte où l'espérance de vie augmente et où la pénurie fait place à l'abondance de produits à bas prix. De fait, l'alimentation devient un facteur de risque potentiel dans la mesure où une mauvaise alimentation selon les normes nutritionnelles favorise la survenue de maladies spécifiques comme l'obésité, diabète, cancers et maladies cardio-vasculaires. Aux Etats-Unis, l'obésité est la seconde cause principale de décès (300 000 morts par an) après le tabac (environ 400 000 morts par an).

Dans ce contexte, l'ambition du projet est de contribuer à l'élaboration d'une politique intégrée de santé publique mobilisant de façon cohérente les différents leviers dont dispose la puissance publique. Le projet se propose :

- d'étudier les articulations entre politiques agricoles et politiques nutritionnelles dans le cadre de certaines filières alimentaires (fruits et légumes d'une part et sucre et produits sucrés d'autre part)
- d'approfondir les connaissances scientifiques en ce qui concerne les mécanismes de la décision alimentaire
- d'évaluer les changements de consommation induits par des actions sur les prix des produits, sur les qualités nutritionnelles des produits et sur l'information dont dispose les consommateurs.

Mener ces recherches suppose en particulier le développement de nouveaux modèles et méthodes économétriques. C'est le cas notamment pour les travaux utilisant des données de panels de consommateurs où il faut traiter de manière satisfaisante les problèmes de données manquantes ou d'estimation de demandes individuelles alimentaires à partir de données portant sur des ménages. Un autre défi est la détermination de profils nutritionnels pour les aliments, permettant de mieux apprécier les changements alimentaires nécessaires pour améliorer l'équilibre nutritionnel de la diète. Par ailleurs, étudier les formes d'intervention publique possibles (modification des prix relatifs via des politiques de type bonus/malus par exemple) suppose au préalable de justifier un comportement 'paternaliste' des autorités publiques en matière de choix alimentaire (par ex. pour pallier à une incohérence temporelle des choix des consommateurs). Enfin, l'étude expérimentale portant sur des sujets faisant face à des modifications de prix des produits alimentaires pose de nouveaux problèmes méthodologiques dans un cadre où la décision porte sur un grand nombre de produits.

Du point de vue de la consommation alimentaire, un certain nombre de nouveaux résultats ont été obtenus. Les personnes ayant les plus forts scores d'adéquation des apports en un certain nombre de nutriments essentiels par rapport aux recommandations ont aussi une alimentation de plus faible densité énergétique et plus chère. Ainsi, une alimentation de bonne qualité nutritionnelle coûte généralement plus chère à apports énergétiques constants par rapport à une alimentation de mauvaise qualité nutritionnelle, en raison de sa faible densité énergétique mais aussi de sa richesse en nutriments essentiels. L'étude par groupes d'aliments en terme de rapport qualité nutritionnelle/prix suggère qu'il est important de rendre plus accessible financièrement les fruits, les légumes, les poissons ainsi que les céréales complètes. Des indicateurs nouveaux de qualité nutritionnelle (SAIN et LIM) ont été mis au point pour permettre d'identifier les aliments de bon rapport qualité nutritionnelle/prix. Enfin, nos résultats suggèrent qu'il est possible d'avoir une alimentation optimale sur le plan nutritionnel pour un faible coût mais que cela peut impliquer de s'éloigner beaucoup des habitudes alimentaires observées dans la population française.

Les études sur données de consommations de ménages sur longue période montrent que la relation entre consommation alimentaire individuelle et indice de masse corporelle (IMC) est fortement significative. Une augmentation de 100kcal par jour pendant un an impliquerait un

accroissement de poids de 1,7 à 2,4 kg, de 2,6 à 3,5 kg et de 3 à 3,6 kg respectivement pour les enfants, les femmes et les hommes (pour des tailles moyennes).

Du point de vue de l'offre alimentaire, nous avons mis en évidence (au moins dans le cas du marché de la pomme) un faible effet sur la consommation des stratégies de segmentation du marché et/ou de promotions, avec plutôt des effets sur la consommation des couches plutôt favorisées de la population. Certaines de ces actions promotionnelles font l'objet de conflits entre producteurs et distributeurs. Une des conséquences particulièrement significative de ces conflits est l'interdiction par les pouvoirs publics des promotions sur catalogues pour les fruits et légumes frais, et donc l'interdiction faite aux distributeurs d'informer les consommateurs sur des baisses de prix futures. Nous montrons que cette interdiction peut contribuer à un accroissement du prix moyen, notamment lorsque l'efficacité des catalogues est élevée. Enfin, une étude sur le marché de la tomate révèle que l'exercice du pouvoir de marché par la grande distribution est modéré. Il a surtout entraîné un transfert de valeur au profit des distributeurs et au détriment des producteurs. Il n'a pas entraîné, au moins dans les années les plus récentes, une diminution significative de la consommation. L'étude de la filière sucre montre que la réforme de la politique sucrière européenne même si elle a des impacts relativement limités sur la consommation de glucides simples va néanmoins à l'opposé des recommandations nutritionnelles du PNNS.

Les études sur les données de panel révèlent que la catégorie de produits 'gras et sucrés' (composée de produits relativement denses en calories et représentant une part non négligeable, de 18 à 25% selon les classes socio-économiques, de la quantité totale de calories consommées) a une élasticité prix relativement forte. On montre qu'une augmentation de 10% du prix des produits de cette catégorie ferait diminuer l'obésité infantile du quart et le sur-poids des enfants de plus de 28%. Pour les adultes, cette mesure n'aurait pas d'effet sur l'obésité masculine mais un effet important sur les femmes avec près de 14% de réduction. Nous avons également simulé une subvention des fruits et légumes de 10% et l'impact serait important sur l'obésité des hommes et des enfants, celui sur les femmes obèses étant légèrement plus faible, et il le serait également sur le sur-poids des enfants. Une politique de type bonus/malus (+10% sur la catégorie 'gras sucrés' et -10% sur les fruits et légumes) amplifie ces résultats avec près de 33,5% de réduction du sur-poids et près de 31% de réduction de l'obésité chez les enfants. On obtient également des résultats importants chez les femmes (-11,6% pour le sur-poids et -20,6% pour l'obésité) mais moindres chez les hommes (-8,8% pour le sur-poids et -11,3% pour l'obésité).

Les expériences menées sur des femmes appartenant à des classes sociales défavorisées (avec un groupe de référence de femmes à revenus plus élevés) amènent d'autres résultats intéressants comme une réactivité modérée mais significative à des changements de prix (baisse pour les fruits et légumes, augmentation pour les produits malsains) avec toutefois une certaine substitution entre fruits et légumes et autres produits sains (notamment certains produits laitiers, viandes, poissons) uniquement chez les femmes à faibles revenus. On relève également une forte hétérogénéité des comportements individuels chez les femmes à faibles revenus. Néanmoins, l'expérience montre qu'une baisse ciblée sur les fruits et légumes ou une politique de type bonus/malus peut contribuer à accroître la densité de nutriments et à équilibrer la diète alimentaire tout en améliorant le pouvoir d'achat (toutefois plus pour les revenus élevés).

Parallèlement, une recherche a été menée de façon à quantifier les impacts économiques et de santé de plusieurs scénarios de politiques publiques visant à accroître plus spécifiquement la consommation de fruits et légumes. Il apparaît que les accroissements des niveaux moyens de consommation en réponse à la mise en œuvre des politiques publiques de réduction de la TVA, d'aides au revenu des populations défavorisées ou d'information restent modestes. Il apparaît que les politiques non ciblées (réduction de la TVA ou information générique) sont plus efficaces que les politiques ciblées mais qu'elles accroissent les disparités entre les catégories de population.

En conclusion, le projet a permis l'établissement de nouvelles relations entre des économistes, des économètres et des nutritionnistes, se poursuivant par de nouveaux programmes de recherches, notamment dans le cadre de l'ANR, portant plus particulièrement sur les politiques d'informations nutritionnelles (projet ALIMINFO). Le projet a également permis de mieux appréhender les choix des consommateurs (en distinguant notamment différents types de consommateurs) et notamment sa réaction face à des changements de prix des produits. Il a permis d'analyser l'impact de

politiques publiques nutritionnelles et/ou agricoles. Il ouvre enfin des perspectives en matière d'analyse plus générale de l'impact des politiques publiques en tenant mieux compte i) du comportement des consommateurs, ii) de l'ensemble des interactions stratégiques entre les acteurs des filières (en particulier industries agro-alimentaires et distributeurs).

Liste des partenaires

- Partenaire 1: équipe MAIA (intégrée dans le GREMAQ depuis Janvier 2008), INRA département SAE2 (Philippe Bontems, bontems@toulouse.inra.fr)
- Partenaire 2: équipe UREN, UMR INSERM/INRA/CNAM (Serge Hercberg, hercberg@uren.smbh.univ-paris13.fr)
- Partenaire 3: équipe LORIA (a fusionné avec le CORELA depuis, nouvelle entité ALISS), (Louis-George Soler, Louis-Georges.Soler@ivry.inra.fr)
- Partenaire 4: équipe GREMAQ, Université de Toulouse 1, composante de Toulouse School of Economics (Helmuth Cremer, helmut@cict.fr)
- Partenaire 5: équipe CORELA (a fusionné avec le LORIA depuis, nouvelle entité ALISS) (France Caillavet, caillave@ivry.inra.fr)
- Partenaire 6: équipe GAEL, UMR INRA/Université de Grenoble (Bernard Ruffieux, Bernard.Ruffieux@inpg.fr)
- Partenaire 7: équipe Nutriments Lipidiques & Prévention des Maladies Métaboliques, UMR INRA 1260 / INSERM 476 / Universités AIX-MARSEILLE I & II (Nicole Darmon, Nicole.Darmon@univmed.fr)

NOTES

Investigations sur les cas d'encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles atypiques chez les petits ruminants

1- Objectifs de l'étude. Pourquoi l'étude a été lancée et dans quel contexte précis (en particulier économiques ou de santé publique).

Depuis le début de l'année 2002, la commission européenne a mis en place une surveillance active des ESST chez les petits ruminants. Celle-ci consiste à détecter, sur des échantillons de cerveau (tronc cérébral) prélevés à l'abattoir ou à l'équarrissage, la présence de la forme anormale de la protéine du prion (PrPres) à l'aide de tests commerciaux agréés (tests Prionics, Enfer et Biorad). Ces investigations ont permis de mettre à jour dans de nombreux pays (et notamment en Grande Bretagne, France, Allemagne, Belgique, Portugal) des cas de tremblante atypique qui présentent une analogie avec une nouvelle forme de tremblante décrite en Norvège en 1998 (Nor-98). Dans la plupart des pays, ces isolats représentent une proportion importante des cas d'ESST (jusqu'à 50% en France, en Allemagne et en Grande Bretagne, plus dans d'autres pays comme le Portugal). Ils se différencient des cas de tremblante classique par les propriétés biochimiques de la PrPres associée à cette forme de tremblante (notamment une sensibilité accrue à la dégradation par les protéases), par le fait qu'ils concernent des animaux significativement plus âgés et des animaux porteurs de génotypes réputés résistants à la tremblante classique. S'agissant d'une forme jusque là inconnue de tremblante affectant les ovins et les caprins, il convenait de s'interroger sur la possible transmission à l'homme de cette nouvelle forme de tremblante, de documenter sa variabilité, d'étudier sa pathogénie et sa relation avec le polymorphisme de la PrP chez les ovins.

2- Enjeux et défis scientifiques, techniques et sanitaires

Le principal enjeu scientifique était de mieux décrire et mieux connaître cette nouvelle forme de tremblante. Les enjeux techniques étaient peu importants dans la mesure où le consortium de laboratoires impliqué dans cette étude avait déjà mis au point et validé les techniques utilisées. En revanche, les enjeux sanitaires étaient de taille. Du point de vue de la santé animale il convenait de mieux connaître la pathogénie de la tremblante atypique (et notamment la présence de prions dans les tissus périphériques) afin de mieux évaluer les processus de contamination possibles à l'intérieur d'un troupeau ou entre troupeaux. Le déterminisme génétique associé à la tremblante atypique est aussi un facteur à prendre en compte dans la mesure où cette forme de tremblante semblait affecter aussi des animaux porteurs de génotypes réputés résistants à la tremblante classique (notamment les animaux homozygotes ARR/ARR) dont la diffusion est favorisée par les plans d'amélioration génétique récemment mis en place. Enfin, du point de vue de la santé humaine, il convenait d'évaluer la possibilité d'une transmission à l'homme.

3- Résultats acquis : ce qui est vraiment nouveau ou original, en termes de réponses aux questions et de mises au point d'outils ou de méthodes.

Les principaux résultats acquis au cours de cette étude sont:

- Par différentes approches (typage ELISA, western-blot, inoculation expérimentale chez la souris) nous avons montré qu'il n'existait pas de différences significatives entre les isolats de tremblantes atypiques provenant de France, de Grande Bretagne ou de Norvège (souche Nor-98) indiquant qu'il s'agit bien de la même forme de tremblante (souche?). Par ailleurs nous avons confirmé sur un nombre plus important d'isolats et sur d'autres modèles expérimentaux le caractère transmissible de cette maladie à prions.

- Une importante étude génétique portant (séquençage de 85 cas de tremblante atypique) a montré une sensibilité nettement accrue des animaux porteurs des allèles AFRQ (OR = 14) et ALHQ (OR = 8) pour la tremblante atypique, alors que l'allèle VLRQ est significativement protecteur (OR = 0.3). Confirmant ainsi (sur une plus grande échelle et sur la population ovine française) des résultats déjà obtenus en Norvège.

- Des inoculations, par voie intracérébrale, d'isolats de tremblante atypique à des souris transgéniques sur exprimant le gène humain de la PrP n'a pas permis de transmettre la maladie, indiquant que cette forme de tremblante est probablement peu transmissible à l'homme. Pour des raisons techniques, les expériences d'inoculation expérimentale chez le mouton ont été retardées et les données relatives à la pathogénie de la tremblante atypique ne sont pas encore disponibles en raison de la longue période d'incubation de la maladie chez le mouton et de la durée des expériences d'inoculation expérimentale chez la souris.

4- Perspectives et nouvelles questions de recherche soulevées

La question de la présence de prions dans les tissus périphériques (et notamment les tissus lymphoïdes) de petits ruminants infectés par la tremblante atypique reste soulevée. La réponse n'a pas pu être apportée dans le cadre de ce contrat en raison des retards intervenus dans les expériences de pathogénie mais les expériences sont en cours et devraient, à terme, permettre de répondre à cette question.

De la même façon, il convient de poursuivre les études génétiques et de s'interroger sur la possibilité de sélectionner les moutons sur la base de leur sensibilité à la tremblante atypique et d'étudier la possible origine génétique ou sporadique de cette maladie.

5- Réponses apportées par le projet aux enjeux majeurs du programme PNRA en 2005.

Les données accumulées au cours de cette étude ont permis de mieux connaître cette forme atypique de tremblante et de mieux apprécier les risques sanitaires associés. Ils ont, indirectement, participé à l'évolution de la police sanitaire applicable aux petits ruminants. Celle-ci considère maintenant, en effet, que la tremblante atypique, parce qu'elle présente un risque de dissémination plus faible que la tremblante classique et qu'elle est a priori peu transmissible à l'homme, présente un risque sanitaire plus faible.

Equipes partenaires :

Equipe N°	Nom Prénom	Organisme et unité d'appartenance	Adresse
1	Grassi Jacques jacques.grassi@cea.fr	CEA	SPI, Bâtiment 136, CEA/Saclay, 91191 Gif sur Yvette cedex
2	Eloit Marc meloit@vet-alfort.fr	UMR 1161 INRA- AFSSA-ENVA	Ecole Nationale Vétérinaire 7 av Gal de Gaulle 94704 MAISONS ALFORT
3	Lantier Frédéric Frederic.Lantier@tours.inra.fr	INRA	Laboratoire de Pathologie Infectieuse et Immunologie INRA Tours, 37380 Nouzilly
4	Laude Hubert laude@jouy.inra.fr	INRA	Virologie Immunologie Moléculaires, INRA Jouy 78350 Jouy-en-Josas
5	Andréoletti Olivier o.andreoletti@envt.fr	UMR INRA-ENVT	UMR –INRA ENVT – IHAP – Neuropathologie des ruminants, ENVT, 31076 Toulouse
6	Carole Moreno moreno@germinal.toulouse.inra.fr	INRA	Station d'Amélioration Génétique des Animaux, 31326 Castanet Tolosan cedex
7	Deslys Jean Philippe jean-philippe.deslys@cea.fr	CEA	GIDTIP, bâtiment 60, CEA FAR 92265 Fontenay aux-Roses

NOTES

SESSION 3.

QUALITE ET SECURITE DES ALIMENTS



1- Objectif de l'étude

La mondialisation du vin a remis en cause la géographie viticole mondiale, les modes traditionnels de consommation et les représentations attachées au vin et à son marketing. L'évolution démographique récente s'est par ailleurs accompagnée d'une préoccupation croissante pour la santé, le bien-être et le plaisir qui se retrouve dans les comportements alimentaires.

La crise viticole actuelle touche pour la première fois les vins de qualité. La régulation économique du marché concerne l'ensemble de la gamme des vins. Il est assez généralement admis que la sortie de crise passe, en particulier, par l'élaboration de produits mieux adaptés aux attentes et aux goûts des consommateurs. De ce point de vue les vins de qualité actuels se caractérisent par un degré alcoolique trop élevé (12 à 14 voire 15% vol.), en contradiction avec les politiques de santé publique et la sécurité routière.

2- Enjeux et défis scientifiques et techniques

L'enjeu du projet était donc de contribuer à la pérennité de la viticulture française au travers : de l'appréhension des modes et des contextes de consommation émergents et du développement d'une recherche intégrée permettant de construire à partir d'un cahier des charges pré défini des vins de qualité à teneur significativement réduite en alcool. Le programme a rassemblé 12 partenaires publics et privés. Les verrous identifiés ont conduit à structurer le projet en 3 ateliers dont les missions respectives étaient :

Atelier technologique. La sélection de stratégies innovantes permettant de réduire la teneur finale des vins en éthanol, l'identification des paramètres permettant leur choix raisonné et la maîtrise de leur mise en œuvre à l'échelle industrielle (désalcoolisation partielle des vins finis, réduction du rendement de conversion des sucres en éthanol par la levure, désalcoolisation partielle en cours de fermentation, sélection de cépages accumulant peu de sucres à maturité).

Atelier sensoriel. La description quantitative des modifications de perception sensorielle en fonction du niveau de réduction de la teneur en alcool et l'évaluation expérimentale de l'effet de l'information relative à la réduction de la teneur en alcool sur l'appréciation du produit et le comportement du consommateur.

Atelier socio-économique. L'analyse des questions soulevées dans les sociétés modernes par l'introduction de vins à teneur réduite en alcool au moyen d'une approche associant sociologie de la consommation et marketing.

Les travaux de ces trois ateliers vont conduire à la soutenance de trois thèses CIFRE en 2009.

Une étude de prospective sur le thème de l'alcool et de la filière vigne et vin met en synergie les connaissances accumulées dans les trois ateliers.

3- Principaux résultats

- ***Stratégies de réduction de la teneur finale des vins en éthanol.***

Quatre cépages qualitatifs (2 blancs et 2 rouges) résistants aux maladies fongiques ont été sélectionnés. Ils possèdent à maturité une teneur en sucre correspondant à 10 degrés d'alcool potentiel. Certaines pratiques culturales (e.g. conduite en taille minimale) permettent, mais sur une plage plus restreinte (-0,5%vol à -2%vol) de réduire la teneur en alcool du vin. Cette action répond aussi aux objectifs du Grenelle de l'Environnement de réduction de 50% des intrants phytosanitaires. Elle sera poursuivie. Compte-tenu des procédures réglementaires nécessaires pour l'homologation, ce type de matériel végétal devrait être mis à disposition des viticulteurs en 2014.

Une souche de levure présentant une déviation significative du flux de carbone vers la voie des pentoses phosphates a été sélectionnée, mais l'effet sur le rendement de conversion des sucres en éthanol s'est révélé très faible. Néanmoins, cette nouvelle souche de levure possède des qualités fermentaires intéressantes qui justifient la poursuite de son étude.

Différentes technologies de réduction de la teneur finale en alcool ont été étudiées: diminution de la teneur en sucre du moût, désalcoolisation en cours de fermentation, désalcoolisation du vin fini. Les possibilités ou les conditions de transfert vers la profession ont été précisées.

La fermentation du moût dilué avec du vin sans alcool donne des produits de qualité, cela reste très facile à mettre en œuvre pour les unités élaborant du vin sans alcool. Néanmoins son développement nécessitera de lever des verrous réglementaires. Le traitement du moût par couplage UltraFiltration-NanoFiltration (UF-NF, procédé REDUX) donne également de bons résultats, il est applicable en cave. Cependant, ce procédé induit une perte de volume non négligeable d'environ 6% par degré d'alcool potentiel retiré. Dans tous les cas, la diminution de la concentration en sucres améliore sensiblement le déroulement de la fermentation des moûts...

La désalcoolisation en cours de fermentation a été réalisée par distillation sous vide ou par « stripping ». Ces 2 méthodes nécessitent une intervention à un moment précis de la fermentation, contrainte très difficile à gérer en période des vendanges. Malgré certains résultats intéressants, ces contraintes d'organisation excluent de facto les applications en cave.

La désalcoolisation sur vin fini a été réalisée par assemblage après distillation partielle ou totale, stripping, osmose inverse (OI) couplée à la distillation (OI-D) ou aux contacteurs à membranes (OI-CM), nano-filtration couplée aux CM (NF-CM) et traitement direct par CM. Dans la majorité des cas pour un traitement éliminant 2 degrés d'alcool, l'assemblage du vin initial avec du vin totalement désalcoolisé par distillation ou le couplage OI-CM donnent des produits qui ne se distinguent pas du

vin témoin à la dégustation.

L'analyse par une approche d'économie de l'innovation des expériences professionnelles en cours a permis de confirmer que l'accès aux techniques de désalcoolisation ne constitue plus un verrou au développement des produits à teneur réduite en éthanol.

- ***Perception sensorielle des VDQAs***

En moyenne sur les échantillons préparés par l'atelier technologique (Merlot, Syrah, Chardonnay et Sauvignon blanc), la réduction d'alcool dans un vin titrant initialement 13%vol à 14%vol n'est pas perceptible tant que celle-ci reste inférieure à 3%vol. Un entraînement à l'analyse sensorielle des vins ne semble pas diminuer ce seuil.

Lorsqu'elle est perçue, la réduction d'alcool induit toujours une diminution de la sensation de chaleur et de la persistance du vin. De plus, dans les vins rouges on observe parfois une diminution de l'amertume au profit de l'astringence. Dans les vins blancs, c'est soit l'acidité, soit l'amertume qui augmente. D'un point de vue aromatique, les vins sont moins "puissants", mais cela laisse parfois la place à la dominance de notes fruitées en fin de bouche. Les effets sont tout de même très variables d'un type de vin à l'autre.

La complémentation aromatique a eu très peu d'impact sur l'appréciation des vins de Chardonnay partiellement désalcoolisés.

- ***Acceptabilité et comportement de consommation des VDQAs***

Une enquête auprès de plus d'un millier de personnes a montré que la teneur en alcool perçue ou attendue d'un vin de qualité se situe entre 10,5%vol et 13%vol pour les rouges et entre 9,5%vol et 12%vol pour les blancs et les rosés. Sachant que le titre alcoolique d'un vin a été réduit par un procédé technologique, le consommateur tend à ne plus considérer ce produit comme un vin lorsque son titre alcoolique est inférieur à environ 9%vol.

En dégustation à l'aveugle, les consommateurs français apprécient autant les VDQA que les vins de base, du moins jusqu'à 3 %vol d'alcool retiré. Dans les mêmes conditions, les professionnels du vin déprécient les VDQA dès une réduction de 2%vol d'alcool en invoquant une perte de

complexité, alors que cette dépréciation n'intervient qu'à partir de 4%vol pour la moyenne des consommateurs. Cette dépréciation est souvent associée par les consommateurs à une perte de complexité, mais pourrait être atténuée par une complémentation en sucre. Une segmentation a cependant été mise en évidence chez les consommateurs avec un groupe qui apprécie les VDQA dont la réduction est supérieure à 3%vol et un groupe qui les déprécie. Ce dernier contient davantage d'hommes, plutôt âgés et amateurs de vins.

Bien qu'en dégustation à l'aveugle, des vins à teneur réduite en alcool de plus de 3 degrés puissent donc être préférés au vin standard, les consommateurs français déprécient en général les vins annoncés à teneur réduite en alcool et ce phénomène est plus net pour les vins rouges que pour les vins blancs. Toutefois, derrière cette tendance moyenne se cache une forte segmentation : soit l'attente vis-à-vis des VDQA n'est pas négative (en majorité des femmes, des jeunes et des non connaisseurs) et dans ce cas les VDQA sont en général préférés à la dégustation, soit il existe un a priori négatif fort et dans ce cas la dégustation le confirme et l'aggrave (consommateurs masculins, plutôt connaisseurs en vins et âgés).

Enfin, le volume de vin consommé au cours d'un repas, qu'il soit pris en restauration collective ou à domicile, ne semble pas lié au titre alcoolique de ce vin, ce qui justifie la promotion des VDQA d'un point de vue santé publique. D'ailleurs, nos enquêtes montrent que dans de nombreux pays, le degré d'alcool du vin ne figure pas dans les critères de choix du vin au restaurant ou en magasin.

- ***Etudes sociologiques***

De l'analyse comparative entre la France et la Grande-Bretagne de la « filière du boire » ressort une évolution sensible des positions des différents acteurs pendant les 3 années d'observation. Les vins à teneur réduite en alcool sont devenus un objet d'intérêt pour la presse et la profession, même si en matière de consommation, le bilan est moins clair que la prédiction de certains organismes.

Les vigneronnes favorables aux VDQA sont ceux qui pensent leur production en termes de gammes et de stratégies commerciales. Ils souhaitent rester maîtres des procédés et préfèrent des solutions viticoles.

En France, les cavistes indépendants à clientèle urbaine acceptent maintenant de référencer des VDQA de domaines à forte notoriété. En Grande-Bretagne, la filière commerciale tente de lancer les vins à teneur en alcool réduite pour répondre à la diversification croissante de la demande et aux problèmes d'alcoolisme des jeunes en soirées festives. La promotion de ces produits reste peu développée avec des engagements nettement différents de diverses enseignes et une promotion préférentielle du secteur haut de gamme.

Les VDQA sont appréciés des femmes actives urbaines (30-50) buvant régulièrement ou par une population âgée qui retrouve le vin de table d'antan (léger et équilibré). Plus généralement les VDQA semblent correspondre aux attentes de nouvelles clientèles ne disposant pas forcément d'une culture du vin, ou de groupes de consommateurs qui veillent à leur santé. Le vin léger plaît, le vin allégé est bien perçu s'il est fait par un viticulteur à grande notoriété ou s'il s'inscrit dans une logique de marque qui « sécurise » le consommateur. Par contre si le vin allégé est « anonyme » il suscite des représentations négatives d'un produit industriel et peu naturel.

A partir d'expériences de distribution de VDQA en Angleterre et d'interviews d'animateurs de club de dégustation ou de journalistes, il ressort que la façon de présenter les VDQA construit une représentation préalable qui favorise ou freine leur dégustation.

- ***Etudes prospectives, nouvelles questions***

A partir du travail des 3 ateliers et de la prospective sur la filière « vignes et vins de France » réalisée par l'INRA, un travail collectif a permis de faire émerger des hypothèses complémentaires et de générer une nouvelle matrice interdisciplinaire. Les hypothèses particulièrement liées entre-elles ont été regroupées en trois sous-ensembles qui concernent :

- Les relations entre les politiques de santé publique et les attentes des consommateurs,
- La perception de la désalcoolisation par les consommateurs,
- L'élargissement de la gamme des méthodes œnologiques légales et sa conséquence sur la désalcoolisation et les teneurs en alcool des vins dans l'Union Européenne.

A partir de chacun de ces 3 groupes d'hypothèses, des scénarii ont été générés.

4- Quelques conclusions et perspectives

Le vin reste un produit traditionnel pour lequel plusieurs technologies permettent d'éliminer l'excès d'alcool (2%vol à 3%vol) sans impacter significativement les caractéristiques organoleptiques. Lorsqu'on l'interroge spécifiquement, le consommateur privilégie cependant pour la réduction d'alcool les approches viticoles, mais des variétés adaptées ne seront pas disponibles avant plusieurs années. Pour les vins jusqu'à 8% - 10%vol, la cible marketing semble être une population jeune, plutôt féminine et sans culture préalable du vin. Tous les vins, en particulier les rouges, ne se prêtent pas à une désalcoolisation poussée. Enfin, les études concernant les degrés d'alcool plus bas (6%-8%vol) situent clairement ces produits hors gamme vin. Ce travail ouvre des pistes sérieuses pour l'innovation en matière de vins à condition de préparer le consommateur à découvrir de véritables produits nouveaux, agréables à boire et respectant ses attentes pour des vins frais, aromatiques et désaltérants car à faible teneur en alcool.

Les effets d'une réduction supérieure à 3%vol de la teneur en alcool sur les caractéristiques sensorielles sont variables d'un type de vin à l'autre. Si ce phénomène a été bien décrit au cours du projet, les mécanismes sous-jacents restent très mal compris et mériteraient d'être précisés par une approche physico-chimique plus générique en milieu modèle puis dans les matrices vin ainsi que par une approche physiologique sur les mécanismes en jeu lors de la perception de l'alcool en mélange avec beaucoup d'autres composés.

5-Réponses apportées aux enjeux du programme PNRA 2005

Le projet s'inscrivait dans les priorités 1 (comportement des consommateurs) et 3 (construction de la qualité de l'aval vers l'amont) du programme PNRA.

Par rapport à la première priorité, il apporte des connaissances originales sur l'incidence de la teneur en alcool sur la perception sensorielle des vins par le consommateur et sur l'interaction de l'information relative à la désalcoolisation avec cette perception. Enfin, il a permis de délimiter les niveaux de désalcoolisation acceptables. Par rapport à la priorité 3, il précise l'efficacité et l'effet sur les caractéristiques du produit de différentes techniques de réduction de la teneur finale en alcool. Il précise de plus leurs possibilités et leurs délais d'application. Enfin, il ouvre de réelles perspectives de développement de boissons faiblement alcoolisées.

Equipes participantes

Coordonnateur : Jean-Louis ESCUDIER, escudier@supagro.inra.fr

Progr : <http://www.inra.fr/content/download/7934/110854/version/2/file/Escudier+VDQA.pdf>

Unité INRA, Unité expérimentale de Pech Rouge
INRA, Domaine de Pech Rouge, 11430 Gruissan
Contact : Magali BES, bes@supagro.inra.fr

INRA, UMR SPO, 2 place Viala, 34060 Montpellier,
Contact : Guy ALBAGNAC, albagnac@supagro.inra.fr

INRA, UMR GMPA, 78850 Thiverval Grignon
Contact: Violaine ATHES, vathes@grignon.inra.fr

MSH Villes et territoires - UMR Citères, BP 60449, 37204 Tours
Contact : Jean-Pierre CORBEAU, jean.corbeau@univ-tours.fr

INRA, CESG, 15 rue H. Picardet 21000 Dijon
Contact: Pascal SCHLICH, schlich@cesg.cnrs.fr

INRA, UMR Flavic, BP 86510, 21065 Dijon
Contact : Yves LE FUR, y.lefur@enesad.fr

UNGDA, 147 bd Camélinat, 92247 Malakoff cedex
Contact: Jean-Paul VIDAL, jpvidal@ungda.com

IFV Nîmes Rhodilhan, 30230 Rodilhan
Contact : Philippe COTTEREAU, philippe.cottureau@itvfrance.com

Société Lallemand, 19 rue Briquetiers, 31700 Blagnac
Contact : Anne JULIEN, ajulien@lallemand.com

Groupe Pernod Ricard, Centre de recherche de Créteil
Contact : Nathalie JACQUET, nathalie.jacquet@pernod-ricard-rd.com

FHVDP S/C CFVDP, BP 20006 Maurin 34871 Lattes cedex
Contact Bernard AUGÉ, b.auge@vignerons.com

INRA, UMR MOISA, 2 place Viala, 34060 Montpellier
Contact : François D'HAUTEVILLE, hautevil@supagro.inra.fr
Contact prospective : Hervé HANNIN, hannin@supagro.inra.fr

Thèses en appui des études :

Atelier socio-économique (CFVDP-UMR MOISA) Acceptabilité par le consommateur d'un vin volontairement allégé en alcool, Josselin MASSON, Resp.Scient. François D'HAUTEVILLE.

Atelier sensoriel : (Groupe Pernod-Ricard-CESG) Impact de la réduction en éthanol sur la perception sensorielle et l'acceptabilité du vin par le consommateur, Sophie MEILLON, Resp.Scient. Pascal SCHLICH.

Atelier technologique (Sté Lallemand-UMR SPO), Développement de souches de levures à rendement en éthanol abaissé : déviation du flux carboné vers la voie des pentoses phosphates, Axelle CADIERE, Resp.Scient. Sylvie DEQUIN.

NOTES

PASTALEG

Coordinatrice : Valérie MICARD

Conception d'aliments à base de blé dur et de légumineuses : Contribution de la structuration des constituants à leurs qualités nutritionnelles et organoleptiques

Le projet « PASTALEG », profitant de la conception d'une pâte alimentaire à base de blé dur et de légumineuse, vise à **étudier l'influence de la structure d'une matrice alimentaire sur ses qualités nutritionnelles**. Cette pâte mixte, est un mélange intime de deux catégories d'aliments très représentés dans la diète méditerranéenne, dont les bénéfices santé sont mis en évidence par de nombreuses études épidémiologiques. Si quelques études relatent la fabrication d'aliments mixtes « céréale-légumineuse », elles ne visent souvent d'un point de vue nutritionnel qu'à enrichir l'aliment en fibres, en protéines et en acides aminés essentiels et se concentrent plutôt sur les répercussions technologiques et organoleptiques de l'incorporation de la légumineuse. PASTALEG s'est proposé d'aller plus loin en étudiant in vitro la digestibilité des fractions protéique et amylacée, la fermentescibilité des fibres et oligosaccharides non digestibles et en particulier le risque de flatulence induit par ces constituants et l'assimilation des lipides, tout en reliant ces propriétés à des variations de structure de l'aliment. **L'effet de la structuration** de l'aliment a été abordé en comparant des pâtes mixtes de composition constante mais de structures différentes (effet matrice « **à petite échelle** ») obtenues en jouant sur les étapes du procédé fabrication, puis en comparant une pâte mixte standard à un repas mixte, constitué d'un spaghetti au blé dur et d'une purée de légumineuse dans les proportions où elles sont travaillées lors de la fabrication de la pâte mixte (effet matrice « **à grande échelle** »). Les répercussions de l'incorporation de la légumineuse sur les propriétés technologiques, culinaires et sensorielles des pâtes ont également été déterminées. Pour réaliser ce projet, quatre équipes de recherche, l'UMR IATE (Montpellier SupAgro), l'unité BIA (INRA Nantes), l'UMR PhAN (CNRH, Nantes), l'UMR 476 (INSERM) et un industriel (CRECERPAL, Panzani) ont collaboré.

Le projet « PASTALEG » a permis de prouver la faisabilité technologique d'une pâte incorporant un taux élevé (35%) de légumineuse, tout en utilisant des procédés classiques de fabrication. Aucun aliment de ce type n'est actuellement disponible sur le marché. D'un point de vue nutritionnel, les pâtes obtenues sont riches en protéines (et équilibrées en acides aminés indispensables), en fibres, vit B1, Mg et P. Elles sont également pauvres en lipides et en α -galactosides, substances caractéristiques des légumineuses et responsables de flatulences. L'incorporation de la légumineuse se répercute sur la digestibilité protéique in vitro de la pâte, qui devrait ainsi être légèrement inférieure, in vivo. Son index glycémique (IG), lui, devrait être aussi bas que celui des pâtes au blé dur, ce qui est très positif, pour ce nouvel aliment.

Le projet « PASTALEG » a également permis de démontrer que des variations structurales, obtenues sur une pâte de même composition par modifications de certaines des étapes de son procédé de fabrication, pouvaient influencer certaines de ses propriétés nutritionnelles (digestibilité protéique et amylacée). C'est l'effet matrice « à petite échelle ». Un séchage adapté des pâtes aux légumineuses peut ainsi diminuer de manière intéressante leur teneur en glucose rapidement disponible (pour 100g de glucides disponibles) de 11 à 14 points, teneur liée à la réponse glycémique à l'aliment et donc à l'IG déterminé in vivo. Cet important effet matrice à « petite échelle » contraste avec les différences peu marquées de propriétés nutritionnelles obtenues entre une pâte mixte (séchage standard) et le repas mixte (effet matrice « à grande échelle »). La biodisponibilité des lipides n'est pas influencé par les effets de structuration à petite ou grande échelle.

Le projet PASTALEG a donc démontré l'intérêt nutritionnel de la réunion, et qui plus est de la structuration, de deux matières premières (blé dur et légumineuse) en un aliment de type pâte alimentaire, ainsi que sa faisabilité technologique. La valeur ajoutée de ce projet tient notamment dans la démonstration du lien qui existe entre le procédé, la structure d'un aliment et ses propriétés nutritionnelles (effet matrice « à petite échelle »). Ce lien, impliquant les paramètres du procédé, souligne l'importance du rôle des industriels dans l'élaboration des propriétés nutritionnelles d'un aliment.

Liste des partenaires et adresses mail

- P1 : UMR IATE, Montpellier SupAGRO (Coordinateur ; Contact : V. Micard, micard@supagro.inra.fr)
P2 : Unité BIA, INRA Nantes (Contact : C. Brossard, brossard@nantes.inra.fr)
P3 : UMR PhAN, CRNH Nantes (Contact: M. Champ, Martine.Champ@univ-nantes.fr)
P4 : UMR 476, INSERM Marseille (Contact: I. Crénon, isabelle.crenon@univmed.fr)
P5 : CRECERPAL, Panzani (Contact : C. Minier, cminier@panzani.fr)

NOTES

Contexte et enjeux dans le cadre du PNRA 2005

En intéressant plus de 40 % de notre bol alimentaire (soit 23 millions de tonnes de denrées), et en étant responsable de 8 % de la consommation électrique de notre pays et d'environ 3% des émissions nationales de gaz à effet de serre, le froid en agro alimentaire se positionne comme étant l'un des domaines où **l'amélioration des technologies existantes et l'intégration de nouvelles technologies** permettra, à travers une meilleure **gestion de l'énergie et des fluides**, de mieux maîtriser l'empreinte environnementale des industries et de la **chaîne alimentaire**.

Si importantes soient-elles, ces considérations environnementales ne doivent pas s'affranchir de considérations sur la **construction de la qualité et de la sécurité de nos aliments** : le froid est d'abord et avant tout utilisé à cette fin.

Dans ce contexte, le projet SIMPFRi se proposait d'aborder la problématique du froid dans trois de ses dimensions : celle de l'hygiène des équipements (biodiversité, nettoyabilité), celle de l'impact des procédés sur la qualité des produits, et celle de l'énergie consommée par les systèmes de production de froid utilisés. Il visait également à évaluer dans quelle mesure le couplage entre ces trois dimensions était possible.

Les travaux se sont focalisés sur des équipements particulièrement courants (les réfrigérateurs domestiques), sur des équipements "difficiles à maîtriser" (échangeurs de chaleur à surface raclée et fabrication de crème glacée), sur des équipements particulièrement "énergivores" (meubles frigorifiques de vente) et sur des équipements originaux en termes d'aérodynamique (gros volumes et chambres froides).

Problématique scientifique et technique

A partir du constat que les systèmes et procédés frigorifiques utilisés dans nos industries mettent en œuvre des vecteurs énergétiques (air, liquide) dont l'écoulement assure le transfert de chaleur et de matière entre le système frigorifique et le produit alimentaire, le projet SIMPFRi avait pour objectif de mettre au point des méthodes et approches originales permettant de décliner l'impact de ces écoulements et transferts :

(i) en termes d'installation et d'extension d'une contamination microbienne, ainsi que d'aptitude au nettoyage des équipements frigorifiques. Cet objectif nécessitait au préalable une meilleure connaissance de la biodiversité et de la contamination existant dans les équipements utilisés, et en particulier dans les appareils de type réfrigérateur domestique et meuble frigorifique de vente dont l'hygiène reste mal connue et difficile à maîtriser,

(ii) et en termes de conséquences que ces écoulements et transferts sont susceptibles d'avoir sur la consommation énergétique des machines et systèmes frigorifiques associés aux équipements mis en œuvre. Cet objectif s'appuyait sur le développement de méthodes génériques de prédiction des performances énergétiques et exergétiques des systèmes en régimes stationnaires et transitoires.

A partir d'une approche des écoulements et des transferts principalement basée sur la mécanique des fluides numérique – dont la formulation et la validation expérimentale était l'une des dimensions scientifiques fortes du projet – SIMPFRi visait à proposer des méthodes et approches originales permettant d'exploiter intensivement ces modèles pour prédire des optimums de fonctionnement au regard de la qualité du produit traité et de la consommation d'énergie du système d'une part, et d'autre part, pour prédire les zones susceptibles d'héberger une contamination et d'en limiter l'extension.

Principaux résultats et perspectives scientifiques

Les travaux conduits par l'AFSSA sur la biodiversité dans les équipements frigorifiques encore mal connus sur ce plan indiquent que la diversité microbienne est plus importante dans les réfrigérateurs domestiques que dans les meubles de vente, sauf en ce qui concerne les moisissures ce qui témoigne d'une forte charge en micro-organismes aéroportés dans les supermarchés. Dans les deux types d'équipement, les micro-organismes cultivables dominants comptent des espèces utilisées comme ferments et, en moins grand nombre, des bactéries d'altération des aliments. La présence de ces dernières, peu aptes à résister aux stress hydriques subis dans les équipements, pourrait s'expliquer par leur entrée massive avec les aliments.

Les travaux réalisés ont également mis en évidence que les populations bactériennes de surfaces neuves atteignent des valeurs stables (de l'ordre de 10^3 à 10^4 cellules/cm²) 3 à 4 jours après leur introduction dans les meubles de vente horizontaux contenant des produits charcutiers non-emballés.

D'autre part, la persistance de *Bacillus cereus* dans les équipements frigorifiques doit être confirmée par des études ultérieures, notamment s'il s'avérait que les souches isolées étaient pathogènes.

Enfin, la comparaison des qualités hygiéniques de matériaux de construction d'équipements frigorifiques montre qu'ils diffèrent essentiellement sur leur capacité à retenir des souillures organiques.

L'étude des échangeurs à surface raclée a été réalisée pour deux phases d'exploitation distinctes:

- La simulation numérique de la phase de nettoyage a été conduite par GEPEA sur une géométrie correspondant à un prototype de laboratoire dont les parois transparentes ont permis une validation expérimentale par PIV. Ils ont démontré que les gradients de cisaillement en paroi étaient insuffisants pour assurer un bon nettoyage en place de l'échangeur au niveau des bols d'entrée et de sortie du produit. L'approche expérimentale de la contamination et de la nettoyabilité de cet équipement a été réalisée par le LGPTA. Elle a nécessité la mise au point d'une méthodologie originale et reproductible. Elle a confirmé les résultats numériques obtenus. L'ensemble des travaux ont permis de cadrer certaines stratégies (débits pulsés) qui permettraient d'améliorer les procédures de nettoyage, notamment en ce qui concerne les contaminations isolées. La validation et l'exploitation de ces stratégies constitue une voie de recherche prometteuse.

- La simulation numérique de la phase de production de crème glacée a permis la mise au point par GEPEA et GénIAL d'une méthode innovante de mesure de distribution de temps de séjour dans un système multiphasique avec changement d'état. L'utilisation de cette méthode sur un système industriel pilote a permis de réaliser une identification de paramètres d'un modèle simplifié d'écoulement dans les échangeurs à surface raclée lors de la fabrication de crèmes glacées. Son couplage avec un modèle (simplifié) de système frigorifique réalisé par le Cemagref a mis en évidence les relations entre les paramètres de procédés, la consommation énergétique de la ligne de production et la qualité de la crème glacée en sortie de freezer. Une expérimentation sur site industriel a été réalisée par le Cemagref et MATAI. Elle a notamment mis en évidence l'importance de la vitesse du rotor sur la consommation énergétique globale. L'influence de cette vitesse sur la qualité (texture, onctuosité, ...) du produit reste encore peu connue et devrait être explorée dans des recherches à venir. Le couplage de cette approche avec le modèle DTS permettra d'envisager une solution globale de pilotage d'une ligne couplant énergie minimale et qualité maximale.

Sur le plan expérimental, des travaux de laboratoire conduits par GénIAL ont permis la mise au point de mesures de suivi en ligne de la cinétique de cristallisation par diffraction laser (FBRM), permettant notamment une meilleure compréhension de l'influence des paramètres du procédé sur la taille et le nombre de cristaux et permettant d'ajuster les coefficients de nucléation et de croissance d'un modèle de cristallisation développé au cours du projet.

Les travaux portant sur les chambres froides et les grands volumes réalisés par QuaPA ont permis une approche originale de la prédiction de l'extension d'une contamination aéroportée dans

cet équipement : un modèle Lagrangien permettant de prédire le dépôt des particules contaminantes (dans la gamme de 1 à 50 μm) sur les parois solides d'un grand volume a été développé. L'approche proposée a été validée sur des données de la littérature. L'affinement du modèle développé et sa validation expérimentale constituent des voies de recherches intéressantes.

Ces travaux ont également servi de base au calage d'un modèle simplifié d'écoulements d'air dans ces gros volumes. Ce modèle simplifié, développé par le Cemagref, se base sur l'analogie hydraulique / électrique. L'utilisation intensive de ce modèle a permis de mettre en évidence l'existence d'une vitesse optimale de soufflage, compromis optimal entre hétérogénéité des températures dans l'enceinte et consommation d'énergie. L'existence de cet optimum a été confirmée expérimentalement, et l'extension de la démarche à des configurations différentes (entrepôts de grande longueur, de grande hauteur, ...) constitue une voie de recherche intéressante.

Les travaux sur les **réfrigérateurs domestiques** ont abouti au développement d'une méthodologie numérique originale tenant compte des transferts de chaleur et de matière (eau) au niveau du produit stocké dans cet équipement. L'utilisation de ce modèle développé par GénIAL permet la prédiction de la cinétique d'évaporation (ou de condensation) du produit. Il permet également de prédire la position des zones chaude et humide où le produit est plus exposé au risque sanitaire. L'association de ces modèles déterministes à des modèles stochastiques décrivant une série de phénomènes aléatoires possibles (ouvertures de portes, réglage du thermostat, température ambiante, ...) permettra d'avoir une approche plus complète du risque sanitaire lié à l'utilisation de cet équipement.

Ces modèles ont été validés expérimentalement sur maquette de réfrigérateur à l'échelle 1. Cette validation a été l'occasion de mettre au point une méthode de mesure de la convection naturelle en cavité close à l'aide de la technique de la PIV. Les données expérimentales obtenues ont permis le calage d'un modèle simplifié du comportement thermique de l'intérieur du compartiment réfrigérateur. Le couplage de ce modèle à celui décrivant le cycle thermodynamique de la machine frigorifique associée permettra de mieux appréhender la performance énergétique de cet équipement.

Les travaux conduits par le Cemagref, le FAST et BSH ont permis de démontrer les potentiels des matériaux à changement de phase (« de l'inertie thermique ») pour réduire la consommation énergétique des réfrigérateurs domestiques. Cette démonstration s'est appuyée sur la validation expérimentale d'un prototype développé dans le cadre du projet. La modélisation détaillée (locale) du comportement du matériau (fronts de fusion / solidification) implanté sur l'évaporateur de la machine frigorifique permettra d'en optimiser l'implantation et les caractéristiques. La généralisation de ce principe à d'autres types de machines frigorifiques constitue une voie de recherche prometteuse.

La simulation numérique du comportement des rideaux d'air des **meubles de vente** a permis de mettre en évidence et de quantifier l'utilité de préserver l'équilibre entre flux d'airs forcés dans l'allée des supermarchés et le fonctionnement des meubles de vente dans une optique d'optimisation énergétique de l'équipement. Les travaux conduits par le Cemagref et le LET ont notamment permis d'optimiser les paramètres de conduite des solutions techniques proposées par Bonnet-Névé et Cesbron. Les résultats obtenus ont été validés expérimentalement à l'échelle 1 par le Cemagref. Ils ont permis de démontrer qu'un bon paramétrage des systèmes permettait de lutter contre le phénomène d'allée froide en évitant les surconsommations et les déstabilisations de l'aérodynamique des meubles. Un écart de 20 à 25% a été mis en évidence entre les consommations énergétiques, suivant le niveau d'optimisation aérodynamique.

Le partenariat recherche-industrie engagé sur cette tâche est prolongé par de nouvelles actions de recherche. L'étude des phénomènes de turbulence dans les rideaux d'air séparant les ambiances chaudes et froides est une des voies d'approfondissement dont les applications sont très larges dans l'industrie.

De façon plus générique, les travaux conduits par le LEMTA sur **l'optimisation dynamique des installations frigorifiques** ont permis de développer des modèles simples de machines frigorifiques en régime transitoire. Ces modèles montrent, en utilisant une méthode d'Euler Lagrange, qu'il existe dans le principe une trajectoire en température du milieu à refroidir conduisant à un optimum de fonctionnement de la machine, cet optimum dépendant de

l'architecture de l'installation et des conditions initiales et finales de cycle imposées par le système. Ces modèles ont été validés sur un pilote semi industriel disponible à EDF et sur une boucle expérimentale disponible au Cemagref. La poursuite des travaux, notamment sur l'analyse des systèmes en régimes transitoires, permettrait de mieux identifier les apports de l'approche exergétique (a priori plus pertinente au niveau de la conception et du dimensionnement des systèmes) comparativement à l'approche énergétique (a priori plus pertinente au niveau de la définition d'un point de fonctionnement optimum d'un système existant).

Les partenaires et les principaux acteurs du projet SIMPFri

Nom	Prénom	Labo	mail
Alvarez	Graciela	GénIAL	graciela.alvarez@cemagref.fr
Arroyo	Georges	Cemagref	georges.arroyo@cemagref.fr
Benezech	Thierry	LGPTA	Thierry.Benezech@lille.inra.fr
Benkhelifa	Hayat	GénIAL	hayat.benkhelifa@cemagref.fr
Boussehain	Rahal	LEMTA	boussehain@insa-strasbourg.fr
Bout	Emilie	BSH	Emilie.Bout@BSHG.COM
Carpentier	Brigitte	AFSSA	b.carpentier@lerpac.afssa.fr
Fayolle	Francine	GEPEA	fayolle@enitiaa-nantes.fr
Flick	Denis	GénIAL	flick@inapg.fr
Guilpart	Jacques	Cemagref	jacques.guilpart@cemagref.fr
Laguerre	Onrawee	GénIAL	onrawee.laguerre@cemagref.fr
Leducq	Denis	Cemagref	denis.leducq@cemagref.fr
Mergui	Sophie	FAST	mergui@fast.u-psud.fr
Mirade	Pierre Sylvain	QuaPA	mirade@clermont.inra.fr
Mousset	Stéphane	Bonnet	stephane.mousset@bonnetneve.com
Nouhin	Matthieu	Matal	mnouhin@matal.fr
Penot	François	LÉT	francois.penot@let.ensma.fr
Rabin	Christian	Cesbron	christian.rabin@cesbron.com
Sicard	Frédéric	EDF	frederic.sicard@edf.fr

NOTES

SCN BEER

Coordinateur : Michel GAUTIER

Les staphylocoques à coagulase négative dans les fromages, les salaisons et les ateliers de fabrication : Evaluation de la biodiversité et des risques sanitaires.

Les aliments fermentés (fromages, salaisons) constituent un héritage culturel et gastronomique de grande valeur dans la plupart des pays européens. Ils représentent, en France, environ 30% du chiffre des industries agro-alimentaires. Cette production se caractérise par son extraordinaire variété de procédés et de goûts, qu'elle doit, pour la plupart, à l'expression au cours de l'affinage, d'une flore d'intérêt technologique complexe (ferment et indigène). Les professionnels français ont fait le choix de conserver, conforter et valoriser cette diversité tout en maîtrisant de façon raisonnée et raisonnable leur qualité sanitaire. Dans cette démarche, l'utilisation de la diversité des microorganismes d'intérêt technologique permet de conserver les spécificités sensorielles, tout en contribuant à la maîtrise de leur qualité sanitaire. Cependant, le fait que ces microorganismes soient présents vivants et en grande quantité (10⁹/g) lors de l'ingestion de ces aliments pose tout de même la question de leur parfaite innocuité pour le consommateur. Si les bactéries lactiques, notamment celles appartenant aux genres *Lactococcus* et *Lactobacillus* sont, pour différentes raisons, considérées comme inoffensives, il n'en est pas de même pour des espèces utilisées dans les aliments fermentés et qui appartiennent à des genres rassemblant aussi des espèces pathogènes pour l'homme. En effet, la proximité génétique des espèces au sein d'un genre bactérien peut laisser supposer une origine commune ainsi que des échanges génétiques entre elles notamment entre celles utilisées en fermentation et celles pathogènes, échanges pouvant éventuellement conduire à l'acquisition par les espèces fermentaires de facteurs de virulence. Cette question se pose notamment pour le genre *Staphylococcus* bien connu pour ses espèces pathogènes pour l'homme et l'animal (*S. aureus* en étant le représentant le plus connu). En effet, il comprend aussi des espèces de staphylocoques à coagulase négative (SCN) qui sont présentes naturellement ou ajoutées (certaines espèces) comme ferments lors de la fabrication de produits fermentés laitiers ou carnés dans lesquels ils assurent une part importante de la typicité des produits. Malgré leur rôle dans la diversité et la typicité des fromages et saucissons, trois observations sont susceptibles de remettre en cause leur utilisation à des fins alimentaires : I) la production d'entérotoxines a été détectée dans certaines souches, II) des résistances multiples aux antibiotiques ont été décrites et III) des souches peuvent également être productrices d'amines biogènes. La présence de ces facteurs de risque remet en question l'innocuité des souches de SCN et justifie l'intérêt que la communauté scientifique et médicale, les autorités sanitaires et les industriels de l'agroalimentaire portent à l'étude du potentiel de pathogénicité des SCN. Pour la sélection de ferments, il est désormais nécessaire d'intégrer le critère d'innocuité des espèces et des souches utilisées selon les recommandations de l'Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) et selon la réflexion de l'Autorité Européenne de Sécurité Alimentaire (EFSA) sur la démarche de qualification de présomption d'innocuité (Qualified Presumption of Safety - QPS).

Anticiper en caractérisant finement les souches de SCN et en cernant les risques associés, a été le but majeur de ce projet et constitue un enjeu stratégique et économique important pour les filières de salaisons et fromages françaises et européennes tant au niveau des producteurs de levains que des transformateurs.

L'objectif de ce projet a été de développer un ensemble d'outils et de méthodes permettant I) d'identifier et d'estimer la fréquence relative des espèces de SCN présentes dans les ateliers et les produits finis, II) de caractériser la diversité des souches au niveau infra-spécifique, III) d'évaluer les facteurs de risque par la détection des gènes impliqués et par l'étude de leur potentiel d'expression dans les conditions de production et IV) d'étudier *in vivo* les risques et fréquences de transfert horizontal intra- ou inter-spécifique des gènes d'antibiorésistance.

En ce qui concerne le premier point, la biodiversité des SCN a été évaluée sur une collection de 728 souches isolées de fromages, de salaisons et d'ateliers de fabrication (431) et d'origine clinique (297). Des méthodes moléculaires complémentaires et efficaces (puce ADN, PCR, séquençage, pulsotype etc.) ont été mises au point afin d'identifier les espèces et différencier les souches. La première constatation intéressante est que ces aliments hébergent une grande diversité d'espèces puisque 17 espèces de SCN ont été identifiées dans les fromages

et salaisons et 10 parmi les isolats cliniques. Trois espèces dominent dans les aliments : *S. equorum* (28.5%), *S. xylosus* (28.3%) et *S. saprophyticus* (12.5%) alors que *S. epidermidis* représente l'espèce dominante des isolats cliniques (69%). Il apparaît aussi clairement, mais ce n'est pas étonnant, que les espèces présentes dans les aliments fermentés proviennent de la matière première et de l'environnement de fabrication. L'analyse phylogénétique révèle que les souches se regroupent selon l'espèce mais indépendamment de leur origine. De plus, les souches sont différentes lorsque l'origine du prélèvement est différente, à une exception près, une souche de *S. xylosus* qui est retrouvée à la fois dans les produits laitiers et carnés et qui provient probablement d'un levain industriel. Enfin, aucune souche d'origine alimentaire n'est identique à une souche d'origine clinique.

Une puce à ADN ciblant les principaux facteurs (269 cibles) de risque des staphylocoques et des bactéries à Gram positive a été développée ; elle permet de détecter des gènes codant des résistances aux antibiotiques, des amines biogènes et des toxines staphylococciques ou retrouvées chez d'autres bactéries à Gram positive. Elle a été utilisée sur 129 souches représentatives de la diversité et appartenant aux quatre principales espèces. Elle a permis de montrer l'absence de gènes d'entérotoxines chez les 129 souches étudiées. Des gènes de résistance aux antibiotiques ont été mis en évidence en accord avec les résultats des antibiogrammes, ils révèlent que 55 % des souches ne possèdent pas de résistances aux antibiotiques et que 25% en possèdent une seule. Au vu de ces résultats, il apparaît donc que la résistance aux antibiotiques est le facteur de risque le plus important à prendre en compte dans la sélection des levains. Des tests phénotypiques (antibiogrammes et dosage d'amines biogènes) ont cependant montré que l'utilisation de la puce a des limites, elle ne permet que la détection de gènes semblables à ceux ayant servi à sa construction ; il est alors possible de sous estimer le nombre de facteurs de risque chez les SCN (c'est, par exemple, le cas des amines biogènes pour lesquels nous n'avons aucune séquence identifiée chez les SCN). A l'inverse, la présence d'un gène dans un SCN n'implique pas obligatoirement son expression dans la matrice alimentaire. Quoiqu'il en soit cette puce est actuellement le seul outil vraiment performant permettant de sélectionner rapidement les levains en fonction de l'absence de facteurs de risque. De plus, elle est évolutive et pourra s'enrichir de nouvelles séquences générées à partir des connaissances à venir sur les SCN (par exemple, pour les gènes impliqués dans la production d'amines biogènes, la séquence d'une ornithine décarboxylase identifiée au cours de ce projet chez *S. epidermidis*, ainsi que celle d'une histidine décarboxylase décrite chez *S. capitis* -De Las Rivas et al, 2008-pourront être employées à l'avenir). La puce diagnostique pourra en outre être améliorée, en vue de sélectionner des levains appropriés, en couplant la détection de déterminants « positifs » (fonctions technologiques) aux facteurs de risque.

Un des principaux problèmes liés à la présence de microorganismes vivants et en grande quantité dans les aliments fermentés est le possible transfert de gènes codant des facteurs de virulence entre les staphylocoques pathogènes, les ferments SCN, les souches indigènes SCN et la flore digestive. Pour des raisons techniques, il est très difficile d'évaluer les transferts horizontaux de tous les facteurs de risque dans un environnement aussi complexe que celui d'une matrice alimentaire. C'est pourquoi nous avons focalisé nos travaux sur le transfert des résistances aux antibiotiques qui semblent être les facteurs de risque les plus fréquents.

Ce transfert horizontal a été étudié chez *S. equorum* et *S. xylosus*, les deux principales espèces des produits carnés et laitiers. Pour cela, plusieurs souches présentant des gènes de résistances aux antibiotiques ont été mises en contact avec des souches sensibles à ces antibiotiques de manière à favoriser un transfert conjugatif. Un transfert de résistance a pu être mis en évidence seulement pour *S. xylosus* avec des fréquences de conjugaison très faibles *in vitro* (une bactérie sur 109 ayant acquis la résistance) mais aussi *in situ* dans des saucissons en fabrication pilote. On peut déduire de ce travail que le transfert et le maintien de gènes codant des facteurs de risque dans la matrice alimentaire est possible (il contribue probablement à l'émergence des souches de SCN résistantes aux antibiotiques) mais à basse fréquence. Cependant, il convient de modérer ces résultats car ces travaux n'ont été effectués que sur un petit nombre de souches (8 donneuses et 3 receveuses) et que les transferts horizontaux sont en général « souche dépendant ».

Un des facteurs de risque identifié chez les SCN est la possible production d'amines biogènes. Celle-ci résulte du catabolisme de certains acides aminés résultant de la protéolyse de

la viande ou du lait par la flore microbienne. Comme il était difficile de détecter les gènes impliqués par la puce ADN (aucun gène impliqué dans ce catabolisme n'avait été décrit chez les SCN et donc ce sont essentiellement des gènes identifiés chez les bactéries lactiques qui ont été utilisés pour la puce), nous avons recherché la production d'amines biogènes parmi les souches alimentaires sélectionnées pour la puce (100 souches) lorsqu'elles étaient cultivées sur des milieux adaptés. Nous avons constaté qu'environ 10% des souches produisent des amines biogènes *in vitro*. Afin de déterminer si les souches productrices d'amines biogènes *in vitro* les produisaient aussi dans les aliments fermentés, des fromages et des saucissons inoculés avec ses souches, ont été fabriqués. Il s'est avéré qu'aucune des souches de *S. equorum*, productrices *in vitro* ne produisait d'amines biogènes dans ces aliments. Ces résultats sont plutôt rassurants car ils montrent que, d'une part, assez peu de souches sont potentiellement capables de produire des amines biogènes et que, d'autre part, ces souches ne les produisent pas obligatoirement dans les produits fermentés.

En conclusion, la flore staphylococcale des fromages, salaisons et environnements de fabrication est très diverse tant au niveau des espèces que des souches. Peu d'espèces sont communes entre les souches isolées d'aliments et d'origine clinique et de plus les souches sont distinctes. Cette flore contribue à la diversité des microorganismes ingérés par l'homme *via* les aliments fermentés. Ce travail n'a pas consisté à évaluer la pathogénicité éventuelle des SCN car celle-ci ne peut se limiter à la caractérisation de gènes et elle dépend aussi de facteurs liés à l'hôte. C'est dans cette optique que nous avons préféré nous orienter sur la recherche de facteurs de risque qui visent des aspects ciblés de la pathogénicité. Quoiqu'il en soit, les résultats obtenus nous permettent d'avancer que les SCN ne semblent pas présenter de véritable danger lorsqu'ils sont ingérés par l'homme *via* les produits fermentés. Leur proximité phylogénétique avec des espèces pathogènes ne semble pas être un argument suffisant pour remettre en question leur innocuité. Les espèces rencontrées majoritairement dans les produits fermentés, *S. xylosus* et *S. equorum*, n'ont pas acquis véritablement de facteurs de risque liés à la pathogénicité et ceci est corroboré par le fait que les espèces majoritaires ne sont pas rencontrées dans les isolats d'origine clinique. En revanche, il est probable que l'utilisation importante pendant de nombreuses années d'antibiotiques à usage vétérinaire ait favorisé l'émergence de souches résistantes aux antibiotiques. Le facteur de risque à considérer pour la sélection de ferments pour les deux espèces *S. xylosus* et *S. equorum* est par conséquent cette résistance et le risque potentiel de transfert à d'autres souches. Ces conclusions devraient conduire les producteurs de levains à considérer le risque dû à l'antibiorésistance lors de la sélection de leurs souches et ainsi permettre de répondre aux critères d'innocuité préconisés par l'AFSSA et la démarche européenne « QPS ».

Cependant, ce travail de criblage génétique n'a été effectué que sur un nombre limité de souches et il se peut que certains gènes codant des facteurs de risque n'aient pu être détectés. De plus, nous n'avons étudié que les 4 espèces majoritairement rencontrées, l'extrapolation de ce travail ne peut être faite aux 13 autres. Il convient donc de poursuivre ce travail de caractérisation sur de nouvelles souches et de nouvelles espèces tout en enrichissant la puce par de nouvelles séquences permettant la détection de nouveaux facteurs de risque. Quoiqu'il en soit les outils de screening mis au point durant ce travail sont uniques et devraient permettre à l'industrie des levains de sélectionner rapidement et efficacement des souches de SCN présentant le moins possible de facteurs de risque.

Ce projet répond à l'axe 3 des enjeux majeurs de l'appel PNRA 2005 parce que d'une part il participe à une meilleure compréhension du rôle et de la maîtrise des écosystèmes microbiens complexes des fromages et des salaisons et d'autre part, il contribue, *via* les outils développés, à l'analyse et à la réduction du risque microbiologique tout au long de la chaîne alimentaire.

Equipes partenaires :

Equipe N°	NOM et Prénom	Organisme et unité d'appartenance	Adresse mail
1	GAUTIER Michel LE LOIR Yves EVEN Sergine	INRA – AGROCAMPUS OUEST RENNES	michel.gautier@agrocampus-ouest.fr Yves.LeLoir@rennes.inra.fr sergine.even@rennes.inra.fr
2	TALON Régine LEROY Sabine LEBERT Isabelle	INRA – CLERMONT-THEIX	talon@clermont.inra.fr sleroy@clermont.inra.fr Isabelle.Lebert@clermont.inra.fr
3	BEUVIER Eric POCHET Sylvie	INRA POLIGNY	beuvier@poligny.inra.fr Sylvie.Pochet@poligny.inra.fr
4	COTON Emmanuel	ADRIA NORMANDIE	ecoton@adrianie.org
5	DESMONTS Marie-Hélène	AERIAL	mh.desmonts@aerial-crt.com
6	DONNIO Pierre-Yves	UPRES-EA UNIVERSITE DE RENNES 1	pierre-yves.donnio@chu-rennes.fr
7	JAMET Emmanuel	ITFF	e.jamet@actilait.com
8	CHRISTIEANS Souad	ADIV	souad.christieans@adiv.fr
9	CHABLAIN Patrice	GENESYSTEMS	Patrice_Chablain@europe.pall.com
10	LE BARILLEC Karine	CNIEL	klebarillec@CNIEL.com

NOTES

Nouvelle approche et nouveaux outils pour étudier l'émergence d'une bactérie pathogène dans les filières alimentaires - Le cas de Bacillus cereus dans les produits non stériles traités thermiquement.

Objectifs et enjeux

Bacillus cereus est une bactérie pathogène transmise par les aliments. Elle produit des spores qui résistent aux traitements de cuisson-pasteurisation des aliments et sont difficiles à éliminer par les procédures de désinfection. Certaines souches de *Bacillus cereus* peuvent croître à partir de 5°C, ce qui leur permet de se multiplier dans les aliments conservés sous réfrigération.

Bacillus cereus est en France la 4^{ème} cause de toxi-infection alimentaire collective (TIAC). Toutefois, elle est vraisemblablement sous déclarée et moins bien suivie que d'autres bactéries pathogènes. Une mobilisation et une coordination des ressources politiques et des connaissances scientifiques sont nécessaires pour une meilleure prise en compte.

Les objectifs du projet étaient d'une part de comprendre et estimer le risque d'émergence de *Bacillus cereus* en fonction de l'évolution des procédés de production des aliments, et d'autre part d'étudier comment ce risque est perçu et pris en compte dans la sphère publique. Pour répondre à ces objectifs le projet a intégré les aspects suivants:

- La recherche des mécanismes permettant à la bactérie de persister dans les équipements de transformation des aliments, de les coloniser, puis de s'adapter aux températures de réfrigération lors de la conservation de l'aliment.
- La recherche et l'étude des mécanismes impliqués dans la virulence de *Bacillus cereus* afin de mieux identifier les souches dangereuses.
- L'étude de l'évolution de l'espèce *Bacillus cereus* et la mise en évidence des mécanismes pouvant permettre à la bactérie d'acquérir de nouvelles propriétés.
- La modélisation du comportement de la bactérie dans la chaîne de transformation des aliments et l'intégration dans un modèle global prenant en compte la diversité des populations de *B. cereus*.
- L'analyse des populations de *Bacillus cereus* sur des chaînes de transformation d'aliments et dans le cadre de toxi-infections alimentaires en France.
- L'étude des mécanismes par lesquels *Bacillus cereus* peut devenir une question de santé publique ou, du moins, de sécurité alimentaire, et comment les résultats de la recherche contribuent à construire les mesures de surveillance et de lutte. La recherche sur *Bacillus cereus* est basée sur une analyse historique de *Listeria monocytogenes* et une analyse contemporaine des pathogènes émergents.

Principaux résultats

- Amélioration de l'investigation des TIAC à *B. cereus* par la mise en place d'un schéma standardisé des souches, qui a notamment permis de détecter l'émergence d'un groupe génétique particulier de *B. cereus*. Meilleure connaissance de ces TIAC par le recueil de données épidémiologiques.
- Identification de la formation préférentielle des biofilms en anaérobiose comme une caractéristique des souches provenant de lignes de traitement en continu, alors que jusqu'à ce résultat, *B. cereus* était supposé ne former de biofilm qu'au contact de l'air.
- Importance de l'équilibre "résistance à l'arrachement" lors du nettoyage - "re-déposition des spores" après nettoyage pour comprendre pourquoi les spores de *B. cereus* peuvent persister dans les équipements de transformation. La simple mesure de l'adhésion n'est pas suffisante. Rôle prépondérant d'une glyco-protéine de l'exosporium dans ces interactions.
- Nouveaux mécanismes de virulence de *B. cereus*, avec une interaction directe bactérie/cellules de l'hôte, et non plus simplement l'action de toxines excrétées. Ceci implique un changement important dans l'appréciation de la virulence de *B. cereus* lors des TIAC.
- Compréhension globale des mécanismes d'adaptation au froid chez *B. cereus* : intervention d'hélicases à ARN spécifiques jouant un rôle dans la traduction des protéines, orientation du

métabolisme vers la voie des pentoses phosphates, mise en place de réponses au stress oxydatif. Un système à deux composants indispensable à l'adaptation au froid a été identifié, qui devrait permettre d'identifier de nouvelles voies de régulation induite par le froid.

- Nouveau modèle prévisionnel prenant en compte le temps de récupération des spores survivantes après traitement thermique. Les modèles classiques ne prenant pas en compte ce temps de récupération surestime fortement la vitesse et la probabilité de reprise des spores au froid.
- Nouveau modèle d'exposition intégrant l'ensemble des étapes de la fabrication et la diversité génétique de *B. cereus*. Ce modèle a permis de définir les caractéristiques des groupes génétiques pouvant émerger en fonction du procédé de fabrication, et de quantifier cette émergence.
- Définition des multiples aspects de l'émergence d'une bactérie pathogène dans l'espace public et des conditions permettant l'étude et la détection de cette émergence. Notion "d'objet frontière" permettant l'intégration d'intérêts différents autour d'un même pathogène.

Perspectives

- Poursuite de l'étude des TIAC et renforcement du schéma de caractérisation des souches à l'aide des nouveaux facteurs de virulence identifiés. Le système devrait être étendu aux autres pathologies causées par *B. cereus* afin d'avoir un panorama complet de son pouvoir pathogène.
- Approfondissement de l'étude des mécanismes originaux d'adhésion des spores, de formation des biofilms et d'adaptation au froid identifiés dans le projet.
- Développement d'outils facilement accessibles et utilisables par les industriels, à partir des modèles prévisionnels et d'appréciation de l'exposition développés dans le projet.
- Le modèle développé dans le projet permet d'apprécier l'exposition au danger microbiologique en fonction du procédé. Il devrait être intégré à une modélisation symétrique concernant la valeur nutritionnelle de l'aliment afin de mettre au point un outil d'aide à la définition du compromis risque/bénéfice.

Réponses apportées aux enjeux du programme PNRA 2005

Le projet s'inscrivait dans les deux thèmes "Analyse et réduction du risque microbiologique" et "risque émergent" de l'axe 3 "Risques alimentaires".

Les résultats ont permis une appréciation du risque à *B. cereus* dans le cas de produits traités thermiquement et réfrigérés. Grâce à la prise en compte de la diversité génétique de *B. cereus*; grâce à l'association de recherches en microbiologie à une surveillance des TIAC et des souches isolées d'industrie, le projet a permis d'identifier les caractéristiques permettant, ou associées à, l'émergence de *B. cereus*. L'approche sociologique du projet a permis de comprendre comment le travail de recherche s'insérait dans un ensemble plus global d'étude et de détection de l'émergence.

Les industriels partenaires ont testé des approches permettant de réduire le risque de *B. cereus* dans leurs procédés. Les modèles développés dans le projet permettront une meilleure maîtrise du risque à *B. cereus* dans les produits traités thermiquement et réfrigérés.

En conclusion il faut souligner, au delà du problème direct des TIAC à *B. cereus*, l'intérêt de cette bactérie comme modèle générique pour étudier les risques microbiologiques présentant une large diversité et étroitement associés aux procédés de transformation des aliments. L'approche sociologique l'a parfaitement identifiée et conceptualisée par la notion "d'objet frontière".

Equipes participantes

Unité Mixte de Recherche, INRA-Université d'Avignon, "Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale" (coordination du projet).

INRA, Site Agroparc, 84914 Avignon cedex 9.

Contact - Christophe NGUYEN-THE, 04 32 72 25 21, nguyenth@avignon.inra.fr

Unité INRA- "Risques Travail Marchés Etat"

INRA, RiTME, 65 Bld de Brandebourg 94205 Ivry-sur-Seine Cedex.

Contact - Didier TORNAY, 01 49 59 69 97, tornay@ivry.inra.fr

Unité INRA, "Mét@risk".

Agro-Paristech, 16 rue Claude Bernard, 75231 Paris Cedex 05

Contact - Isabelle ALBERT, 01 44 08 18 18, albert@inapg.inra.fr

Unité INRA, Génétique Microbienne et Environnement.

INRA La Minière, 78285 Guyancourt Cedex

Contact - Didier LERECLUS, 01 30 83 36 32, didier.lereclus@jouy.inra.fr

Unité INRA, Microbiologie et Génétique Moléculaire.

Agro-Paristech, 78850 Thiverval-Grignon

Contact - Michel GOHAR, 01 30 81 59 36, michel.gohar@jouy.inra.fr

Unité INRA, Génétique Microbienne.

INRA, 78352 Jouy en Josas cedex.

Contact - Alexei SOROKINE, 01 34 65 27 24, sorokine@jouy.inra.fr

Unité INRA, Génie des Procédés et Technologie Alimentaire.

INRA, 369 rue Jules Guesde, BP 20039, 59651 Villeneuve d'Ascq Cedex.

Contact - Christine FAILLE, 03 20 43 54 04, faille@lille.inra.fr

AFSSA, Laboratoire d'Etudes et de Recherche sur la Qualité des Aliments et des Procédés agro-alimentaires. Unité Caractérisation et Epidémiologie bactérienne.

AFSSA, 23 Avenue du Général de Gaulle, 94706 Maisons-Alfort cedex

Contact - Marie-Laure DE BUYSER, 01 49 77 46 58, m.debuyser@afssa.fr

ADRIA Normandie, Bd du 13 juin 1944, 14310 Villers Bocage

Contact - Catherine DENIS, 02 31 25 43 01, cdenis@adrianie.org

ADRIA Développement, Creac'h Gwen, 29196 QUIMPER cedex

Contact - Olivier COUVERT, 02 98 10 18 80, olivier.couvert@adria.tm.fr

Laboratoire Universitaire de Biodiversité et d'Ecologie Microbienne, 6 rue de l'Université 29334 QUIMPER

Contact - Ivan LEGUERINEL, 02 98 64 19 37, ivan.leguerinel@univ-brest.fr

SA CREALINE, Route de Montceaux, 50660 QUETTREVILLE SUR SIENNE

Contact - Virginie LePape, 02 33 45 91 91, v.lepape@crealine.fr

Groupe LACTALIS, Direction Qualité Centrale, Lactalis R&D, 10 à 20 rue Adolphe Beck, 53000 LAVAL. Contact - Pascale GUERIN, 02 43 59 41 37, pascale.guerin@lactalis.fr

NOTES

GENOFERMENT

Coordinateurs : Koenraad DUHEM – Sylvie LORTAL

Compréhension du fonctionnement d'espèces microbiennes cibles dans des matrices alimentaires et origine de leur diversité génétique.

Les aliments fermentés, par leur diversité et leurs qualités organoleptiques, représentent un patrimoine culturel, gastronomique et économique de première importance pour notre pays, et une source reconnue d'innovation alimentaire. Dans un contexte de mondialisation des réglementations, le devenir de ces aliments fermentés est plus que jamais lié à une totale maîtrise des microorganismes mis en œuvre. Les écosystèmes microbiens associés avec les aliments fermentés sont souvent complexes, avec plusieurs espèces en interaction entre elles et avec la matrice. La plupart du temps, ces aliments sont considérés comme une boîte noire et la littérature est abondante en articles décrivant l'impact de telle souche, ou de telle association, sur le résultat final en termes de qualité organoleptique ou de sécurité alimentaire. Cependant, les mécanismes sont rarement élucidés. Depuis l'avènement des outils de biologie moléculaire, plusieurs travaux ont pu déterminer, à partir de l'ADN ou des ARN totaux directement extraits d'une matrice solide (aliment, sol...) les espèces dominantes en présence et leur niveau global d'activité métabolique. Beaucoup plus rarement, à partir d'ARN messager extrait, l'expression in situ de quelques gènes cibles a été décrite. Dans tous les cas, l'interprétation est limitée par le manque de connaissance sur la physiologie générale du microorganisme immobilisé dans ces matrices. Ces dernières années la génomique fonctionnelle à haut débit (génome, transcriptome, protéome) est devenue une réalité pour des organismes modèles en culture pure, mais de telles approches en microbiologie alimentaire restaient anecdotiques. Le challenge de GENOFERMENT était de parvenir à appliquer les nouveaux outils de la génomique à partir des ARN et protéines extraits d'une matrice alimentaire fermentée pour déterminer ce que les bactéries expriment in situ et comment elles interagissent entre elles. La deuxième priorité était d'explorer la variabilité génomique entre souches pour plusieurs espèces d'intérêt alimentaire et d'établir les mécanismes à l'origine de cette plasticité. En effet, une importante biodiversité existe au sein d'une espèce, qu'il s'agisse de propriétés d'intérêt technologique ou de propriété à risque. Ce point, qui est une richesse, est aussi une limite permanente pour l'utilisateur, lorsqu'il veut changer de souches ou diversifier ses produits, et pour le législateur, pour statuer sur l'innocuité.

Fromages et salaisons ont une place de choix au sein des aliments fermentés. Parmi les levains utilisés dans ces fermentations, 3 espèces d'importance, et pour lesquelles la séquence du génome était acquise ou en cours d'obtention, ont été choisies comme modèles : *Lactococcus lactis*, *Staphylococcus xylosus* et *Lactobacillus sakei*. Les questions de recherche abordées peuvent se résumer ainsi :

- ▶ Quelle est l'étendue de la diversité génétique et fonctionnelle au sein des trois espèces ? Notamment en caractérisant les régions variables ou au contraire les régions conservées du génome pour identifier la variabilité des fonctions positives (cas de *L. sakei* et *L. lactis*) ou de celles potentiellement associées à un risque sanitaire (cas de *S. xylosus*).
- ▶ A travers le profil d'expression d'une souche en dynamique, quelles sont les fonctions exprimées au cours du temps ? Quels sont les stress subis lors des procédés ? En quoi la composition de la matrice, ou la présence d'autres flores, modulent-elles l'expression des gènes de l'espèce cible ?

L'approche intégrée de la biodiversité des bactéries d'intérêt alimentaire et leur expression in situ, seules ou en interactions constituaient donc les principaux défis scientifiques et techniques du programme GENOFERMENT. Ce programme répondait aux enjeux du PNRA 2005 liés à la Qualité et Sécurité des aliments et notamment, du rôle et de la maîtrise des écosystèmes complexes.

Parmi les principaux résultats originaux acquis, nous citerons :

- La mise au point de matrices alimentaires modèles, fromagères ou carnées, de composition modulable parfaitement contrôlée en termes de physico-chimie, et de contamination microbienne initiale avant ajout des espèces cibles.

- Deux méthodologies d'extraction d'ARN totaux dont la quantité et la qualité sont compatibles avec la mise en œuvre d'une approche transcriptomique via l'utilisation de puces à ADN dès le début de la croissance. L'efficacité de ces méthodes a été validée sur des fromages commerciaux.
- L'analyse transcriptionnelle en dynamique en matrice fromage d'une bactérie lactique (*L. lactis*) réalisée pour la première fois, de 2h à 7j de croissance, montrant la variation significative de 600 gènes. Les résultats indiquent que la croissance des cellules sous forme de colonies génère des carences carbonées locales qui n'existent pas dans l'ensemble de la matrice. L'approche transcriptomique s'est révélée ici particulièrement précieuse dans la meilleure connaissance du microenvironnement des colonies.
- Les profils transcriptomiques, protéomiques et métabolomiques de plusieurs souches ont été comparés *in situ* révélant d'une part des réponses similaires et d'autre part des réponses adaptatives souche-spécifiques ; les différences étaient dues soit à l'absence de certains gènes soit à une activation de certaines voies métaboliques alternatives. Les différences observées étaient bien corrélées avec les données phylogénétiques.
- Via le développement de puces à ADN spécifiques d'espèces ou rendues telles pour toutes les espèces modèles de GENOFERMENT, des interactions bipartites ont pu être étudiées en milieu modèle et en matrice avec plusieurs résultats notables : i) *L. lactis* modifie l'expression des gènes de virulence d'un pathogène tel que *Staphylococcus aureus*. Cette interaction, invisible sauf en transcriptomique, a potentiellement des retombées majeures sur la sécurité alimentaire ; ii) le profil transcriptomique de *L. lactis* en revanche n'est pas modifié significativement, quelle que soit l'espèce ajoutée (*Yarrowia lipolytica*, *S. aureus* ou *Saccharomyces cerevisiae*) ; iii) le développement et la survie de *L. sakei* sont augmentés en milieu modèle et en matrice viande en présence de *S. xylosus* par des mécanismes que l'analyse transcriptomique en cours permettra d'élucider.
- La caractérisation des éléments génétiques mobiles responsables de la diversité génomique a été réalisée sur une collection de 37, 100 et 25 souches respectivement de *L. lactis*, *L. sakei* et *S. xylosus*. Selon l'espèce, la variation intraspécifique de la taille du génome par rapport à la souche séquencée de référence était de 16 à 25%. En développant différentes approches moléculaires (Multilocus sequence typing, whole genome scanning, puces et séquençage) de 500 à 1000 nouveaux gènes selon l'espèce considérée ont pu être identifiés, qui viendront implémenter les puces existantes. Certains, pour l'espèce *L. sakei*, ont permis de développer des marqueurs moléculaires souches spécifiques, qui ont été brevetés. Une région polymorphe près de l'origine de réplication a été identifiée chez *S. xylosus*, région qui participerait à l'évolution de l'espèce par l'acquisition de fonctions métaboliques telles que l'assimilation de nouvelles sources de carbone, la résistance aux antibiotiques ou des facteurs de risques. Enfin, pour *L. lactis*, l'analyse MLST a établi pour la première fois un lien écotype-génotype et montré que la diversité génomique était essentiellement apportée par des souches environnementales, les isolats laitiers étant génétiquement très homogènes.

En conclusion, les verrous méthodologiques principaux ont été levés pour le suivi de l'expression microbienne *in situ* dans les aliments fermentés. L'ensemble du programme a généré environ 15 publications (acceptées ou soumises) et un brevet international. Sur le plan humain une dizaine de CDD ont été formés dans le cadre de ce projet et se sont tous insérés professionnellement soit dans l'industrie soit dans des organismes de recherche. La mise en commun des compétences respectives des partenaires et le traitement en parallèle des questions communes « matrice laitière » et « matrice carnée » a représenté une réelle valeur ajoutée.

Les perspectives de recherche à la suite à ce projet sont les suivantes :

- explorer avec les outils développés les interactions bactéries / matrice alimentaire. La composition de cette matrice et sa microstructure, la distribution des colonies et leur microenvironnement modifient-ils l'expression des gènes d'intérêt technologique ?
- établir les mécanismes impliqués dans les interactions mises en évidence entre un levain lactique et l'expression des gènes de virulence de *S. aureus* ; cette partie sera réalisée dans le cadre de l'ANR NABAB dont la finalité est d'augmenter, par la maîtrise de ces interactions, la sécurité alimentaire.

- poursuivre l'exploration des bases moléculaires de la biodiversité des espèces et des souches utilisées dans les aliments fermentés, et contribuer par ces connaissances à la maîtrise de la qualité organoleptique finale et aux démarches d'innovation.

Liste des partenaires :

CNIEL	DUHEM Koenraad	kduhem@cniel.com	Equipe 1 / coord
INRA STLO	LORTAL Sylvie	sylvie.lortal@rennes.inra.fr	Equipe 2 / coord scientifique
INRA FLEC	ZAGOREC Monique	Monique.zagorec@jouy.inra.fr	Equipe 3
IFIP	FEURER Carole	carole.feurer@ifip.asso.fr	Equipe 4
INRA LBB	LOUBIERE Pascal	Pascal.loubiere@insa-toulouse.fr	Equipe 5
INRA Clermont	TALON Régine	talon@clermont.inra.fr	Equipe 6
INRA UBSP	MONNET Véronique	Veronique.monnet@jouy.inra.fr	Equipe 7
INRA GM	MAGUIN Emmanuelle	Emmanuelle.maguin@jouy.inra.fr	Equipe 8
INRA LGMPA	IRLINGER Françoise	irlinger@grignon.inra.fr	Equipe 9
SOREDAB	PERRIN Rémi	Remi.perrin@soredab.org	Equipe 10
INRA MIG	RODOLPHE François	Francois.rodolphe@jouy.inra.fr	Equipe 11
CNRS Toulouse	LE BOURGEOIS Pascal	Pascal.lebourgeois@ibcg.biotoul.fr	Equipe 12

NOTES

Acidoresistance-STECC

Coordinatrice : Christine VERNOZY-ROZAND

Analyse de la supériorité écologique conférée, par l'acido-résistance, à des Escherichia coli producteurs de shigatoxines (STEC), de la fourche à la fourchette

Les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) et parmi eux, *E. coli* O157:H7 sont des pathogènes émergents en santé publique, à l'origine de toxi-infection alimentaire collective induisant des colites hémorragiques et des syndromes hémolytiques et urémiques (SHU) parfois mortelles, notamment chez les enfants de moins de 15 ans. La France a connu 2 épidémies liées à des STEC en fin d'année 2005 : l'une concernait la viande hachée de bœuf, et l'autre des fromages au lait cru de type camembert commercialisés dans la région de Normandie. Ce dernier aliment présentait un pH bas, ce qui a permis, encore une fois, de pointer la particularité physiologique de ce pathogène (*Escherichia coli* O157:H7) et de son acido-résistance. Les ruminants d'élevage constituent le réservoir principal de souches STEC. La transmission à l'homme a lieu lors de la consommation de viandes peu cuites, de produits laitiers non pasteurisés, de légumes ou d'eau contaminés par des feces d'animaux porteurs de souches STEC.

Pour coloniser un hôte et déclencher une pathologie, ces souches STEC doivent résister à une série d'assauts déclenchés par l'hôte (acidité, sels biliaires, forte osmolarité). Ces souches STEC doivent, en particulier, être capables de survivre significativement dans l'environnement très acide de l'estomac.

Chez *Escherichia coli* K12, la résistance à l'acidité repose sur 2 classes de mécanisme. La première de ces classes implique le facteur sigma (RpoS) associé à la résistance au stress. La seconde classe fait intervenir la décarboxylation des acides aminés (lysine, arginine et glutamate) et requiert leur présence dans le milieu de culture.

Notre objectif majeur était de mieux caractériser l'acidoresistance de souches STEC de sérogroupe variés puis de tester la supériorité écologique conférée par cette propriété. Cette dernière a été évaluée par la capacité de survie, voire de multiplication des STEC dans la rhizosphère, dans le tractus gastro-intestinal (TGI) des ruminants et lors de l'élaboration de produits alimentaires dont la qualité sanitaire repose en partie sur l'acidité (fromages, produits de charcuterie fermentés).

La supériorité écologique liée à l'acido-résistance des STEC a été démontrée en amont des filières alimentaires c'est-à-dire dans le tractus digestif des ruminants et dans la rhizosphère et le sol. Une très forte inhibition de la croissance bactérienne et même une éradication complète des STEC a été observée dans le contenu ruminal en présence de l'un ou l'autre des probiotiques à savoir : *Lactobacillus acidophilus* et *Saccharomyces cerevisiae* ; de même, l'action inhibitrice de ferments lactiques contre les STEC a pu être observée à partir d'expérimentations menées sur des laits fermentés. Ces résultats sont essentiels en termes de pistes suggérées pour la maîtrise du danger STEC à des échelons différents, bien sûr en élevage des ruminants mais aussi pour la production d'aliments fermentés utilisant des matières premières, lait cru ou viandes accidentellement contaminés par des STEC.

Même si aucun mécanisme nouveau d'acido-résistance n'a pu être décelé dans la collection de souches STEC investiguées, il n'en reste pas moins vrai que la mise en place d'un outil facile d'utilisation permettant aux industriels de l'agro-alimentaire et aux gestionnaires du risque, de définir plus finement le pouvoir pathogène des souches STEC a été déterminé. En effet, l'outil Gad Assay permet tout à fait facilement de faire le tri entre les souches AS et AR dans la mesure où nous avons montré une très étroite corrélation entre acido-résistance et production de l'enzyme glutamate décarboxylase. Notons en outre, que nous avons mis au point un outil original, jamais développé et publié à ce jour permettant la quantification du Gaba par spectrophotométrie de masse.

Puisque le rumen apparaît comme le compartiment digestif majeur contrôlant la croissance des STEC, l'administration de probiotiques à la ferme pourrait représenter une stratégie nutritionnelle intéressante pour limiter considérablement la charge en STEC dans le tractus gastro-intestinal des ruminants, et donc l'excrétion fécale et le risque de contamination des produits alimentaires.

Des travaux devraient être menés pour plus finement étudier les interactions entre ces ferments lactiques et probiotiques d'une manière générale, dans les processus de fermentation et l'action inhibitrice des STEC. L'idéal étant d'avoir des souches reconnues pour leur effet inhibiteur sur ces pathogènes mais ayant une compatibilité totale technologique avec le produit attendu. En ce qui concerne les résultats obtenus à l'échelon de l'élevage, plus que jamais, ceux-ci justifient l'utilisation de ces probiotiques comme cela est d'ores et déjà accepté en Amérique du Nord pour limiter le portage animal. Il faudrait ainsi mener des investigations complémentaires pour vérifier l'intérêt de ces probiotiques dans la maîtrise du portage fécal des ruminants et en proposant des protocoles d'administration de ces probiotiques aux animaux et vérifier leur effet en comparaison avec des lots témoins ne consommant pas ces probiotiques.

Ainsi ces travaux financés dans le cadre de ce programme PNRA sont d'intérêt pour les industries agro-alimentaires mais aussi en termes de santé publique parce qu'ils donnent des pistes très sérieuses de maîtrise du danger STEC en agro-alimentaire.

Equipes partenaires

Equipe N°	Nom Prénom	Organisme et unité d'appartenance	Adresse postale	Adresse électronique
1	Christine Vernozy-Rozand	ENVL	1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile	c.rozand@vet-lyon.fr
2	Christine Martin	Centre de Clermont-Ferrand-Theix, Unité de Microbiologie	63122 St-Genès-Champanelle	christine.martin@clermont.inra.fr
3	Frédérique Chaucheyras-Durand	Société Lallemand SAS	19 rue des Briquetiers BP 59, 31702 Blagnac cedex	fchauc@clermont.inra.fr
4	Y. Moëgne-Loccoz	UMR CNRS 5557 d'Ecologie Microbienne	Bât. Mendel Université Claude Bernard (Lyon 1) 43 Bd du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne	moenne@biomserv.univ-lyon1.fr prigent@biomserv.univ-lyon1.fr
5	P. Lejeune	Unité de Microbiologie et Génétique UMR CNRS 5122	UCB – Lyon 1 Bât A. Lwoff – R3 43, blvd du 11 Novembre 1918 69622 Villeurbanne Cedex	philippe.lejeune@insa-lyon.fr l.duniere@vet-lyon.fr
6	Souad Christeans	ADIV	2 rue Chappe, 63039 Clermont-Ferrand cedex 2	souad.christeans@adiv.fr marina.rivollier@adiv.fr
7	DIZIN Mathieu	I.T.F.F	419, route des champs laitiers – BP30 – 74801 LA ROCHE-SUR-FORON	e.jamet@it2f.com m.dizin@it2f.com

NOTES

ID-TAG
Coordinateur : Renaud VAILLANT, CRYOLOG
Présentation de Dominique THUAULT, ADRIA Développement

Traçabilité de la chaîne du froid et durée de vie des aliments frais

Contexte et enjeux

L'objectif du projet était de développer une solution de traçage de la chaîne du froid et de la fraîcheur des produits, pour améliorer la qualité et la sécurité des denrées alimentaires et la performance économique des acteurs des filières agro-alimentaires.

La solution proposée doit déterminer des durées de vie des aliments de manière dynamique, quelles que soient les conditions de conservation du produit. A cet effet, le projet repose sur le développement d'un tag électronique nommé ID TAG, outil de modélisation et de suivi en temps réel de la dégradation microbiologique des produits. ID TAG est un capteur de température couplé à une horloge permettant l'enregistrement et le stockage dans une mémoire embarquée du couple temps – température. Un modèle de communication radio-fréquence, futur standard d'échanges des données électroniques, est intégré à la puce ainsi que le modèle mathématique spécifique du comportement des micro-organismes, ou de dégradation du produit tracé. Le traitement automatisé des données intègre les éléments de formulation de l'aliment, ses caractéristiques physico-chimiques et les éléments pour le calcul de sa durée de vie résiduelle (Date Limite de Consommation dynamique). L'originalité de ce projet de recherche a résidé dans l'assemblage de compétences nouvellement acquises dans les domaines aussi différents que la microbiologie prévisionnelle, les systèmes miniaturisés d'enregistrement, de calculs et la technologie RFID.

Les bénéfices qualitatifs et quantitatifs de l'utilisation du tag

Les travaux qui considèrent l'impact de l'utilisation des Intégrateurs Temps Température (ITTs) d'un point de vue économique sont très rares. Dans un premier temps, l'ECP a identifié les bénéfices qui peuvent être atteints dans la pratique grâce à l'utilisation des ITTs en fonction des informations qu'ils fournissent et ensuite d'en évaluer quantitativement les gains et les coûts engendrés.

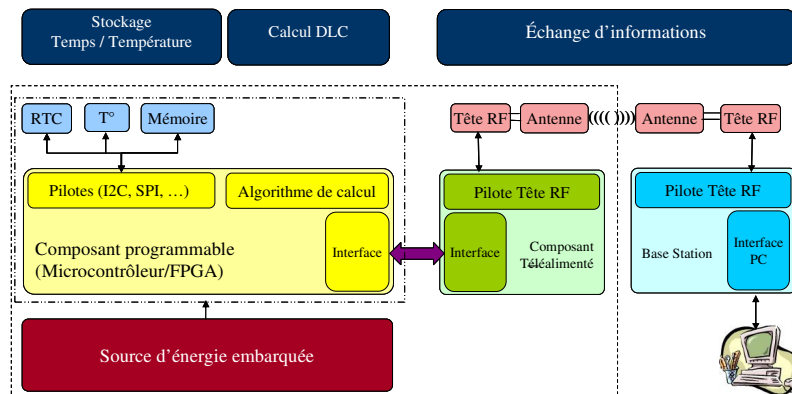
Un modèle de gestion de stock a aussi développé au cours du projet pour apporter une meilleure compréhension des bénéfices d'ID TAG ainsi qu'une étude sur la rentabilité de sa mise en œuvre. Le modèle capture les différentes incertitudes qui reflètent les réalités fonctionnelles, à savoir l'arrivée aléatoires de la demande, l'incertitude sur les durées de vie restantes des produits gérés, etc. L'étude quantitative se base sur la comparaison des coûts d'exploitation.

Deux conclusions majeures peuvent être tirées de ces études. La première conclusion confirme les bénéfices économiques de l'utilisation de la technologie ID TAG. L'application de cette technologie offre une information complète sur l'état de fraîcheur des produits ce qui permet au manager d'optimiser la gestion de sa chaîne logistique. La deuxième conclusion est une conséquence directe de la première. En effet, optimiser le fonctionnement de la chaîne logistique revient à garder en stock les produits ayant les plus longues durées de vie restantes, et à servir ainsi les consommateurs et les professionnels avec les produits arrivant le plus rapidement à leurs dates d'expiration. En parallèle, les différentes fonctions du tag ont été définies : mettre à disposition un historique de température, renseigner sur la fraîcheur et le capital fraîcheur, identifier et tracer le produit.

Electronique, RFID et démonstrateur

Les objectifs techniques du produits ID TAG étaient à la fois d'intégrer une fonction d'acquisition de la température échantillonnée, une mémoire de stockage, une source d'énergie embarquée, une interface de communication sans contact, et des capacités de traitements embarqués (calcul de la date limite de conservation du produit), toutes ses fonctions devant être miniaturisées et optimisées en coût pour une version industrialisable.

Pour réaliser l'objet 'démonstrateur' réalisant les fonctions souhaitées, le CEA a effectué l'assemblage des composants mentionnés sur le schéma suivant :



Synoptique de la carte ID TAG (CEA-LETI)

Ce schéma a été construit autour d'un composant de transmission RFID le plus approprié par rapport à l'état de l'art du moment, et avec la contrainte de répondre aux standards de communications RFID utilisés par la chaîne logistique.

Pour l'initialisation de l'expérimentation, une carte électronique d'interface avec un PC a été développée permettant le paramétrage du calcul de la durée de vue résiduelle (à l'aide des valeurs cardinales et de la DLC initiale), des seuils en temps et en température ainsi que de la fréquence d'échantillonnage de la température. Cette interface permet également la recharge de la batterie Lithium ion embarquée.

A tout moment, la valeur de la durée de vie résiduelle calculée peut être relue grâce à un lecteur RFID du commerce configuré pour l'application.

Réalisation d'un simulateur d'histoire thermique

Une fois le tag réalisé, il s'agissait de développer et de mettre en œuvre une enceinte à température et aéroulque maîtrisées permettant de reconstituer et de comparer, en laboratoire, les histoires thermiques réelles subies par les produits au cours de leurs circuits logistiques et les enregistrements fournis par le tag.

Ce simulateur se compose d'une enceinte isotherme de 2m³ équipée d'un système thermique et d'un système de contrôle suffisamment performants pour retracer les fluctuations de température observées sur le terrain.

La température de l'enceinte est contrôlée à l'aide d'un système informatique permettant de définir et d'imposer les variations souhaitées. Ce système de régulation est conçu pour programmer différentes vitesses de changement de la température (pente variable, fluctuations cycliques d'amplitude et de fréquences différentes, durée des séquences,...), afin de simuler au mieux les fluctuations de température rencontrées par les produits dans les circuits logistiques.

Validation des modèles microbiologiques associés au tag

La mesure de l'impact de la température et de la qualité de la chaîne du froid sur la sécurité microbiologique des denrées alimentaires, nécessite le développement de modèles mathématiques et l'acquisition de paramètres pour ces modèles. Dans le cadre du projet ID TAG, des valeurs cardinales ont été obtenues pour huit souches de bactéries d'altération pour trois facteurs (température, pH, activité de l'eau) et 8 taux de croissances optimales dans différentes matrices alimentaires.

Des modèles identiques sont utilisés pour les flores pathogènes et les flores d'altération ; ces modèles ont été validés sur neuf couples aliment / germe. Les résultats montrent une très bonne correspondance entre les valeurs prédites et les valeurs observées. Dans tous les cas, les résultats des observations sont contenus dans l'intervalle de confiance des prédictions ; ils sont en

grande partie liés à l'erreur de mesure de l'analyse microbiologique. Ces résultats constituent une importante validation des modèles prévisionnels dans des conditions de cycles thermiques dans lesquels les effets éventuels de stress, liés à des changements brusques de températures, ne sont pas mis en évidence.

Ainsi, la mesure de l'impact de la qualité de la chaîne du froid sur les qualités microbiologique et sanitaire des denrées est possible et l'utilisation des modèles mathématiques permet de prévoir les conséquences de rupture de la chaîne du froid sur la durée de vie résiduelle de l'aliment.

Dans le cas d'altération non exclusivement microbiologique, la démarche reste plus empirique. Les paramètres à déterminer à partir d'analyses microbiologiques et sensorielles sont présents et des exemples d'applications sont donnés dans le cas du poisson. Des simulations dans des conditions dynamiques de température sont également possibles. Cette démarche peut également être appliquée aux produits végétaux.

Plusieurs tests ont été réalisés en conditions réelles chez des professionnels entre octobre 2007 et juin 2008. Ils ont permis de valider le fonctionnement du tag et son intérêt pour les produits ayant une durée de vie limitée par des critères microbiologiques.

Perspectives et nouvelles questions de recherche posées

Les modèles de microbiologie prévisionnelle peuvent être perfectionnés permettant la prise en compte d'un plus grand nombre d'espèces de micro-organismes, notamment d'altération, et de facteurs tels que l'atmosphère modifiée, des conservateurs, etc. Les poursuites de la miniaturisation du tag, ainsi que la réduction de son coût restent d'actualité. Enfin, l'impact d'un tel tag sur la ré-assurance du consommateur vis-à-vis de questions de sécurité des aliments, ou sur son intérêt pour l'optimisation du coût de la chaîne du froid doivent être évalués.

Réponses apportées par le projet aux enjeux majeurs du programme PNRA en 2005

Le règlement (CE) n° 2073/2005 de la commission concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires précise que les critères de sécurité doivent être respectés pendant toute la durée de conservation des produits dans des conditions de distribution, d'entreposage et d'utilisation raisonnablement prévisibles.

En ce sens, le projet ID TAG offre un moyen aux opérateurs pour qualifier la chaîne du froid et répond en cela aux enjeux majeurs définis en 2005 pour le PNRA : la construction de la qualité dans la chaîne alimentaire complète, de l'aval vers l'amont.

Les partenaires du projet étaient pour :

- La modélisation économique : l'Ecole Centrale de Paris
(Evren SAHIN - evren.sahir@ecp.fr)
- Les solutions électroniques embarquées, la radio transmission et l'informatique : le CEA-LETI (Sylvain BACQUET, sylvain.bacquet@cea.fr)
- La microbiologie prévisionnelle : l'ADRIA Développement
(Dominique THUAULT, dominique.thuault@adria.tm.fr)
- La maîtrise des équipements frigorifiques et de la chaîne du froid : l'Unité Génie des Procédés Frigorifiques du CEMAGREF
(Jacques GUILPART, Jacques.guilpart@cemagref.fr)
- La connaissance de la filière agro-alimentaire, de la traçabilité et des technologies des circuits logistiques : CRYOLOG SA (Catherine BONAITI, cbonaiti@cryolog.com)

NOTES

LISTE DES PARTICIPANTS

Nom	Prénom	Organisme / Société	Email
ABDENOUR	Yesli	Université	yesliabd@mail.umtmo.dz
AGNETTI	Richard	Assistance Publique Hôpitaux de Paris	richard.agnetti@sap.aphp.fr
AKRICH	Rebecca	MAP - DGAL	rebecca.akrich@agriculture.gouv.fr
ALBAGNAC	Guy	INRA	albagnac@supagro.inra.fr
ALBERTI	Vincent	FFEPGV	vincent.alberti@ffepgv.fr
ALI-BRANDMEYER	Olivia	Centre de Médecine Préventive	Olivia.Brandmeyer@cmp.u-nancy.fr
ALILI	Rohia	CRNH Ile de France	rohia.alili@psl.aphp.fr
ARCOSTANZO	Claire	Pôle compétitivité VITAGORA	claire.arcostanzo@vitagora.com
ARVEILER	Dominique	Laboratoire d'épidémiologie	monica@medecine.u-strasbg.fr
ATHES	Violaine	INRA - AgroParisTech	vathes@grignon.inra.fr
AUBERT	Christophe	CTIFL	aubert@ctifl.fr
AXELOS	Monique	INRA Nantes	monique.axelos@nantes.inra.fr
BACCHIONI	Lucie	MINISTERE SANTE	lucie.bacchioni@sante.gouv.fr
BADUEL	Valérie	AFSSA	v.baduel@afssa.fr
BAELDE	Dominique	DGCCRF	dominique.baelde@dgccrf.finances.gouv.fr
BARAIGE	Fabienne	INRA	fabienne.baraige@jouy.inra.fr
BARDON	Sylvie	INRA	sylvie.bardon@jouy.inra.fr
BAYON DE NOYER	Yves	AGIS SA	Yves.BAYON@agis-sa.fr
BELLIER	Sylvain	ENVA	sbellier@vet-alfort.fr
BENEZECH	Thierry	INRA	thierry.benezech@lille.inra.fr
BENJDIA	Mariam	ANR	mariam.benjdia@agencerecherche.fr
BES	Magali	INRA	bes@supagro.inra.fr
BEUDON	Didier	SOREDAB Bongrain sa	didier.beudon@soredab.org
BIGUZZI	Coralie	CESG	non communiqué
BILLAUX	Marie-Sylvie	Cedus	ms.billaux@cedus.fr
BILLOIR	Xavier	ENTREMONT-Alliance	xbilloir@entremont-alliance.fr
BLOGOWSKI	Alain	Conseil National de l'Alimentation	alain.blogowski@agriculture.gouv.fr
BONGARD	Vanina	CHU de Toulouse, Université de Toulouse, INSERM U558	bongard@cict.fr
BONTEMS	Philippe	INRA Toulouse	bontems@toulouse.inra.fr
BOQUIEN	Clair-Yves	INRA	Clair-Yves.Boquien@univ-nantes.fr
BORDES	Isabelle	DGAL	isabelle.bordes@agroparistech.fr
BOUCHU	Alain	TEREOS	aboutchu@tereos.com
BOUGHELLOUT	Halima	Université Mentouri Constantine	halima_boughellout@yahoo.fr
BOULEY	Christine	KRAFT	christinebouley@ymail.com
BREDON	Frédéric	Grands Moulins de PARIS	fbredon@grandsmoulinsdeparis.com
BRETON	Sylvie	Lesieur	sbreton@lesieur.fr
BRISABOIS	Anne	AFSSA	a.brisabois@afssa.fr
BROSSARD	Chantal	INRA Nantes	brossard@nantes.inra.fr
BRUGERE	Hubert	ENVT	h.brugere@envt.fr
BUSSON	Valérie	Lesieur	vbusson@lessieur.fr
CAILLAVET	France	INRA-ALISS	France.Caillavet@ivry.inra.fr
CAILLOL	Monique	INRA Jouy-en-Josas	monique.caillol@jouy.inra.fr
CANCEILL	Danielle	INRA Jouy-en-Josas	danielle.canceill@jouy.inra.fr
CANIVET	Nicolas	DGAL	nicolas.canivet@agriculture.gouv.fr
CARAES	Armelle	Hopscotch	acaraes@hopscotch.fr
CARANTINO	Georges	AFMA	georges.carantino@laposte.net
CARLIER	Martine	IFIP	martine.carlier@ifip.asso.fr
CARLIER	Vincent	AFSSA	v.carlier@afssa.fr
CARPENTIER	Brigitte	AFSSA	b.carpentier@afssa.fr
CARTIER-LANGE	Elodie	CESG	non communiqué

CARUHEL	Grégoire	CCIP	gcaruhel@ccip.fr
CASSUTO	Dominique-Adèle	Cedus	da.cassuto@cedus.fr
CAVELLEC	Aline	Société St Hubert	ALINE.CAVELLEC@sthubert.fr
CERF	Olivier	Ecole vétérinaire d'Alfort	ocerf@vet-alfort.fr
CHAMBRIER	Claire	CIV	c.chambrier@civ-viande.org
CHAMPOMIER-VERGES	Marie-Christine	INRA	marie-christine.champomier-verges@jouy.inra.fr
CHARDIGNY	Jean-Michel	INRA-Univ Clermont I	chardign@clermont.inra.fr
CHARTRON	Sylvie	Mars Chocolat France	sylvie.chartron@eu.effem.com
CHASSAGNE	Marie-Hélène	BEL Fromageries	mhchassagne@groupe-bel.com
CHATELAIN	Catherine	COMPASS GROUP FRANCE	catherine.chatelain@compass-group.fr
CHAULIAC	Michel	Direction générale de la santé	michel.chauliac@sante.gouv.fr
CHENE	Christine	ADRIANOR	cchene.adrianor@wanadoo.fr
CHERBUT	Christine	Nestlé Research Center	christine.cherbut@rdls.nestle.com
CHESNEAU	Guillaume	VALOREX	g.chesneau@valorex.com
CHEYMOL	Flavie	SYNADIET	nouscontacter@synadiet.org
CHOUROT	Jean-Marc	ANR	Jean-Marc.CHOUROT@agencerecherche.fr
COLLEU	Sylvie	INRA Paris	sylvie.colleu@paris.inra.fr
COLONNA	Paul	INRA Nantes	colonna@nantes.inra.fr
CONTI	Hélène	Ville de Cachan	helene.conti@ville-cachan.fr
CORNET	Monique	INRA	monique.cornet@jouy.inra.fr
COTTEREAU	Philippe	IFV	philippe.cottreau@vignevin.com
COURLEUX	Jean-Louis	INNOVATION	courleux@club-internet.fr
COURLEUX	Jean-Louis	INNOVATION	courleux@club-internet.fr
COUSIN	Laurent	Sodexo	laurent.cousin@sodexo.com
COUTEAUX	Olivier	INAO	o.couteaux@inao.gouv.fr
CRENN	Pascal	APHP, Université de Versailles	pascal.crenn@rpc.aphp.fr
CRUTZ LE COQ	Anne-Marie	INRA	Anne-Marie.LeCoq@jouy.inra.fr
DALLONGEVILLE	Jean	Institut Pasteur de Lille	jdall@free.fr
DALMAS	Elise	INSERM	elise.dalmas@crc.jussieu.fr
DANCER	Paul	Groupe SEB	pdancer@groupeseb.com
DARCY-VRILLON	Béatrice	INRA	Beatrice.Darcy-Vrillon@paris.inra.fr
DE BUYSER	Marie-Laure	AFSSA	m.debuyser@afssa.fr
DE LA VILLE	Inés	CEPE/IAE de Poitiers	delaville@iae.univ-poitiers.fr
DEBAT	Hélène	INRA-LISBP	helene.debat@insa-toulouse.fr
DELBES	Céline	INRA Clermont-Ferrand	cdelbes@clermont.inra.fr
DENIS	Amélie	L'Alliance 7	adenis@alliance7.com
DERENS-BERTHEAU	Evelyne	Cemagref	evelyne.derens@cemagref.fr
DESMAREST	Patrice	Pernod-Ricard	padesmarest@wanadoo.fr
DEVE	Samira	CCIP 94	skelati-deve@ccip.fr
DEVOS	Nathalie	Point vétérinaire WKF	ndevos@pointveterinaire.com
DHAUSSY	Amélie	Lesieur	adhaussy@lesieur.fr
DISSARD	Anne-Virginie	AUCHAN	avdissard@auchan.fr
DIVOUX	Adeline	INSERM	adeline.divoux@crc.jussieu.fr
DOYARD	Pierre	Hôpital San Salvador	pierre.doyard@ssl.aphp.fr
DRAY-SPIRA	Rosemary	Inserm	Rosemary.Dray-Spira@inserm.fr
DUCHENE	Christelle	CIV (Centre d'Information des Viandes)	c.duchene@civ-viande.org
DUFOUR	Martin	SPRIM	martin.dufour@agroparistech.fr
DUHEM	Koenraad	CNIEL	kduhem@cniel.com
ESCUDIER	Jean-Louis	INRA	escudier@supagro.inra.fr
ESNOUF	Catherine	INRA Paris	catherine.esnouf@paris.inra.fr
ETIEVANT	Patrick	INRA Clermont-Ferrand	alimh@clermont.inra.fr
EVARD	Jacques	CETIOM	evrard@cetiom.fr
FABIEN-SOULE	Véronique	Rousselot	veronique.fabien-soule@rousselot.com

FAIDHERBES	Nadia	APHP	nadia.faidherbes@orange.fr
FAIVRE	Jeanine	FFEPGV	relations-institutionnelles@ffepgv.fr
FAURION	Annick	CNRS	Annick.Faurion@jouy.inra.fr
FEURER	Carole	IFIP	carole.feurer@ifip.asso.fr
FILLION	Gaëlle	Hopscotch	gfillion@hopscotch.fr
FOSSE	Julien	Ministère de l'Agriculture	julien.fosse@agriculture.gouv.fr
FOURNIER	Natalie	Faculté de Pharmacie, Univ Paris-Sud 11	natalie.fournier@u-psud.fr
FRANCK	Michel	ENVL	m.franck@adnucleis.com
FRILLEY	Caroline	Lactalis	caroline.frilley@lactalis.fr
GAIGNAIRE	Aude	Centre Européen des Sciences du Goût	gaignaire@cesg.cnrs.fr
GALISSANT	Carole	SOGERES	carole.galissant@sogeres.fr
GARCIA-VILLAR	Rafael	INRA Toulouse	rgarciav@toulouse.inra.fr
GARRY	Pascal	IFIP	pascal.garry@ifip.asso.fr
GASSIE	Julia	CNA	julia.gassie@agriculture.gouv.fr
GAUSSERES	Nicolas	DANONE RESEARCH	nicolas.gausseres@danone.com
GAUTHIER	Michel	VETEXPERT	michel.gauthier.005@gmail.com
GAUTIER	Michel	Agrocampus-ouest	michel.Gautier@agrocampus-ouest.fr
GEFFROY	Géraldine	COMPASS GROUP FRANCE	geraldine.geffroy@compass-group.fr
GELIN	Sandrine	DRRT RHONE ALPES	drdt.rhone-alpes@recherche.gouv.fr
GENOT	Claude	INRA	claud.genot@nantes.inra.fr
GERMANY	Jonhny	Grands Moulins de Paris	jgermany@nutriox.com
GERVAIS	Remi	Université Lyon I	rgervais@olfac.univ-lyon1.fr
GIBOREAU	Agnès	Institut Paul Bocuse	agnes.giboreau@institutpaulbocuse.com
GIRAUD	Chrystelle	Système U	chrystelle.giraud@systeme-u.fr
GLEIZER	Bethsabée	CTIFL	gleizer@ctifl.fr
GOBIN	Dominique	USAR	dgobin@cnrs-dir.fr
GOGLIA	Raffaella	INRA-ALISS	raffaella.goglia@ivry.inra.fr
GÖK	Derya	INRA ANR	derya.gok@paris.inra.fr
GOURAUD BOUYER	Sophie	Ministère de l'Agriculture	sophie.bouyer@agriculture.gouv.fr
GRASSI	Jacques	CEA	jacques.grassi@cea.fr
GUEGUEN	René	Centre de médecine préventive	rene.gueguen@cmp.u-nancy.fr
GUILPART	Jacques	Cemagref	jacques.guilpart@cemagref.fr
GUIRRIEC	Morgane	Institut Français pour la Nutrition	guirriec@ifn.asso.fr
HAJDUCH	Froogh	INSERM	froogh.hajduch@crc.jussieu.fr
HANNIN	Hervé	IHEV/SupAgro	hannin@supagro.inra.fr
HARDY	Jean-Luc	Coopagri Bretagne	jean-luc.hardy@capinov.fr
HAUSSER	Frank	Université de Strasbourg-IUT Louis Pasteur	frank.hausser@iutlpa.u-strasbg.fr
HERCBERG	Marie-Hélène	Education nationale	mh.hercberg@hotmail.fr
HERCBERG	Serge	CRNH Ile de France	s.hercberg@uren.smbh.univ-paris13.fr
HESLAN	Laetitia	Hôpital Albert Chenevier	laetitia.heslan@ach.aphp.fr
HOOTON	Henri	CRNH	hootonh@hotmail.com
HUGER	Aurélié	INCORPONESANO	aurelie.huger@incorporesano.fr
IRLINGER	Françoise	INRA	irlinger@grignon.inra.fr
IVALDI	Marion	Réussir	m.ivaldi@reussir.tm.fr
JAILLAIS	Benoît	INRA Nantes	benoit.jaillais@nantes.inra.fr
JOUANY	Magali	Food Development	magali.jouany@food-development.fr
JULIEN	Marie-Pierre	CNRS Strasbourg	mariepierrejulien@yahoo.fr
KALONJI	Esther	AFSSA	e.kalonji@AFSSA.FR
KARTOUT	Fatima	Mutualité française	fatima.kartout@mutualite.fr
KEOPHIPHATH	Mayoura	INSERM	mayoura.keophiphath@crc.jussieu.fr
KESSE-GUYOT	Emmanuelle	MR U557 Inserm/ U1125 Inra/ Cnam/ Paris 13	e.kesse@uren.smbh.univ-paris13.fr
KHALDI	Raoudha	INRA de Tunis	khaldi.raoudha@iresa.agrinet.tn
KHALDI	Raoudha	INRA	khaldi.raouddha@iresa.agrinet.tn
KHAN	Jean	ANTHROPOLOGIE ET ECOLOGIE HUMAINE	dijk01@yahoo.fr

KONG	Ling chun	INSERM	konglc80@hotmail.fr
LAINE	Christine	Ministère de l'Agriculture et de la Pêche	christine.laine@agriculture.gouv.fr
LAIRON	Denis	INSERM	denis.lairon@univmed.fr
LANGE	Christine	CESG	lange@cesg.cnrs.fr
LANZMANN-PETITHORY	Dominique	APHP	dominique.lanzmann@erx.aphp.fr
LATARCHE	Clotilde	Ecole de Santé Publique	c.latarche@chu-nancy.fr
LAUNAY	Claire	INVIVO- INZO	claunay@inzo-net.com
LAURET	Daniel	INRA Paris	dlauret@paris.inra.fr
LE LOIR	Yves	INRA	yves.leloir@rennes.inra.fr
LE TINEVEZ	Réjane	INRA Transfert	letineve@paris.inra.fr
LEBECQUE	Annick	ENITA CLERMONT	lebecque@enitac.fr
LEBRE	Catherine	Lycée Grégor Mendel	catherine.lebre@sfr.fr
LECLERC	Pierre	Les 4 vérités	pierre.leclerc@live.fr
LECOURTIER	Jacqueline	ANR	jacqueline.lecourtier@agencerecherche.fr
LEGRAND	Marguerite	Secteur Associatif	margle01@yahoo.fr
LEGRET	Bertrand	Hopscotch	blegret@hopscotch.fr
LEONETTI	Martine	Mairie	martine.leonetti@ville-antibes.fr
LESAFFRE	Julie	Hôpital Albert Chenevier	julie.lesaffre@ach.aphp.fr
LEVEAU	Claire	Université	leveau.cg@wanadoo.fr
LEVERVE	Xavier	INRA Paris	xavier.leverve@paris.inra.fr
LIEB	Sovanna	Protéines	slieb@proteines.fr
LIOPER	Delphine	Pôle de Compétitivité Innovandes	delphine.lioper@innovandes.org
LITMAN	Sonia	ADEPALE	slitman@adepale.org
LOREAU	Olivier	CEA	olivier.loreau@cea.fr
LORTAL	Sylvie	INRA	sylvie.lortal@rennes.inra.fr
LOSSON	Michel	PRODUCT INTELLIGENCE Consulting	michel.losson@product-intelligence.fr
LOUBIERE	Pascal	INSA - LISBP	loubiere@insa-toulouse.fr
LUCAS	Cécile	DRASS	cecile.lucas@sante.gouv.fr
LUCBERT	Jacques	Institut de l'Elevage	jacques.lucbert@inst-elevage.asso.fr
LUTIN	Florence	EURODIA	florence.lutin@eurodia.com
MAGGIAR	Alban	Laboratoire Carrare	nouscontacter@synadiet.org
MAGNAN	Christophe	Université Paris 7-CNRS	christophe.magnan@univ-paris-diderot.fr
MANAGER	Thierry	meie pipame	thierry.menager@finances.gouv.fr
MARCHAL	Philippe	Groupe Soparind Bongrain	philippe.marchal@lalliance.com
MARDON	Julie	Enita Clermont	mardon@enitac.fr
MARECAUX	Nadine	INSERM-UMR744/Institut Pasteur de Lille	nadine.marecaux@pasteur-lille.fr
MARFAING	Hélène	CEVA	helene.marfaing@ceva.fr
MARIN	Michèle	INRA	michèle.marin@paris.inra.fr
MARSOLLIER	Nicolas	Université Paris7 CNRS	nicolasmarsollier@gmail.com
MARTIN	Christine	INRA Clermont-Ferrand	cmartin@clermont.inra.fr
MARTIN	Ambroise	Faculté de médecine Lyon sud	Ambroise.Martin@sante.univ-lyon1.fr
MASSON	Céline	SOGERES	celine.masson@sogeres.fr
MAYER	Julie	Protéines	jmayer@proteines.fr
MAZELLA	Audrey	ISTAB	audrey.mazella@hotmail.fr
MÉGNIN	Jean-Pierre	Lien de la Vigne	jpmegnin@wanadoo.fr
MENENTEAU	Aurélie	SYSTEME U	aurelie.menenteau@systeme-u.fr
MENUJER	Nathalie	COPELDOR	n.menudier@elevation24.com
MERCIER	Stéphanie	INRA Transfert	mercier@paris.inra.fr
MICARD	Valérie	SupAgro-INRA	micard@supagro.inra.fr
MICHEL	Christine	INRA Nantes	cmichel@nantes.inra.fr
MOKTEFI	Amirouche	IRIST	amirouche.moktefi@gersulp.u-strasbg.fr
MOLLIER	Pascale	INRA	pascale.mollier@paris.inra.fr
MORICEAU	Stéphanie	LDC	stephanie.moriceau@ldc.fr

MORIN	Marie-Christine	AP PARIS	marie-christine.morin@lrp.aphp.fr
MORIO	Béatrice	INRA	morio@clermont.inra.fr
MORIZET	David	Institut Paul Bocuse	david.morizet@institutpaulbocuse.com
MULTON	Jean-Louis	SSHA	jean-louis.multon@laposte.net
NAOUR	Nadia	INSERM	nadia.naour@crc.jussieu.fr
NARCE	Michel	INSERM/ Université de Bourgogne	Michel.Narce@u-bourgogne.fr
NGUYEN-THE	Christophe	INRA Avignon	nguyenth@avignon.inra.fr
OULHADJ	Fatima	Mairie de Bagnolet	fatima.oulhadj@ville-bagnolet.fr
PAILLARD	Isabelle	LACTALIS	isabelle.paillard@lactalis.fr
PAIS - DA SILVA	Elisabeth	LESIEUR	epais@lesieur.fr
PAPUCCI	Audrey	CESG	non communiqué
PARISOT	Pascale	Ministère de l'agriculture et de la pêche	pascale.parisot@agriculture.gouv.fr
PARNEL	Alice	CRITT Santé Bretagne	alice.parnel@univ-rennes1.fr
PELEGRIN	Alice	INRA ANR	alice.pelegrin@paris.inra.fr
PELLOUX	Véronique	INSERM	veronique.pelloux@crc.jussieu.fr
PENICAUD	Luc	CNRS	penicaud@cict.fr
PERNOLLET	Jean-Claude	INRA	pernolle@club-internet.fr
PERRAUT	Anne	INRA Rennes	anne.perraut@rennes.inra.fr
PERRET	Nadège	Agro-Hall	nadege.perret@agrohall.fr
PERRIN	Rémi	SOREDAB	remi.perrin@soredab.org
PEUPIER	Loïc	CERVIA	loic.peupier@cervia.fr
PEUPIER	Loïc	CERVIA	loic.peupier@cervia.fr
PEYRAT	Marie-benedicte	MAP / DGAL	marie-benedicte.peyrat@agriculture.gouv.fr
PHAN	Murielle	ORANGINA SCHWEPPE FRANCE	murielle.phan@os-group.com
PICARD	Nadine	BROSSARD	nadine.picard@brossard.fr
PINCHAUD	Nicolas	Elior	nicolas.pinchaud@elior.com
PINON	Anthony	Institut Pasteur de Lille	anthony.pinon@pasteur-lille.fr
PITCHON	Véronique	CNRS	pitchon@chimie.u-strasbg.fr
POLITZER	Nathalie	INSTITUT DU GOÛT	npolitzer@idg.asso.fr
POUMEYROL	Gérard	AFSSA	g.poumeyrol@afssa.fr
RABUT	Marie	ONEMA	marie.rabut@onema.fr
RAKOTOVAO	Andry	TIMC-IMAG Coeur & Nutrition	andry.rakotovao@imag.fr
RASTOIN	Jean-Louis	Montpellier SupAgro	rastoin@supagro.inra.fr
RAUZY	Cécile	ANIA	crauzy@ania.net
REISER	Philippe	Cedus	p.reiser@cedus.fr
REMY	Sébastien	MAP / DGAL	sebastien.remy@agriculture.gouv.fr
RENOU	Jean Pierre	INRA	jpr@clermont.inra.fr
REQUILLART	Vincent	INRA Toulouse	vincent.requillart@toulouse.inra.fr
RICHONNET	Celine	LU FRANCE	celine.richonnet@kraff.com
ROCHER	Virginie	Ingénieur R&D/ nutrition	virginie.rocher@gmail.com
ROGEAUX	Michel	DANONE RESEARCH	michel.rogeaux@danone.com
ROUGERIE	Françoise	LACTALIS	Francoise.ROUGERIE@lactalis.fr
ROUSTAN	Alexandre	THIRIET	a.roustan@thiriet.com
ROY	Amélie	Institut Français de la Vigne et du Vin	roy@supagro.inra.fr
RUIDAVETS	Jean-Bernard	CHU Toulouse	ruidavet@cict.fr
SANTE-LHOUTELLIER	Véronique	INRA	veronique.sante@clermont.inra.fr
SARAZIN	Magali	INRA Paris	magali.sarazin@paris.inra.fr
SAUVAGEOT	François	Ensbana	francois.sauvageot@u-bourgogne.fr
SCHLICH	Pascal	INRA. Centre Européen des Sciences du Goût	schlich@cesg.cnrs.fr
SCHMITT	Bertrand	INRA	dptsae2@rennes.inra.fr
SEBEDIO	Jean-Louis	INRA Clermont-Ferrand	js@clermont.inra.fr
SERRAKH	Abdesslam	SCANSELF	serrakh.abdesslam@neuf.fr
SFAYHI	Dorra		sfayhi.dorra@yahoo.fr

SIMON	Noémi	ONIDOL	n.simon@prolea.com
SIMON	Chantal	U870	chantal.simon@recherche.univ-lyon1.fr
SIMON CORNU	Marie	AFSSA	m.simon-cornu@afssa.fr
SLIMANI	Mohamed	SILLIKER	mohamed.slimani@silliker.fr
SOUCHON	Isabelle	INRA Grignon	souchon@grignon.inra.fr
SOULIAC	Laure	Ministère de l'agriculture	laure.souliac@agriculture.gouv.fr
SPITERI	Marine	INRA Ivry	marine.spiteri@ivry.inra.fr
STRIGLER	Florence	IFN	strigler@ifn.asso.fr
SZABO DE EDELENYI	Fabien	UMR INSERM476/INRA1260	f_szabo@club-internet.fr
TAILLADE	Patrick	SAFISIS	pt@safisis.fr
TALON	Régine	INRA Clermont-Ferrand	talon@clermont.inra.fr
TALOU	Thierry	INP-ENSIACET	talou@cict.fr
TAYEB	Jean	INRA	jean.tayeb@reims.inra.fr
THERY	Julien	Système U	julien.thery@systeme-u.fr
THIERRY	Anne	INRA Rennes	anne.thierry@rennes.inra.fr
THUAULT	Dominique	ADRIA Développement	dominique.thuault@adria.tm.fr
TONON	Frank	Agro-Hall	frank.tonon@agrohall.fr
TROTIER	Didier	NBS NOPA INRA	didier.trotier@jouy.inra.fr
VAUDOUR	Sandrine	Lunor	sandrine.vaudour@yahoo.fr
VELILLA	Philippe	MINEIE/DGCIS	philippe.velilla@finances.gouv.fr
VERKINDT	Chantal	Université de la Réunion	chantal.verkindt@univ-reunion.fr
VERNOZY-ROZAND	Christine	ENVL	c.vernozy@vet-lyon.fr
VERNY	Marie-Anne	INRA	maverny@clermont.inra.fr
VIDAL	Jean-Paul	UNGDA	jpvidal@ungda.com
VIGIER	Valérie	MAP	valerie.vigier@agriculture.gouv.fr
VILLARROEL	José	Ville de Cachan	jose.villarroel@ville-cachan.fr
VILLENA	Isabelle	CHU REIMS	ivillena@chu-reims.fr
VIOLLET	Amélie	La Vigne	a.viollet@gfa.fr
VOYATZAKIS	Ariane	OSEO	ariane.voyatzakis@oseo.fr
WAGNER	Aline	Laboratoire d'épidémiologie STRASBOURG	aline.wagner@medecine.u-strasbg.fr
WALRAND	Stéphane	INRA Clermont-Ferrand	swalrand@clermont.inra.fr
WOJTENKA	Jean	ENTREMONT	jwojtenka@entremont-alliance.com
ZULIANI	Véronique	IFIP	veronique.zuliani@ifip.asso.fr