

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract	v
Table des matières	vi
Liste des tableaux	xi
Liste des figures	xiv
Liste des abréviations et des sigles	xvii
Remerciements.....	xix
Avant-propos.....	xxi
Introduction	1
Chapitre 1: Revue de littérature	4
1.1. L'industrie de la viande dans l'économie canadienne : un secteur d'activité en croissance et à forte valeur ajoutée	4
1.2. La cuniculture, une activité qui fait écho à l'agriculture durable	4
1.3. La viande de lapin : une viande aux caractéristiques inégalées	7
1.3.1. Évolution de la production cunicole.....	7
1.3.2. Caractéristiques nutritionnelles de la viande de lapin	10
1.3.2.1. La fraction lipidique	10
1.3.2.2. La fraction minérale et vitaminique.....	12
1.3.2.3. Les acides aminés essentiels.....	13
1.3.2.4. Les fibres musculaires	14
1.4. Les maladies d'origine alimentaires : une préoccupation de premier plan en santé publique	15
1.4.1. L'innocuité des aliments dans un monde en mutation	16
1.4.2. <i>Listeria monocytogenes</i> : un défi permanent pour l'industrie alimentaire	17
1.5. La qualité de la viande : en constante évolution	19
1.5.1. Le pH.....	19
1.5.2. La couleur	21
1.5.3. La perte en eau et la perte à la cuisson	23
1.5.4. La viande : un milieu favorable à la croissance des microorganismes.....	23
1.6. Nouvelles stratégies alimentaires simples et sans investissement majeur pour les producteurs	28

1.6.1. Les bactéries lactiques : nouvelle approche pour la conservation de la viande	28
1.6.1.1. Les bactériocines comme la conservation des aliments	30
1.6.1.2. Les bactériocines comme des agents de conservation dans la viande.....	31
1.6.1.3. Micocin® sur les viandes transformées.....	33
1.6.2. Les polyphénols : composés naturels, idéals pour l’industrie agroalimentaire	33
1.6.2.1. Caractéristiques et classification	34
1.6.2.2. Les composés riches en composés polyphénoliques	35
1.6.2.3. Les huiles essentielles (HE) riches en polyphénols.....	37
1.6.2.4. Biodisponibilité des polyphénols	38
1.7. L’oxydation de la viande : un phénomène redouté en agroalimentaire	41
1.7.1. La peroxydation des lipides : les AGPIs et leur effet sur la qualité de la viande	41
1.7.2. L’oxydation des protéines et son effet sur la qualité de la viande.....	45
1.7.3. Les Polyphénols en tant qu’antioxydants	47
1.7.4. Les Polyphénols en tant qu’antimicrobiens.....	49
Chapitre 2: Problématique, objectifs et hypothèses de recherche	55
2.1. Problématique	55
2.2. Hypothèse	56
2.3. Objectifs.....	56
2.3.1. Objectif général	56
2.3.2. Objectifs spécifiques.....	56
Chapitre 3: Effects of plant extracts and essential oils as feed supplements on quality and microbial traits of rabbit meat.....	57
3.1. Résumé.....	60
3.2. Abstract	61
3.3. Introduction	62
3.4. Materials and methods.....	63
3.4.1. Animal management and alimentation	63
3.4.2. Meat quality measurement	64
3.4.3. Muscle Sampling	65
3.4.4. Microbial Analysis	66
3.4.5. Proximate analysis.....	67
3.4.6. Determination of muscle antioxidant status	67

3.4.7. Statistical analysis	68
3.5. Results.....	68
3.5.1. Growth performance.....	68
3.5.2. Proximate composition and pH of the meat	71
3.5.3. Color of the meat	72
3.5.4. Antioxidant status of meat.....	72
3.5.5. Microbial analysis and shelf life.....	74
3.6. Discussion	78
3.7. Conclusion	81
3.8. Acknowledgements	81
Chapitre 4: Plant extracts and essential oils as feed additive to control rabbit meat microbial quality.....	82
4.1. Résumé.....	85
4.2. Abstract	86
4.3. Introduction	87
4.4. Materials and methods.....	88
4.4.1. Animal housing and feeding.....	88
4.4.2. Meat quality measurement	91
4.4.3. Muscle Sampling	91
4.4.4. Proximate analysis.....	92
4.4.5. Determination of muscle antioxidant status	92
4.4.5.1. Total phenol content.....	92
4.4.6. Microbial Analysis	92
4.4.7. Statistical analysis	94
4.5. Results.....	94
4.5.1. Growth performance.....	94
4.5.2. Meat quality traits.....	95
4.5.3. Total phenol content of raw meat.....	98
4.5.4. Microbial analysis and shelf life of rabbit thighs stored under aerobic or anaerobic conditions	98
4.5.4.1. Aerobic conditions.....	99
4.5.4.2. Anaerobic conditions.....	102
4.6. Discussion	105

4.7. Conclusion	109
4.8. Acknowledgements	110
Chapitre 5: Application of <i>Carnobacterium maltaromaticum</i> CB1 as a feed additive for weaned rabbits to improve meat microbial quality and safety	111
5.1. Résumé	114
5.2. Abstract	115
5.3. Introduction	116
5.4. Materials and Methods	117
5.4.1. Animal housing and feeding.....	117
5.4.2. Meat quality measurement	119
5.4.3. Muscle Sampling	120
5.4.4. Proximate analysis	120
5.4.5. Determination of muscle antioxidant status	121
5.4.5.1. Total phenol content	121
5.4.5.2. Lipid oxidation	121
5.4.5.3. Carbonyl content	122
5.4.6. Microbial Analysis	122
5.4.7. Experimental inoculation of ground meat with <i>L. monocytogenes</i>	123
5.4.7.1. Bacterial cultures and growth conditions	123
5.4.7.2. Ground meat inoculation and incubation	124
5.4.8. Presence of <i>C. maltaromaticum</i> CB1 on faeces, thighs and ground meat	124
5.4.8.1. Growth and culture conditions for indicator strains and bacteriocin production.....	124
5.4.8.2. Molecular characterization of <i>C. maltaromaticum</i> CB1	125
5.4.9. Statistical analysis	126
5.5. Results	127
5.5.1. Growth performance.....	127
5.5.2. Meat quality traits.....	127
5.5.3. Microbial analysis of rabbit thighs stored under aerobic or anaerobic conditions... 131	
5.5.3.1. Aerobic conditions.....	131
5.5.3.2. Anaerobic conditions.....	135
5.5.4. Microbial analysis of rabbit ground meat stored under aerobic or anaerobic conditions at 4 or 10 °C	135

5.5.4.1. Aerobic conditions.....	136
5.5.4.2. Anaerobic conditions.....	139
5.5.5. Ground meat experimentally inoculated with <i>L. monocytogenes</i> and stored under aerobic or anaerobic conditions at 4 or 10°C	140
5.5.6. Presence of carnocyclin-A producing <i>C. maltaromaticum</i> in the faeces during the feeding period.....	143
5.5.7. Presence of carnocyclin-A producing <i>C. maltaromaticum</i> on thighs and in ground meat	143
5.6. Discussion	145
5.6.1. Growth performance and meat quality	145
5.6.2. Modulation of the microflora	147
5.6.3. Meat Safety.....	148
5.7. Conclusion	149
5.8. Acknowledgements	150
Chapitre 6: Conclusions générales, implications et perspectives.....	151
6.1. Conclusion générale.....	151
6.2. Implications et perspectives futures.....	154
6.2.1. Le pouvoir antioxydant des extraits de végétaux et des huiles essentielles dans la viande	154
6.2.2. Modulation de la microflore de la carcasse avec une culture protectrice commerciale Micocin®.....	154
Références bibliographiques.....	156
Annexe	190

Liste des tableaux

Tableau 1.1. Production mondiale de lapins (milliers de lapins abattus).....	7
Tableau 1.2. Pays producteurs de lapins (milliers de lapins abattus).....	7
Tableau 1.3. Consommation de viande par habitant au Canada (kg – équivalent poids abattu)	8
Tableau 1.4. La composition chimique (g) et la valeur énergétique (Kj) de la viande selon les différentes espèces (pour 100 g de viande crue)	10
Tableau 1.5. Teneur des différents types d'acides gras (% des AG totaux) et la teneur en cholestérol (mg/100 g) du <i>Longissimus dorsi</i> (poitrine chez le poulet)	11
Tableau 1.6. Composition en minéraux et en vitamines (mg) des différentes viandes (pour 100 g de fraction comestible)	13
Tableau 1.7. Composition en acides-aminés essentiels de différentes viandes (g/100 de fraction comestible).....	14
Tableau 1.8. Teneurs (mg/g muscle sec) et solubilités (%) du collagène de différentes viandes	14
Tableau 1.9. pHu, couleur, fermeté et pertes à la cuisson de la viande (valeurs moyennes du muscle <i>Longissimus dorsi</i> et <i>Pectoralis major</i> chez le poulet) tiré de Dalle Zotte (2000) ..	21
Tableau 1.10. Microorganismes d'altération et pathogènes associés à la viande fraîche et aux produits carnés impliqués dans la détérioration de la viande et les toxi-infections alimentaires	25
Tableau 1.11. Combinaison des composants et des huiles essentielles ainsi que de leurs interactions antimicrobiennes contre plusieurs microorganismes.	52
Tableau 1.12. Classes de quelques polyphénols et des microorganismes qui leur sont sensibles. tiré de Daglia (2012)	53
Tableau 3.1. Nutritional values and composition ^a of the commercial and experimental diets.	64
Tableau 3.2. Growth performance of weaned rabbits fed experimental diets.....	70
Tableau 3.3. Effect of the dietary treatment on physicochemical analyses and meat quality parameters in rabbit meat.	71

Tableau 3.4. Effect of dietary treatments on physical characteristics of the <i>Longissimus dorsi</i> and the <i>Biceps femoris</i> muscles, and on lipid oxidation, carbonyl and total phenol content in raw meat.	73
Tableau 3.5. Total aerobic mesophilic (TAM), presumptive <i>Pseudomonas</i> spp. and presumptive Lactic Acid Bacteria (LAB) counts (log cfu/g) on rabbit thighs between 0 and 15 days of storage at 4 °C under aerobic conditions.	76
Tableau 3.6. Total aerobic mesophilic (TAM), presumptive <i>Pseudomonas</i> spp. and presumptive LAB counts (log cfu/g) on rabbit thighs between 0 and 45 days of storage at 4 °C under vacuum.	77
Tableau 4.1. Nutritional values and composition ^a of the experimental diets.	89
Tableau 4.2. Total phenolics of the experimental diets.....	90
Tableau 4.3. Growth performance of weaned rabbits fed experimental diets.....	95
Tableau 4.4. Effect of the dietary treatment on physicochemical analyses and meat quality parameters in rabbit meat.	97
Tableau 4.5. Total aerobic mesophilic (TAM), presumptive <i>Pseudomonas</i> spp. and presumptive LAB and <i>Listeria</i> spp. in Log ₁₀ CFU/g. <i>Enterobacteriaceae</i> , coliforms and presumptive <i>Staphylococcus aureus</i> counts in Log ₁₀ CFU/10g on rabbit thighs between 0 and 9 days of storage at 4 °C under aerobic conditions.	101
Tableau 4.6. Total aerobic mesophilic (TAM), presumptive <i>Pseudomonas</i> spp. and presumptive LAB and <i>Listeria</i> spp. in Log ₁₀ CFU/g. <i>Enterobacteriaceae</i> , coliforms and presumptive <i>Staphylococcus aureus</i> counts in Log ₁₀ CFU/10g on rabbit thighs between 0 and 20 days of storage at 4 °C under anaerobic conditions.	104
Tableau 5.1. Nutritional values and composition ^a of the commercial diets.	119
Tableau 5.2. Primer sequences, directions, annealing temperature and size of the candidate products used to detect <i>Carnobacterium maltaromaticum</i> on thighs, faeces and ground rabbit meat by quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction.	126
Tableau 5.3. Growth performance of weaned rabbits fed either a control or a supplemented diet with Micocin®.....	128
Tableau 5.4. Effect of <i>Carnobacterium maltaromaticum</i> CB1 diet supplement on physicochemical analyses, meat quality parameters and antioxidant status of rabbit meat.	130

Tableau 5.5. Different P values of microbial counts on thigh samples stored at 4 °C in aerobic conditions.	134
Tableau 5.6. Different P values of microbial counts on thigh samples stored at 4 °C in anaerobic conditions.	134
Tableau 5.7. Different P values of microbial counts on uninoculated ground meat samples stored at 4 and 10 °C in aerobic conditions.	139
Tableau 5.8. Different P values of microbial counts in uninoculated ground meat samples stored at 4 and 10 °C in anaerobic conditions.	139
Tableau 5.9. P values of microbial counts on inoculated ground meat samples with a cocktail of five strains of <i>Listeria monocitogenes</i> stored at 4 and 10 °C in aerobic and anaerobic conditions.	141
Tableau 5.10. Different P value of treatment effect at each storage time on ground meat stored at 4 and 10 °C under aerobic and anaerobic conditions.....	142
Tableau 5.11. Growth rate (CFU/g.day) of <i>Listeria monocitogenes</i> on inoculated ground meat samples with a cocktail of five strains of <i>Listeria monocitogenes</i> stored at 4 and 10 °C in aerobic and anaerobic conditions.	142
Tableau 5.12. Microbial enumeration of TAM, presumptive LAB on MRS, presumptive LAB on APT, coliforms, <i>Enterobacteriaceae</i> and <i>Escherichia coli</i> in faeces during the feeding period.	143
Tableau 5.13. Presence of <i>Carnobacterium maltaromaticum</i> in faeces and rabbit thighs at 4 °C under aerobic and anaerobic conditions ^a	144
Tableau 5.14. Presence of <i>Carnobacterium maltaromaticum</i> producing carnocyclin A in rabbit ground meat stored at 4 and 10 °C under aerobic and anaerobic conditions (0, 3, 6, 9, 12, 15 days) as determined by PCR analysis of three specific genes: 16S-cpg, ISR and CcIA ^a	144

Liste des figures

Figure 1.1. Évolution du pH musculaire après l'abattage, couleur et pouvoir de rétention d'eau (PRE : pouvoir de rétention d'eau; Interbev, 2006). La figure illustre la chute du pH qui survient durant les heures post mortem. 20

Figure 1.2. a) Molécule de phénol, la structure de base des polyphénols; b) Structure de base des acides phénoliques; c) Structure de base des flavonoïdes..... 34

Figure 1.3. Teneur totale en composés polyphénoliques (mg) par 100g d'aliment pour plusieurs fruits et légumes. Figure tirée de l'article de Liu et al. (2013)..... 36

Figure 1.4. L'absorption des polyphénols alimentaires chez l'homme. Les polyphénols sont fortement modifiés au cours de l'absorption dans l'estomac : les glycosides peuvent être hydrolysés dans l'intestin grêle ou dans le côlon et les aglycones libérés peuvent être absorbés. Avant le passage dans la circulation sanguine, les polyphénols subissent d'autres modifications structurales à cause du processus de conjugaison, qui a lieu principalement dans le foie. Tiré de D'Archivio et al. (2010). 39

Figure 1.5. Comparaison des valeurs d'oxydation, exprimés en indice TBARS (exprimées en mg de MDA/kg muscle), de la viande de porc (muscle *Longissimus lumborum*), de taurillon (muscle *Longissimus thoracis*), de poulet (muscle *Pectoralis major*) et de lapin (muscle *Longissimus dorsi* et viande hachée). Tirée de Dalle zotte (2005). 45

Figure 5.1.Total aerobic mesophilic (A), presumptive *Pseudomonas* (B), presumptive LAB on MRS (C), presumptive LAB on APT (D) and *Listeria* spp. (E) counts in Log₁₀ CFU/g, and *Enterobacteriaceae* (F), coliform (G) and presumptive *Staphylococcus aureus* (H) counts in Log₁₀ CFU/10g on rabbit thighs between 0 and 8 days of storage at 4°C under aerobic conditions. Bar represents standard error of the mean. Each point is a mean value of 12 cages with one thigh per cage analyzed at each sampling time. The cage of six rabbits is the experimental unit. Horizontal line indicates end of shelf life..... 132

Figure 5.2.Total aerobic mesophilic (A), presumptive *Pseudomonas* (B), presumptive LAB on MRS (C), presumptive LAB on APT (D) and *Listeria* spp. (E) counts in Log₁₀ CFU/g, and *Enterobacteriaceae* (F), coliform (G) and presumptive *Staphylococcus aureus* (H) counts in Log₁₀ CFU/10g on rabbit thighs between 0 and 8 days of storage at 4°C under anaerobic conditions. Bar represents standard error of the mean. Each point is a mean value of 12 cages with one thigh per cage analyzed at each sampling time. The cage of six rabbits is the experimental unit. Horizontal line indicates end of shelf life. 133

Figure 5.3. Total aerobic mesophilic (A), presumptive *Pseudomonas* (B), presumptive LAB on MRS (C), presumptive LAB on APT (D), *Enterobacteriaceae* (E), coliform (F), and

presumptive *Staphylococcus aureus* (G) counts in Log₁₀ CFU/g on ground meat uninoculated rabbit between 0 and 15 days stored at 4 and 10°C in aerobic conditions. Bar represents standard error of the mean. Each point is a mean value of three repetitions. Horizontal line indicates end of shelf life..... 137

Figure 5.4. Total aerobic mesophilic (A), presumptive *Pseudomonas* (B), presumptive LAB on MRS (C), presumptive LAB on APT (D), *Enterobacteriaceae* (E), coliform (F), and presumptive *Staphylococcus aureus* (G) counts in Log₁₀ CFU/g on ground meat uninoculated rabbit between 0 and 15 days stored at 4 and 10°C in anaerobic conditions. Bar represents standard error of the mean. Each point is a mean value of three repetitions. Horizontal line indicates end of shelf life..... 138

Figure 5.5. Growth of a cocktail of five *Listeria monocytogenes* strains inoculated at 4 Log₁₀ CFU/g on ground rabbit meat from animals fed a control diet or a diet supplemented with Micocin® containing *Carnobacterium maltaromaticum* CB1 at a level of 8 Log₁₀ CFU/kg of feed. Meat was stored under aerobic (A) or anaerobic (B) conditions at 4 or 10 °C. Each point represents the mean of three repetitions where, at each sampling time, one sample per cage was taken randomly and analysed in duplicate for a total of twelve cages per experimental group. Bar represents standard error of the mean..... 142

Figure A-0.1. Detection of *C. maltaromaticum* producing carnocyclin A using PCR analysis of three specific genes, namely 16S, ISR and carnocyclin A. Lane 1 et 11 molecular weight markers; lane 2, 3 and 4 negative controls, *L. innocua*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, respectively; lane 6, 8 and 10 no DNA with each primer, respectively; lane 5 *C. maltaromaticum* CB1/UAL307 with 16S, lane 7 with ISR and lane 9 with carnocyclin A. 190

Tout grand progrès scientifique est né d'une nouvelle audace de l'imagination.

John Dewey

Liste des abréviations et des sigles

AA: Acides aminés

AAE: Acides aminés essentiels

ACIA: Agence canadienne d'inspection des aliments

AG: Acides gras

AGE: Glycation de protéines

AGS: Acides gras saturés

AGPIs: Acides gras polyinsaturés

AH: Amines hétérocycliques

ANC: Apports nutritionnels conseillés

ASPC: Agence de la santé publique du Canada

AW: Activité de l'eau

BAL: Bactéries lactiques

BDC: Banque de développement du Canada

BHA: Butyl-hydroxyanisole

BHT: Butyl-hydroxytoluène

Ca: Calcium

CAC: Codex Alimentarius Commission

CMC: Canadian meat council

CO: Carbonyles

DFD: dark, firm, dry

DHA: Acide docosahexaénoïque

DNPH: 2,4-dinitrophénylhydrazine

EPA: Acide éicosapentaénoïque

ERO: Espèces réactives de l'oxygène

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FIDA: Fonds pour le développement agricole

GO: Glyoxal

HAP: Hydrocarbures aromatiques polycycliques

HE: Huiles essentielles

MDA: Malondialdéhyde

MGO: Méthylglyoxal

Na: Sodium

OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development

OMS: Organisation mondiale de la santé

pHu: pH ultime

ppm : partie par million

PSE: Pale, soft, exsudative

RTE: ready-to-eat

T: température

TBHQ: Tert-butylhydroquinone

Ufc: Unité formant une colonie

Remerciements

Je remercie Dieu de m'avoir aidé et soutenu pendant toutes les difficultés que j'ai rencontrées. Merci mon Dieu pour ton amour et ta présence à mes côtés à chaque étape de ma vie.

Aussi, sans la gracieuse participation de toutes ces personnes que j'ai côtoyées au cours de ces années de recherche, rien de tout cela n'aurait été possible et je voudrais donc vous rendre hommage à travers ces quelques lignes.

Je tiens tout d'abord à remercier la directrice de cette thèse, Prof. Linda Saucier, grâce à qui tout a été permis, pour m'avoir fait confiance à travers une simple lettre de motivation et un curriculum vitae. Puis pour m'avoir aidé, guidé, encouragé, conseillé, en me faisant l'honneur de me déléguer plusieurs responsabilités dont j'espère avoir été à la hauteur. De sa rigueur scientifique et sa clairvoyance, j'ai beaucoup appris. J'ai également eu la chance de découvrir la maman derrière le mentor, me consolant dans les moments les plus difficiles. Côtayer une telle personne, intègre et sincère a été pour moi un privilège et a sans aucun doute façonné la chercheuse que je suis. Merci pour ta disponibilité et ta patience à mon égard.

Mes remerciements vont également à mes codirecteurs le Prof. Frédéric Guay et le Prof. Dany-cinq Mars qui m'ont accompagné tout au long de ce cheminement par leurs suggestions et contributions, mais surtout leur disponibilité. Je vous en suis très reconnaissante.

Ce projet n'aurait également pas pu voir le jour sans le soutien financier du *Programme de Soutien à l'innovation en agroalimentaire*, un programme issu de l'accord *cultivons l'avenir* entre le *Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec* (MAPAQ) et *Agriculture Agroalimentaire Canada* (AAC). Merci au Syndicat des producteurs de lapins du Québec pour leur collaboration.

À l'ensemble du personnel et professionnel, étudiants (Mohamed Zied Abdelwahed et Simon Binggeli) et stagiaires du Département des sciences animales qui ont contribué, de près ou de loin, à mon cheminement, je réitère toute ma gratitude. Un merci particulier à Monica Gil, qui a été toujours disponible lorsque j'avais des questions. Merci pour ton accueil au laboratoire, ta générosité et ton aide quand j'ai accouché et que je n'avais personne pour

m'aider dans les moments de fatigue. Surtout, merci pour ton écoute et tes conseils quand le moral était au plus bas, je ressors de cette expérience avec une véritable amie. Merci à toi !

Aux familles Badji et Niyonzima, les mots sont faibles pour vous exprimer toute ma gratitude. Comme je le dis souvent à mon conjoint, j'ai laissé ma famille dans mon pays, mais la providence m'en a offert d'autres au Canada. Que Dieu vous bénisse !

Gros merci à mon conjoint, Éric Dodora, pour le soutien qu'il m'a apporté à tous les niveaux, sans qui je n'y serais peut-être pas arrivée. Merci, mon amour, d'avoir été présent quand j'en avais besoin et compréhensif lorsque j'étais débordé de travail, surtout avec notre fils Nathan (mon petit rayon de soleil). Mille Mercis.

Je ne pourrai conclure cette série de remerciements sans pour autant penser au soutien continuel de ma famille, plus précisément de celui de mon père, grâce à qui j'ai pu braver beaucoup d'embûches et arriver là où je suis actuellement. Les mots me manquent pour t'exprimer ma gratitude et ma reconnaissance papa et même si tu es loin de moi, aujourd'hui sache que tu es dans mon cœur. Je sais que tu es fier de la femme intellectuelle que je suis devenue grâce à tes sacrifices. Ce travail, c'est à toi que je le dédie. Je t'aime et merci encore !

Avant-propos

Cette thèse est soumise à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval pour obtention du diplôme de Philosophiae Doctor (Ph. D.). Elle se compose de six chapitres. Le premier chapitre est une revue de littérature qui introduit les connaissances générales sur la viande de lapin, ainsi que les différentes stratégies alimentaires rapportées dans la littérature pour améliorer la qualité de la viande ; le tout étant de comprendre les objectifs du projet de recherche. Le deuxième chapitre s'attarde sur les problématiques découlant du sujet de recherche, les hypothèses formulées ainsi que les différents objectifs à atteindre afin de vérifier les hypothèses. Les chapitres 3, 4 et 5 sont abordés sous la forme de manuscrits et décrivent les trois principales expériences avec des résultats et des discussions. Finalement, le chapitre 6 présente une conclusion générale, les implications et les perspectives proposées en lien avec les recherches menées pour cette thèse.

Plus spécifiquement, le troisième Chapitre intitulé “Effects of plants extracts and essential oils as feed supplements on quality and microbial traits of rabbit meat” est publié dans la revue *World Rabbit Science* (Koné et al., 2016; doi:10.4995/wrs.2016.3665). Il en sera de même pour le quatrième chapitre présenté dans cette thèse et intitulé “Synergistic effect of plant extracts and essential oils on microbiological quality of refrigerated rabbit meat”. Par contre, ce dernier n'a été révisé par aucun des co-auteurs pour le moment et constitue mon travail original. Pour ces deux chapitres, les auteurs sont les suivants : Amenan Prisca Nadège Koné, Dany Cinq-Mars, Yves Desjardins, Frédéric Guay, André Gosselin, et Linda Saucier. Mohamed Zied Abdelwahed est auteur seulement du quatrième chapitre de la thèse.

Le cinquième chapitre intitulé “Application of *Carnobacterium maltaromaticum* CB1 as a feed additive for weaned rabbits to improve meat microbial quality and safety (2016)” a été soumis à *Meat Science* avec pour auteurs : Amenan Prisca Nadège Koné, Velez-Zea Juliana Maria, Dominic Gagné, Dany Cinq-Mars, Frédéric Guay, et Linda Saucier. Il convient de mentionner aussi qu'en plus de la bourse d'excellence du ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique de Côte d'Ivoire (2013-2016), la candidate a obtenu quatre autres bourses pour ses travaux de recherches. La première étant la bourse d'excellence de l'enseignement et de la recherche - Germain Brisson qui lui a été accordé par l'Université Laval en 2013, et la seconde reçue en 2016, est la bourse commémorative Percy Gitelman,

parrainée conjointement par l'Association Scientifique canadienne de la Viande (ASCV) et Newly Weds Foods, Inc. La candidate a également reçu la bourse d'excellence au doctorat de la fondation INITIA en 2017 ainsi que le 1^{er} prix du concours d'affiche scientifique du lors du symposium de l'Association de Québécoise pour l'innocuité alimentaire, AQIA.

Introduction

Depuis la révolution industrielle survenue dans les pays industrialisés, la perception de l'alimentation a beaucoup évolué dans l'esprit du consommateur. Dans ces sociétés où les campagnes d'information nutritionnelles ont une place prépondérante, les consommateurs sont en quête du « Manger mieux, pour mieux vivre » (Combes, 2004) : on préconise des aliments riches en fibres, en acides gras oméga 3, et des aliments allégés en gras, etc. Ces consommateurs sont de plus en plus soucieux de leur santé et cette tendance à la recherche d'une alimentation saine s'accroîtra davantage au Canada compte tenu du vieillissement de la population : en 2031, 25 % des Canadiens auront plus de 65 ans selon les données de la Banque de développement du Canada (BDC, 2013).

La viande de lapin qui est une viande blanche, mérite une place de choix dans le cadre d'une alimentation saine, car elle possède des propriétés nutritionnelles et diététiques élevées. Comparativement aux autres viandes rouges, la viande de lapin a une faible teneur en calories et ses lipides sont fortement insaturés. Elle est riche en protéines (20-21%) avec des acides aminés de hautes valeurs biologiques et un faible taux de cholestérol (Dalle Zotte et Szendrő, 2011). La production de cette viande est particulièrement développée dans les pays méditerranéens de l'Union Européenne (UE). En Italie, sa consommation annuelle par habitant s'établissait à 4,2 kg en 2010 ; en France à 0,9 kg en 2013 ; au Canada à 25 g/habitant en 2014, et plus spécifiquement au Québec, elle est estimée à 40 grammes par habitant.

Au Canada, placée dans une industrie fortement concurrentielle, la viande de lapin demeure une production en émergence du fait que les viandes de bœuf, porc et volaille polarisent la majeure partie des investissements de l'industrie de la viande. De manière générale, elle est perçue comme un produit festif ou de spécialité « haut de gamme » et par conséquent sa consommation est soit occasionnelle (Noël, Pâques), soit le fait de certaines communautés dont la pratique culinaire est ancrée dans les us et coutumes. Pourtant les consommateurs dans leur quête du « Manger mieux, pour mieux vivre » devraient s'intéresser davantage à cette viande qui renferme de nombreux atouts nutritionnels et gustatifs.

En matière d'innocuité, Todd (2003) soutient que la viande demeure une préoccupation importante au niveau des toxi-infections alimentaires et en santé publique. En effet, selon un

rapport publié en 2013, l'Agence de santé publique du Canada (ASPC) a estimé à 4 millions de cas de maladie d'origine alimentaire ayant occasionné 3,7 milliards de dollars canadiens en coût annuel de soins pour l'année 2012. En comparaison aux États-Unis, on rapporte 47,8 millions de malades par an (Porter et al., 2013). Il ressort de ces constats que la viande est l'aliment le plus souvent incriminé dans les toxi-infections alimentaires, d'où l'intérêt des scientifiques à vouloir améliorer sa qualité par la maîtrise de la croissance des microorganismes.

Il est établi depuis longtemps, dans la communauté scientifique, que la croissance des microorganismes peut être traditionnellement contrôlée par différents procédés comme la cuisson, la stérilisation, la réfrigération, la congélation, etc. En plus de l'utilisation d'agents de conservation (à l'instar du nitrate et nitrite dans les viandes prêtes-à-manger) légalement autorisés dans des produits carnés au Canada. Toutefois, bien que ces procédés soient efficaces, les consommateurs exigent davantage des aliments plus naturels, avec de faibles niveaux d'additifs chimiques et d'agents antimicrobiens de synthèse (Brul et Coote, 1999).

Dans le cas spécifique de la viande de lapin, la teneur accrue en acides gras polyinsaturés accélère sa détérioration par oxydation en cours d'entreposage (Kanner, 1994), réduisant ainsi sa durée de vie de tablette (Wood et al., 2004). En plus de cette particularité de la viande de lapin, il faut noter l'émergence d'organismes pathogènes résistants aux différents systèmes antimicrobiens utilisés pour les contrôler. Ainsi, des solutions innovantes doivent être développées afin de sécuriser le développement du secteur cunicole. Cette innovation peut se matérialiser par le biais de l'utilisation d'alternatives nutritionnelles appropriées, incluant l'introduction de composés bioactifs tel que les composés phénoliques.

Selon la littérature (Oussalah et al., 2007; Zheng et Wang, 2001; Xu et al., 2008; Krishnan et al., 2014), les extraits de plantes et les huiles essentielles à partir d'épices, de plantes et d'herbes, riches en polyphénols, ont des activités antimicrobiennes et antioxydantes intéressantes (Botsoglou et al., 2002, Giannenas et al., 2003, Govaris et al., 2005). De par leurs propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques, ils exercent un effet majeur non seulement sur les caractéristiques organoleptiques des produits, mais aussi sur la conservation de ces produits, permettant ainsi d'allonger la durée de vie de tablette: c'est ce que soutiennent Sarni-Manchado et Cheynier (2006). Aussi, d'après les études d'Olaoye et

Ntuen (2011), le contrôle des organismes pathogènes et la conservation de la viande peuvent également être réalisés grâce à l'utilisation de bactéries lactiques (BAL) en tant que cultures compétitives ou protectrices pour inhiber la croissance d'espèces indésirables.

L'objectif de cette thèse s'inscrit donc dans cette logique d'innovation; c'est-à-dire élaborer des stratégies novatrices et efficaces pour améliorer l'innocuité et la conservation de la viande de lapin sans investissement majeur pour les producteurs.

Chapitre 1: Revue de littérature

1.1. L'industrie de la viande dans l'économie canadienne : un secteur d'activité en croissance et à forte valeur ajoutée

L'industrie de la viande au Canada est la plus grande industrie de transformation alimentaire et est l'un des secteurs manufacturiers les plus importants par ses ventes, dépassant 24,1 milliards de dollars (Canadian Meat Council, CMC, 2016). Selon une communication de Statistique Canada parue en 2011, l'industrie de la viande canadienne a réalisé des exportations de l'ordre 23,6 milliards de dollars. Ces exportations ont connu un accroissement substantiel comparativement aux données recueillies pour l'année 2009, où les chiffres de ventes de l'industrie de la viande et la volaille étaient de 21,3 milliards de dollars. Sur cette même période, les ventes des autres denrées de première nécessité présentaient des performances en dessous de celle de l'industrie de la viande: il s'agit des produits laitiers (13,2 milliards de dollars), des poissons et fruits de mer (3,5 milliards de dollars), des pains et boulangeries (6,1 milliards de dollars) et des fruits et légumes (7,4 milliards de dollars; CMC, 2012). Ces chiffres permettent de classer le Canada parmi les exportateurs nets de produits de viande.

Avec de telles données, on se rend compte de l'enjeu que représente la filière viande dans l'économie canadienne; toutefois, les pratiques d'élevage ne font pas l'unanimité du fait des enjeux liés à l'agriculture durable. Or, nous avons observé que la consommation en viande par habitant est restée constante ces 20 dernières années, mais avec une baisse de consommation de viande rouge au profit de la volaille. Cela est-il dû à l'adoption de saines habitudes de vie, particulièrement celui de « manger santé ».

Dans les deux cas, le nouvel enjeu de la filière serait de continuer à répondre à ces besoins, mais en orientant la production vers une activité plus durable à l'instar de la cuniculture (Aubert et al., 2009).

1.2. La cuniculture, une activité qui fait écho à l'agriculture durable

Selon les données statistiques de Pison (2015), la population mondiale devrait passer de 7,13 milliards d'habitants (2015) à 11 milliards d'habitants à la fin du XXIe siècle. Pour pouvoir

apporter à cette population la ration quotidienne en protéine animale, il faudra doubler la production mondiale actuelle de (Pison, 2015). Cette croissance de la population sera principalement ressentie dans les pays en voie de développement. S'en suivra alors un accroissement marquant de la population urbaine, une pression élevée sur les terres disponibles et des changements importants sur la composition des populations animales (Lebas et al., 1984). Cet état de fait aura pour conséquence immédiate la réaffectation d'une plus grande portion de terres à la production vivrière pour nourrir les populations croissantes, et donc il en résultera une pénurie en tant que ressources alimentaires pour le bétail (parcours naturels, pâturages, fourrages), comme cela est déjà le cas en Asie. De cette causalité, résulterait l'effet d'une famine si aucune alternative viable n'est trouvée (Lebas et al., 1984).

Or, d'après le dernier rapport sur l'insécurité alimentaire dans le monde publié par l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO, 2015), le Fonds pour le développement agricole (FIDA) et le Programme Alimentaire Mondial, estiment que 795 millions de personnes meurent déjà de faim ou de malnutrition, chaque année dans le monde. Il serait trivial de dire que pour accroître la production alimentaire et assurer une alimentation saine, diversifiée et équilibrée à la population, il faudra augmenter l'efficacité de l'utilisation des ressources naturelles et trouver des alternatives aux élevages nécessitant de vastes étendues de terres. Cette alternative pourrait être, notamment, la cuniculture : l'élevage de petites espèces animales prolifiques, à cycle de production très court (contrairement à la viande bovine qui est longue à produire), faciles à élever (FAO, 1996).

L'élevage de lapins peut contribuer à diversifier l'offre alimentaire, procurer un revenu dans les pays sous-développés, mais aussi, favoriser un véritable essor économique (FAO, 2010). Car en plus d'être une viande très nourrissante, l'investissement et la main d'œuvre nécessaire à ce type d'élevage sont peu élevés (Bergaoui et al., 2010). Facile à élever, le lapin s'adapte à différents types d'élevage (traditionnel, familial, industriel) ; la cuniculture est donc une activité simple et productive, présentant des perspectives prometteuses.

Aujourd'hui, presque tous les secteurs d'activités mettent l'accent sur le développement durable. Il faut rappeler que le développement durable repose sur trois piliers : l'économie, le social et l'environnement. Son objectif est de « répondre aux besoins du présent sans

compromettre la capacité des générations futures de satisfaire les leurs » selon le rapport Brundtland (1987). La cuniculture pourrait donc être qualifiée de durable car :

- Elle est rentable (la lapine très prolifique et a une gestation de courte durée 31 à 32 jours), de plus leur pelage peut être utilisé pour en faire de la fourrure.
- Au plan environnemental, le lapin ne fait pas de bruit et le fumier peut servir à engraisser les cultures maraîchères.
- Au plan social, elle peut être une source de revenus (comme les poils des lapins angoras) pour beaucoup de personnes tant dans les pays industrialisés que dans les pays en voie de développement. Il va sans dire qu'élever des lapins n'est pas la façon de s'enrichir rapidement. Néanmoins, les efforts et l'investissement consacrés seront récompensés par de la viande saine et nutritive.

1.3. La viande de lapin : une viande aux caractéristiques inégales

1.3.1. Évolution de la production cunicole

La production de viande de lapin est très développée dans les pays méditerranéens de l'Union Européenne (UE); sa consommation est dans une large mesure dépendante des raisons culturelles, traditionnelles et religieuses (Dalle Zotte, 2002). D'après les données de Statistique Canada, de 2009 à 2013, la production de lapins a subi une augmentation de 8 %, essentiellement due à l'essor de la production chinoise. La majeure partie de cette production mondiale de lapins se concentre sur deux continents : l'Asie et l'Europe avec le continent asiatique identifié comme étant la première zone productrice avec près de la moitié de la production mondiale (Tableau 1.1).

Tableau 1.1. Production mondiale de lapins (milliers de lapins abattus)

	2009	2010	2011	2012	2013
Monde	1 083 650	1 130 003	1 159 673	1 174 763	1 171 578
Asie	539 423	571 882	596 000	599 322	596 340
Europe	326 249	333 593	337 555	342 824	341 755
Amérique	148 586	152 738	152 780	158 707	158 713

FAOSTAT, Canada : Statistique Canada (données d'abattage). Tiré de Cliche (2015).

Selon les données du tableau 1.2, la production de viande de lapin est concentrée dans un petit nombre de pays : Chine, Corée du Nord, Venezuela, Italie, Espagne, France et Égypte. Ainsi, la production du Canada est fort modeste comparé à celles des autres pays cités ici. La production canadienne après une baisse en 2010 et en 2011 a connu une nette croissance depuis 2012 grâce aux au Québec et à l'Ontario qui sont les principales provinces productrices de lapins (Cliche, 2015).

Tableau 1.2. Pays producteurs de lapins (milliers de lapins abattus)

	2009	2010	2011	2012	2013
Chine	432 814	464 525	474 704	478 000	475 000
Italie ^F	165 000	169 700	170 000	175 000	175 000
Venezuela ^F	130 000	134 000	134 000	140 000	140 000
Corée du Nord ^F	103 000	103 000	115 000	115 000	115 000
Espagne	51 330	52 633	52 668	53 411	52 470
Égypte	45 407	46 235	46 948	47 335	48 000
France	36 757	35 752	38 943	37 233	36 585
Canada	640	633	623	643	582

F = estimation de la FAO.FAOSTAT, Canada : Statistique Canada (données d'abattage). Tiré de Cliche (2015).

La consommation mondiale de viande de lapin est estimée à 0,331 kg par habitant par an (Gidenne, 2006) et demeure modeste comparativement à la viande de bœuf (6,4 kg), porc (12,5 kg) et poulet (13,5 kg; OECD, 2015). D’après l’étude de Cliche (2015), une telle inégalité est due au fait que, le lapin est peut-être perçu par certains comme un animal de compagnie rendant son acceptabilité comme viande ou aliment difficile, en plus d’être beaucoup plus dispendieuse comparativement aux autres viandes. Toujours selon le même auteur, le lapin fait partie des variétés de viandes de spécialité que les consommateurs cherchent à découvrir. À savoir le bison, l’autruche, le cheval, le caribou, la pintade, le faisan, l’oie, la viande de venaison (biche, chevreuil, sanglier, etc.), le wapiti, l’élan, l’orignal, le lièvre, le sanglier, la caille, la perdrix, le kangourou, etc. Tous ces choix augmentent la concurrence pour le lapin.

Au Canada, la consommation de viande de lapin est modeste avec 0,025 kg par personne (Tableau 1.3). Il convient de remarquer qu’il s’agit d’un ratio très faible eu égard aux atouts de cette viande et des attentes en matière de qualités (ceux liés à la santé) suggérées par les nutritionnistes (Dalle Zotte et Szendrő, 2011). Toutefois, depuis 2010 la consommation canadienne suit une augmentation croissante avec certaines fluctuations saisonnières, notamment une baisse de la demande en été et des hausses à Noël, à Pâques et à l’Action de grâce.

Tableau 1.3. Consommation de viande par habitant au Canada (kg – équivalent poids abattu)

Année	Poulet et Poule	Bœuf	Porc	Dindon	Mouton et agneau	Veau	Lapin
2010	32,94	27,88	22,06	4,30	1,09	1,08	0,023
2011	32,62	27,26	21,50	4,30	1,10	1,03	0,024
2012	33,02	27,60	22,30	4,20	0,96	0,97	0,024
2013	33,00	27,34	20,88	4,20	1,01	0,93	0,025
2014	33,39	26,48	20,63	4,10	1,13	0,95	0,025

Source : Agriculture et Agroalimentaire Canada - Section de la viande rouge et Statistique Canada, CANSIM, tableau 002-0011. Tiré de Cliche (2015).

On s’entend à ce que la tendance santé soit de plus en plus prisé dans les choix alimentaires. La demande pour les viandes blanches (volaille, porc, lapin) est en nette progression par rapport aux viandes rouges, dont on recommande une consommation modérée pour le maintien d’une bonne santé (Bouvard et al., 2015). Au Canada, la progression des viandes de spécialités (agneau, lapin, canard, etc.) peut s’expliquer par l’accroissement de la

population immigrante, le désir d'une alimentation variée par les Canadiens et l'introduction d'aliments exotiques (Cliche, 2015). Toutefois, cette demande n'est pas tout à fait comblée par le secteur cunicole québécois, qui perd ainsi des parts de marché au Canada au profit de l'Ontario et des importations internationales. Pour pallier à ce manque et répondre aux demandes de la population, le Canada importe principalement de la France, l'un des plus grands pays producteurs et consommateurs. Car selon Lalancette (2016), la France possède les techniques d'élevage, la génétique et le niveau de recherche les plus avancés, et ce, même si la Chine est le grand producteur. Le secteur cunicole doit faire face à certains défis de taille. Depuis 2014, le Québec n'a plus de ligne d'abattage de lapins sous agrément fédéral (inspection réalisée par l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA)). Les producteurs ont donc deux choix : soit faire abattre une partie de la production québécoise en Ontario, plus précisément chez Flintshire Farms Inc. à Flinton, afin de commercialiser des produits de viande à l'échelle interprovinciale et internationale. L'autre option est de faire abattre dans les établissements sous inspection de compétence provinciale, mais dans ce cas, la commercialisation de la viande devra rester à l'intérieur du Québec. Aujourd'hui, avec l'absence d'une ligne d'abattages sous inspection fédérale et le faible nombre d'abattoirs au Québec, la filière cunicole est fragilisée et dépend de l'Ontario pour faire abattre ses lapins, ce qui engendre des coûts supplémentaires de transport notamment (Cliche, 2015). Une autre problématique qui fragilise le secteur cunicole est l'absence de médicaments homologués pour la production cunicole; ainsi les traitements vétérinaires se font hors homologation. Néanmoins, un projet de recherche sur l'utilisation de médicaments dans la production de lapins a été approuvé par l'ACIA afin de remédier à la situation.

Dans une société où les gens ont tendance à exercer, un minimum contrôle sur la consommation de gras, la viande de lapin a sa place dans les tendances alimentaires actuelles et la filière doit augmenter l'intérêt des consommateurs envers cette viande en relevant le défi que pose l'approvisionnement régulier pendant des périodes précises de l'année (le temps des fêtes ou à Pâques). Il est donc essentiel que la recherche soit en mesure de soutenir le Syndicat des producteurs de lapins qui a d'ailleurs identifié la qualité de la carcasse et de la viande comme une priorité.

1.3.2. Caractéristiques nutritionnelles de la viande de lapin

La viande, en général, est constituée principalement d'eau, de protéines et de lipides. C'est une source importante de micronutriments comme les minéraux et les vitamines nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme (Combes et Dalle Zotte, 2005). Cependant, il convient de noter que les caractéristiques nutritionnelles de la viande de lapin tout comme celle des autres animaux monogastriques sont influencées par la nature des matières grasses contenue dans leur alimentation. La viande de lapin a la plus faible valeur calorique comparativement aux autres viandes (Tableau 1.4), mais selon Dalle Zotte et Szendrő (2011), cette valeur dépend principalement de la teneur élevée en protéines, ce qui représente 80% de la valeur énergétique. Le lapin est la viande la moins grasse comparativement à celle de porc (14,95g/100g), de bœuf (10,43g/100g), de poulet (10,43g/100g) et d'agneau (16,15g/100g), mais elle est comparable à celle du veau (6,77g/100g). Par ailleurs, la teneur en eau de la viande varie peu d'une espèce à une autre.

Tableau 1.4. La composition chimique (g) et la valeur énergétique (Kj) de la viande selon les différentes espèces (pour 100 g de viande crue)

	Porc	Bœuf	Veau	Poulet	Lapin	Agneau
Lipides totaux	14,95	10,43	6,77	15,97	5,55	16,15
Eau ^a	60-75,3	66,3-71,5	70,1-76,9	67-75,3	66,2-75,3	-
Énergie (kj)	904	774	603	929	569	933
Protéines	18,95	20,71	19,35	18,33	20,05	18,04

Adapté du Fichier canadien sur les éléments nutritifs, 2010. Les chiffres ont été arrondis.

^aDonnées tirée de Salvini et al. (1998) pour 100g de fraction comestible. Le tiret indique que la valeur est manquante.

1.3.2.1. La fraction lipidique

Le lapin est une viande blanche qui se classe parmi les viandes les plus pauvres en cholestérol comparativement aux viandes rouges comme le porc (38,1 mg/100 g) ; bœuf (45,2 mg/100 g) et le veau (45,7 mg/100 g ; Tableau 1.5). C'est un point favorable pour la viande de lapin et une alternative intéressante pour ceux qui souffrent d'athérosclérose. Aussi, les lipides de la viande contiennent habituellement moins de 50% d'acides gras saturés AGS, (bœuf 45,2%, la viande de porc 38,1%, le veau 45,7%, poulet 32,7%, le lapin 38,9 %) et d'acides gras insaturés (mono et polyinsaturés AGPIs ; Tableau 1.5).

Tableau 1.5. Teneur des différents types d'acides gras (% des AG totaux) et la teneur en cholestérol (mg/100 g) du *Longissimus dorsi* (poitrine chez le poulet)

	Porc	Bœuf	Veau	Poulet	Lapin
	Moy ± σ	Moy ± σ	Moy ± σ	Moy ± σ	Moy ± σ
AGS	38,1 ± 2,50	45,2 ± 3,80	45,7 ± 5,40	32,7 ± 4,90	38,9 ± 4,40
AGMI	46,7 ± 6,10	43,5 ± 5,40	39,8 ± 5,50	35,4 ± 9,90	28,0 ± 4,10
AGPIs	13,8 ± 6,90	8,79 ± 3,83	13,3 ± 7,80	27,4 ± 7,30	32,5 ± 6,10
EPA 20:5, n-3	0,14 ± 0,15	0,25 ± 0,23	0,41 ± 0,40	0,13 ± 0,06	0,15 ± 0,12
DHA 22:6, n-3	0,15 ± 0,17	0,07 ± 0,08	0,16 ± 0,10	1,01 ± 0,93	0,31 ± 0,31
Oméga 6 (n-6)	14,3 ± 6,20	7,55 ± 3,61	9,07 ± 6,10	26,2 ± 7,00	24,1 ± 5,60
Oméga 3 (n-3)	0,72 ± 0,23	1,43 ± 0,92	2,14 ± 0,97	1,99 ± 1,05	5,50 ± 4,66
n-6/n-3	21,9 ± 16,6	8,90 ± 7,30	6,61 ± 6,09	15,8 ± 5,40	7,02 ± 3,62
Cholestérol	62,7 ± 22,4	48,7 ± 8,10	52,3 ± 5,80	55,3 ± 4,60	47,0 ± 7,90

Tiré de Dalle Zotte et Szendrö (2011), σ correspond à l'écart-type.

Les acides gras (AG) sont des composés lipidiques qui peuvent être saturés, mono-insaturés ou polyinsaturés. Bien qu'elle soit légèrement supérieure pour le lapin à la quantité retrouvée dans le poulet (32,7%), les acides gras saturés (AGS) sont nettement inférieurs à ceux présents dans les viandes rouges : bœuf (45,2 %) et veau (45,7 %). C'est dans la composition en AGPIs que le lapin se distingue le plus des autres espèces avec 32,5% du total d'acides gras en comparaison au pourcentage retrouvé dans les viandes rouges. La forte teneur en AGPIs de la viande de lapin fait presque quatre fois la teneur du bœuf. Par ailleurs, parmi les AGPIs, la viande de lapin montre un ratio oméga 6/oméga 3 égal à 7,2 (Tableau 5), plus faible que celui du porc, bœuf et poulet, et comparable à celui du veau. En effet, selon la Dalle Zotte et Szendrö (2011), la dose recommandée en AGPIs dans une alimentation quotidienne saine est comprise entre 5-10 (le ratio n-6/n-3) ; mais d'après Simopoulos (2002) un rapport inférieur est plus souhaitable pour réduire le risque de maladies chroniques. En France, l'*Apport nutritionnel conseillé (ANC)* préconise un rapport (n-6 /n-3) de 5 dans l'étude de Combes et Cauquil (2006).

Deux AGPIs sont principalement présents dans la viande de lapin soit les oméga-6 (acides linoléique et arachidonique) et ceux appartenant à la famille des oméga-3 : acide alpha linoléique principalement éicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA). Les acides linoléiques et α -linoléiques sont dits *essentiels*, car l'organisme humain ne peut les synthétiser (Combes, 2004). Les gras polyinsaturés sont beaucoup dans l'alimentation pour

leurs multiples effets bénéfiques sur la santé tels que l'amélioration du taux de cholestérol et la réduction du risque des maladies cardiovasculaires (Hu et Willett, 2002). D'ailleurs, l'étude de Fedrigo et al. (1999) a démontré que les lipides de la viande de lapin présentent une quantité d'acides gras capables de diminuer le cholestérol sanguin deux fois plus importante que celle des acides gras augmentant le cholestérol sanguin (c'est un effet hypocholestérolémiant).

1.3.2.2. La fraction minérale et vitaminique

La composition minérale d'une viande diffère selon chaque espèce. Celle de la viande de lapin est caractérisée par un faible taux de sodium (Na), calcium (Ca) tandis que le niveau de potassium et de phosphore sont élevés comparativement aux autres viandes (Tableau 6). Sa teneur en sodium est très basse, 37 mg/100g de fraction comestible, la rend particulièrement appropriée dans un régime alimentaire hyposodé (recommandé contre l'hypertension). Le phosphore est le deuxième minéral le plus abondant dans les viandes, et dans celle du lapin avec 222-230 mg/100g de fraction comestible. En comparaison, le poulet, le veau, le porc et le bœuf ont des teneurs en phosphore inférieures (180-200 mg/100g, 170-214 mg/100g, 158-223 mg/100g et 168-175 mg/100g, respectivement).

Aussi, il convient de noter que la viande et le poisson représentent la principale source de fer hémique (fer facilement absorbable par l'organisme) en comparaison aux produits à base de plantes. Par exemple, les viandes rouges comme le bœuf, l'agneau et le mouton contiennent 1,8-2,3 mg/100g, 2,0-4,5 mg/100g, 3,3-3,9 mg/100g, respectivement, et sont parmi les sources les plus riches en fer (Williams, 2007). En ce qui concerne le profil vitaminique de la viande de lapin, il est proche de celui du poulet comme le montre le tableau 1.6. Par ailleurs, la viande de porc se distingue par sa teneur très élevée en thiamine B1 : 0,38-1,12 mg/100g. Mais la teneur la plus forte en acide folique est observée dans la viande bovine avec 5-24 µg/100g de fraction comestible. Rappelons que l'acide folique, ou vitamine B9, joue un rôle important dans la croissance cellulaire surtout chez la femme enceinte. Quant à la vitamine A, elle est présente sous forme de trace tant dans la viande de lapin que dans celle des autres espèces. Toutefois, même si le niveau de sélénium chez les animaux dépend de leur alimentation, la viande de lapin est une bonne source de sélénium, un minéral avec une activité antioxydante recherchée.

Tableau 1.6. Composition en minéraux et en vitamines (mg) des différentes viandes (pour 100 g de fraction comestible)

	Porc	Boeuf	Veau	Poulet	Lapin ¹
Ca	7-8	10-11	9-14	11-19	2,7-9,3
P	158-223	168-175	170-214	180-200	222-230
K	300-370	330-360	260-360	260-330	428-431
Na	59-76	51-89	83-89	60-89	37-47
Fe assimilable	1,4-1,7	1,8-2,3	0,8-2,3	0,6-2,0	1,1-1,3
Vitamine B1	0,38-1,12	0,07-0,10	0,06-0,15	0,06-0,12	0,18
Vitamine B2	0,10-0,18	0,11-0,24	0,14-0,26	0,12-0,22	0,09-0,12
Vitamine PP	4,0-4,8	4,2-5,3	5,9-6,3	4,7-13,0	3,0-4,0
Vitamine B6	0,50-0,62	0,37-0,55	0,49-0,65	0,23-0,51	0,43-0,59
Acide Folique (µg)	1	5-24	14-23	8-14	10
Vitamine E	0-0,11	0,09-0,20	0,17-0,26	0,13-0,17	0,01-0,40
Vitamine D (µg)	0,5-0,9	0,5-0,8	1,2-1,3	0,2-0,6	Trace

¹Parigi Bini et al. (1992)

Traduit de Combes et Dalle Zotte (2005) et Dalle Zotte (2000)

1.3.2.3. Les acides aminés essentiels

Neuf acides aminés sont indispensables pour l'organisme, car ce dernier ne peut les synthétiser. Ainsi, lorsqu'apporté par l'alimentation, il couvre les besoins nécessaires à la croissance des protéines corporelles. Les protéines sont composées d'une ou de plusieurs chaînes d'acides aminés (AA) et Dalle Zotte (2000) a observé que la composition en acides aminés essentiels (AAE) varie entre espèces, selon les régions anatomiques et aussi au sein d'une même espèce. Le lapin contient chacun des neuf acides aminés indispensables au bon fonctionnement de l'organisme et en quantité plus ou moins supérieure à celle des viandes rouges. Ce contenu en AAE élevée et équilibrée donne à la viande de lapin des protéines de hautes valeurs biologiques (Tableau 1.7).

Tableau 1.7. Composition en acides aminés essentiels de différentes viandes (g/100 de fraction comestible)

	Porc	Veau et taurillon	Poulet	Lapin
Lysine	1,29	1,69	1,66	1,85
Méth-Cyst.	0,6	0,74	0,77	1,1
Histidine	0,49	0,59	0,52	0,53
Thréonine	0,74	0,85	0,85	1,16
Valine	0,81	1,02	0,89	0,99
Isoleucine	0,77	0,93	0,92	0,99
Leucine	1,2	1,57	1,6	1,81
Arginine	0,97	1,23	1,22	1,23
Tyrosine	0,54	0,68	0,66	0,73
Phénylalanine	0,63	0,8	0,73	1,03
Tryptophane	0,2	0,22	0,21	0,21

Tiré de Combes et Dalle Zotte (2005)

En plus de son profil en acides aminés indispensables, bien équilibré et assez voisin de celui des besoins de l'homme (Martin, 2001), sa faible teneur en élastine et la grande solubilité de son collagène (75,3 %), qualifie la viande de lapin de très digestible et de très tendre comparativement aux autres viandes (Tableau 1.8 ; Dalle Zotte, 2000).

Tableau 1.8. Teneurs (mg/g muscle sec) et solubilités (%) du collagène de différentes viandes

	Collagène total	Références	Solubilité du collagène	Références
Porc (<i>L. Lumbarum</i>)	17	Lebret et al., 1998	17	Lebret et al., 1998
Taurillon (<i>L. dorsi</i>)	15-21	Bosselmann et al., 1995	11-12	Eastridge et al., 2002
Poulet (<i>Pectoralis</i>)	20	Culioli et al., 1995	21,8	Murphy et al., 2000
Lapin (<i>L. Lumbarum</i>)	16,4	Combes et al., 2003	75,3	Combes et al., 2003

Dalle Zotte (2004)

1.3.2.4. Les fibres musculaires

Chez le lapin, il y a deux muscles glycolytiques (*Longissimus lumbarum* et *Psoas major*), deux plus oxydatifs (le *semimembraneux proprius* et le *soleus*) et une intermédiaire (*Gastrocnémien latérale* ; Alasnier et al., 1996). Dalle Zotte (2000) a démontré que le *Longissimus lumbarum* est le plus glycolytique avec un pHu égal à 5,5 et le *soleus*, le plus oxydatif avec un pHu égal à 6,4. Cependant, en règle générale, les muscles les plus oxydatifs sont situés en l'avant de la carcasse, les moins oxydatifs sont ceux de la cuisse et du râble selon Ouhayoun et Delmas (1988).

1.4. Les maladies d'origine alimentaires : une préoccupation de premier plan en santé publique

D'après la FAO et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS;2002), les maladies dues à une contamination microbiologique des aliments sont un problème de santé publique important qui ne cesse de prendre de l'ampleur. De plus, selon la Commission du Codex Alimentarius (CAC, 2005), la viande est traditionnellement considérée comme un vecteur de transmission de maladies. Par définition, une maladie d'origine alimentaire est une maladie qui se déclare à la suite de la consommation d'aliments contaminés par des microorganismes pathogènes tels que les bactéries (majoritairement), les virus, parasites, les toxines ou des substances chimiques qui pénètrent dans l'organisme par le biais d'aliments ou d'eau contaminés. Ces maladies peuvent toucher tout le monde. Toutefois, les jeunes enfants, les femmes enceintes, les personnes âgées et ceux dont le système immunitaire est affaibli sont les plus à risque. Selon les données de l'OMS (2016), près d'un tiers des décès (125 000) dus aux maladies d'origines alimentaires surviennent chez les enfants de moins de 5 ans.

Depuis plusieurs décennies, l'occurrence des maladies dues à des microorganismes présents dans les aliments (FAO et OMS, 2002) ne cesse de s'accroître en dépit des progrès scientifiques et techniques dans le domaine de l'agroalimentaire. En effet, le traitement des maladies d'origine alimentaire en 2012 au Canada avoisinait les 3,7 milliards de dollars canadiens (ACIA, 2013). Tandis qu'aux États-Unis, il occasionne un coût de l'ordre de 150 millions de dollars par an (Porter et al., 2013). Selon le même auteur, en plus d'induire de graves conséquences sanitaires, politiques et économiques, 2 à 3 % des cas de toxi-infections alimentaires peuvent causer des problèmes de santé chroniques. L'impact de ces conséquences est donc multiple, car on observe, par exemple, des morbidités et des décès (310 000 à 600 000 décès en 2010 ; OMS, 2015), l'accroissement des coûts de santé, la perte de la confiance des consommateurs, des pertes économiques et la baisse de la productivité industrielle (ASPC, 2013). Selon l'OMS (2015), *Salmonella*, *Campylobacter* et *Escherichia coli* entérohémorragiques ainsi que les infections à *Listeria* figurent parmi les agents pathogènes d'origine alimentaire les plus courants qui touchent des millions de personnes chaque année. Au Canada, l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC) estime que 4 millions d'épisodes de maladies d'origine alimentaire acquises se produisent chaque année et

que *Campylobacter*, *Salmonella*, et les virus, comme le *norovirus*, sont les causes les plus fréquemment signalées d'éclotions d'origine alimentaire (Thomas et al., 2013).

Au Québec, la denrée la plus sujette aux déclarations de toxi-infections alimentaires reste les produits carnés (Panisset et al., 2003) avec un taux de 32,1 % pour le groupe alimentaire « Viandes et volailles » selon le rapport de Cliche (2015). La plupart des aliments mis en cause par les 1 445 déclarations avaient été consommés dans des restaurants ou livrés par ces derniers (62,7 %), ou avaient été achetés chez des détaillants (32,3 %).

1.4.1. L'innocuité des aliments dans un monde en mutation

De la production à la consommation, les aliments sont confrontés à de nombreuses possibilités de contamination. La liste des agents microbiens pathogènes potentiels d'origine alimentaire ne cesse de s'allonger et selon l'OMS (2015) et Van De Venter (2000) plusieurs facteurs jouent un rôle important dans l'apparition des problèmes liés aux aliments, notamment :

- ✓ La résistance des agents pathogènes : l'adaptation microbienne est un processus clé dans l'émergence des agents pathogènes. L'utilisation abusive des antibiotiques et produits antimicrobiens dans les populations humaines ou animales crée une pression de sélection qui favorise la survie de souches bactériennes résistantes à l'agent.
- ✓ Les habitudes alimentaires et la mondialisation : les consommateurs sont friands de la restauration rapide et des plats préparés dans les lieux publics incitant l'industrie agroalimentaire à diversifier l'offre associée à leurs produits. La chaîne alimentaire est devenue plus longue et plus complexe, augmentant ainsi les possibilités de contamination. De plus en plus, les aliments sont produits à grande échelle et distribués sur de grandes distances, rendant les procédures de rappels plus complexes et plus difficiles à coordonner efficacement.
- ✓ La libération des échanges (commerces des aliments, des animaux) a fort probablement conduit à une plus grande dispersion de la contamination environnementale (introduction d'animaux malades par exemple).

- ✓ L'industrialisation de l'agriculture : la population mondiale ne cesse de s'accroître et les industries agroalimentaires doivent satisfaire une demande alimentaire croissante en tenant compte à la fois des opportunités et des défis pour l'innocuité des aliments.
- ✓ Les changements climatiques : ils ont aussi leur part de responsabilité. En effet, les changements de température modulent les risques liés à la production, à l'entreposage et à la distribution des denrées alimentaires.

1.4.2. *Listeria monocytogenes* : un défi permanent pour l'industrie alimentaire

La bactérie *Listeria monocytogenes* est l'une des six espèces du genre *Listeria* qui cause la listériose chez les humains. En effet, dans plusieurs états américains en 1999, des produits de viande et de volaille prêt-à-manger ont été à l'origine d'une éclosion de listériose, qui s'est soldée par 101 cas et 21 décès. Au Canada (à North York, Ontario) en août 2008, la listériose a causé 57 cas de toxi-infections alimentaires (surtout en Ontario) et 22 décès (en majorité des personnes âgées plus susceptibles d'être malade; Wheathrill, 2009). Tous les types de denrées peuvent être contaminés, mais comme en témoignent les éclosions récentes, ce sont les produits carnés prêt-à-manger (RTE) qui sont les plus sujets à la contamination avec *Listeria* parce que celle-ci se fait au moment du tranchage de la viande, la cuisson étant efficace pour la contrôler. La majorité des cas humains de listériose surviennent chez des individus qui sont immunodéprimés, par exemple les sidéens, les patients atteints de cancer, de diabète, les personnes âgées, les femmes enceintes, les nourrissons, etc. Cette infection chez les femmes enceintes est particulièrement préoccupante, car elle peut provoquer des fausses couches. Souvent, la mère ne développe que des symptômes grippaux, mais le microorganisme est capable de passer à travers la barrière transplacentaire et infecter le fœtus (c'est la listériose périnatale) : des fausses couches, une mortinaissance ou une listériose néonatale (infection chez un nouveau-né) peuvent alors se produire.

L. monocytogenes est une bactérie pathogène alimentaire très préoccupante, omniprésente dans l'environnement, pouvant croître dans des conditions microaérophiles et se développer à des températures froides, c'est-à-dire entre 0° et 10°C (incluant donc la température du réfrigérateur). Par ailleurs, Gill et Reichel (1989) ont démontré que *L. monocytogenes* peut également se développer dans des viandes emballées sous vide et entreposées entre 0 -10°C.

Les éclosions de *L. monocytogenes* ont été causées par la contamination des produits après l'étape de tranchage (comme les charcuteries). Ainsi donc, *L. monocytogenes* pose une menace réelle en tant que contaminant post-traitement/cuisson dans les produits de viande prêt-à-manger.

Il existe plusieurs étapes d'intervention dans l'industrie alimentaire pour lutter contre cette bactérie pathogène. L'utilisation d'agents de conservation chimiques, comme le lactate de sodium et le diacétate, peut réduire la croissance de *L. monocytogenes* (Santé Canada, 2010). L'utilisation de bactéries lactiques et de leurs bactériocines a été approuvée pour un usage commercial pour la prévention de la croissance et de la survie de *L. monocytogenes* dans les viandes RTE comme Micocin® (*Carnobacterium maltaromaticum*). Ce point sera discuté plus loin dans cette revue de littérature.

1.5. La qualité de la viande : en constante évolution

La qualité de la viande est en constante évolution et le consommateur veut être sûr de sa salubrité. Selon Lebret et al. (1996), le terme qualité de la viande regroupe généralement quatre composantes, qui sont les qualités, organoleptiques, chimiques, nutritionnelles et microbiologiques. Hoffman (1994) a décrit la qualité de la viande comme étant la somme de tous les facteurs de qualité en termes de propriétés sensorielles, nutritionnelles, hygiéniques et toxicologiques. En revanche, pour le consommateur, la qualité d'une viande se traduit par sa couleur, sa tendreté, sa jutosité et sa saveur. De plus, selon Faucitano et Geversink (2008), elle est aussi en lien avec le stress pré-abattage et de son effet sur le métabolisme énergétique musculaire.

1.5.1. Le pH

Le pH de la viande est une mesure de l'acidification du muscle par la production d'acide lactique *post mortem* par la voie de la glycolyse en absence de respiration et de circulation. Il est utilisé pour évaluer la qualité de la viande et sa durée de conservation (Korkeala et al., 1986). Selon les études d'Hocquette et al. (2000), le pH *post mortem* influence la couleur, la capacité de rétention d'eau, la jutosité et surtout la tendreté de la viande selon l'amplitude et sa vitesse de chute.

Généralement, le pH du muscle est mesuré une heure (pH1) et 24 heures (pH ultime, pHu) *post mortem*. Ce dernier est qualifié d'ultime, car il ne change pratiquement plus par la suite. Au moment de la mort, le pH du muscle est de 7,0-7,2, mais lors de la transformation du muscle en viande et de la conversion du glucose, glycogène, etc. en acide lactique un pH ultime de 5,5-5,7 chez le porc pour la viande « normale ». Des différences considérables de pH peuvent s'observer entre différents muscles d'une même carcasse. Par exemple, chez le lapin, le pHu du *Longissimus dorsi* est beaucoup plus faible comparativement à celui du *Biceps femoris* qui est fonction de son faible potentiel glycolytique (Hulot et Ouhayoun, 1999).

Toutefois, quand les animaux sont stressés avant l'abattage (ex. : absence de repos après le transport) l'activité métabolique des muscles est accélérée et les réserves musculaires s'épuisent et forment de l'acide lactique rapidement alors que la température du muscle est

encore haute, ce qui a pour effet de dénaturer les protéines qui ne sont alors plus capables de retenir l'eau, ce qui donne une viande pâle, molle et exsudative (PSE; figure 1.1; Shannon et Schaefer, 1999).

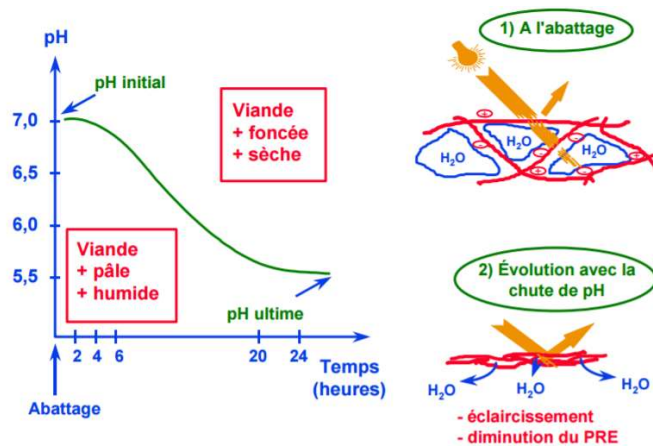


Figure 1.1. Évolution du pH musculaire après l'abattage, couleur et pouvoir de rétention d'eau (PRE : pouvoir de rétention d'eau; Interbev, 2006). La figure illustre la chute du pH qui survient durant les heures *post mortem*.

Le porc a traditionnellement été classé en trois catégories de qualité selon les mesures de couleur, fermeté et perte en eau: PSE (pâle, douce, exsudative), RFN (rose rougeâtre, ferme, non exsudative, porc normal) et DFD (sombre, ferme, sèche). Au cours des dernières années, deux autres catégories de qualité se sont ajoutées en tenant compte de la variation de la couleur ou de l'exsudat, pâle, molle et non exsudative (PFN) et rose-rougeâtre, molle et exsudative (RSE). Au Canada, les classes de qualité de la viande PFN et RSE ont récemment été signalées comme des défauts de qualité majeurs et le plus rencontré chez le porc. Elles représentent plus de 13 à 47% des défauts de qualité de la viande comparativement avec la viande PSE (13 à 21%) et DFD (2 à 10% ; Murray, 2001; Faucitano et al., 2010).

À l'inverse, si le pH demeure élevé parce que les réserves musculaires sont épuisées (ex. transport trop long), la viande sera foncée et elle conservera son eau ce qui lui donnera une apparence sèche et ferme (DFD). Puisque ce type de viande a un fort pouvoir de rétention d'eau, car la lumière peut pénétrer plus profondément et est ainsi moins réfléchi vers l'observateur (Figure 1.1), ce qui engendre une couleur plus foncée. Cette condition est observée chez la viande de porc, de bœuf, de mouton et de veau (James et James, 2002) ainsi

que de celle du lapin selon les études menées par Jolley (1990), Nakyinsige et al. (2014, 2015) et Rodríguez-Calleja et al. (2004). En raison de son pH élevé, ce type de viande DFD favorise la croissance des microorganismes, car plus proche de la neutralité, avec le développement d'odeur putride à un stade précoce, compromettant ainsi la conservation des produits découpés et préemballés (Dalle Zotte, 2002). Au tableau 1.9, les viandes associées à des défauts dus à des valeurs de pHu anormalement faibles ou élevées sont décrites : chez le porc (5,7), le taurillon (5,6), le poulet (5,5 à 5,7), lapin (5,7 à 5,9) ; Tableau 1.9). La viande DFD peut être présente dans toutes les espèces, mais elle est plus commune dans le bœuf.

Tableau 1.9. pHu, couleur, fermeté et pertes à la cuisson de la viande (valeurs moyennes du muscle *Longissimus dorsi* et *Pectoralis major* chez le poulet) tirés de Dalle Zotte (2000)

	Porc	Veau	Poulet	Taurillon	Lapin
pHu	5,5-5,7	5,5 - 5,6	5,6 - 5,7	5,6	5,7 - 5,9
Couleur					
L*	48 - 52	54 - 55	51 - 53	41 - 44	56 - 60
a*	08 - 11	11 - 12	1,3 - 2,5	20 - 21	2,6 - 3,4
b*	5	8,5 - 9,4	13 - 14	11	4 - 5
Perte de poids à la cuisson (%)	29 - 35	29 - 31	20 - 21	27 - 32	20 - 22

L* : luminance ; a* : indice du rouge et b* : indice du jaune varient entre -60 (respectivement vert et bleu) et +60 (respectivement rouge et jaune).

Tiré de Dalle Zotte (2000)

1.5.2. La couleur

La couleur est l'un des principaux critères de qualité des produits agroalimentaires, car elle influence le choix du consommateur et est affectée par le pHu de la viande. En effet, les viandes à pHu élevé absorbent beaucoup de lumière et ont une couleur sombre, alors qu'un pH ultime bas entraîne une faible pénétration de la lumière dans le muscle. Donnant ainsi une viande plus claire, une diminution du pouvoir de rétention d'eau du muscle et donc, des pertes importantes d'exsudat se produisant lors de la conservation de la viande (Interbey, 2006). Il est donc important que la couleur de la viande soit stable, car c'est un facteur déterminant dans l'acte d'achat du consommateur. Cette dernière recherche une couleur rosée ni trop claire, ni trop foncée et, surtout, homogène (Lebret et al., 1996).

La stabilité de la couleur dépend de la quantité de myoglobine (pigment dont le rôle est de transporter l'oxygène à l'intérieur de la cellule musculaire), des états chimiques (forme oxydée, réduite, oxygénée) et des vitesses relatives d'oxydation du pigment (Lebret et al., 1996). En effet, la myoglobine est présente dans le muscle sous trois formes principales : la

désoxymyoglobine (Mb2 +, forme réduite), l'oxymyoglobine (OMb2 +, forme oxygénée) et la metmyoglobine (MMb3 +, la forme oxydée), chacune donnant une couleur différente à la viande (Stewart et al., 1965).

Elle est ainsi fonction de son degré d'exposition à l'oxygène. Par exemple, la surface d'une viande fraîchement coupée est rouge vif (OMb2 +), car la myoglobine fixe l'oxygène de l'air, alors que le cœur de la pièce est sombre et de couleur pourpre (Mb2 +), faute d'oxygène. Par contre, si les surfaces coupées sont exposées très longtemps à l'air, la myoglobine s'oxyde et prend alors une coloration brune (MMb3 +), peu attrayante (Kerry et al., 2002). L'évaluation instrumentale des couleurs est basée sur l'analyse de trois critères indépendants et sur l'échelle colorimétrique CIE L*, a*, b* (CIELAB, 1986). La valeur L* se réfère à la luminance ou la clarté, variant de L* = 0 pour le noir et L* = 100 pour le blanc. Selon Brewer et al. (2001), L* est très dépendant du pH et un excellent indicateur du degré de viande pâle, molle et exsudative (PSE) et de viandes sombres, fermes et sèches (DFD). La valeur a* indique le niveau de rouge ou de vert, allant de - a* (vert pur) à + a* (rouge pur), et est très dépendant du temps de « blooming » (Hunt, 1991; utilisé dans le jargon de l'industrie de la viande pour passer du violet/pourpre au rouge). Enfin, la valeur b* indique le jaune (ou le bleu), allant également de - b* (bleu pur) à + b* (jaune pur). Selon les études de Dalle Zotte (2000), la viande de lapin présente un fort pouvoir réfléchissant de la lumière (L* élevé) et du fait de sa faible teneur en myoglobine (a* faible ; Tableau 1.9), se caractérisant par une évolution modérée de la couleur pendant la conservation. Chez le porc par exemple, les viandes de catégorie PSE sont celles dont le pH ultime est le plus bas, un L* plus élevé (plus pâle) et ayant des pertes en eau plus importantes. Les viandes de catégorie DFD, dont le pH ultime est le plus élevé, le L* est le plus faible et les pertes en eau sont les moins importantes. Pour les viandes de catégorie PFN, RSE et RFN (les différentes classes intermédiaires), le L* n'est pas significativement différent et au niveau du pH ultime, PFN est significativement différent des deux autres selon Fautacino et al. (2010). De même que, RSE est significativement différent de PFN et RFN concernant les pertes en eau (Fautacino et al., 2010).

1.5.3. La perte en eau et la perte à la cuisson

Le muscle contient environ 75% d'eau dont la majorité est maintenue au sein des myofibrilles (Hughes et al., 2014). L'exsudat de la viande est formé par la perte de fluide du muscle sans force mécanique. Il est d'une grande importance, car il détermine la performance technologique du produit et donc sa valeur marchande. Offer et Knight (1988) affirment que les pertes de produits dues à la perte en eau peuvent varier de 2 à 10% lorsque la viande est coupée en côtelettes, notamment chez le porc. Lorsque le pH diminue de 7 à 5, les myofibrilles diminuent en volume d'environ 15% (Offer et Cousins, 1992), car 85% de l'eau est maintenue dans les myofibrilles (Hughes et al., 2014) ; ce qui correspond à la perte d'écoulement d'un muscle pâle, mou et exsudatif (viande PSE). À l'inverse, les viandes à pHu élevées (supérieures à 6) ont un volume d'eau libérée beaucoup plus faible. Les études menées par Dal Bosco et al. (1997) stipulent que chez le lapin, un pH ultime élevé a des effets positifs sur la capacité de rétention d'eau.

La viande est consommée après cuisson et cette cuisson provoque à la fois l'élimination de jus de viande et de nutriments solubles (myoglobine, vitamines B, nucléotides, acides aminés libres), à cause de la dénaturation des protéines et du rétrécissement des fibres musculaire dû à l'augmentation de la température dans la viande (Gandemer et al., 2013). Autrement dit, plus la température de la viande s'élève, plus il y a de pression sur les fibres, et donc de jus de viande est expulsé. Les viandes acides ont un faible pouvoir de rétention en eau, donc elles sont plus dures, car elles perdent plus d'eau lors de la cuisson. D'ailleurs selon Dalle Zotte (2000), cette conséquence est souvent observée chez le porc en raison de son pHu bas. Cependant, les pertes de poids à la cuisson sont plus faibles chez le lapin et le poulet par rapport aux autres espèces, en raison de leur faible teneur en lipides intramusculaires (Combes et Dalle Zotte, 2005).

1.5.4. La viande : un milieu favorable à la croissance des microorganismes

Selon Saucier (1999), nous sommes en compétition constante avec les microorganismes de l'environnement car ces derniers arrivent à s'adapter aux systèmes antimicrobiens qui sont employer pour les contrer. La viande est particulièrement favorable à la croissance des microorganismes de par sa richesse en nutriments (protéines, lipides, composés à faible poids moléculaire), son pH physiologique proche de la neutralité et son activité d'eau élevée

(Aw~0,99). Et c'est principalement la facilité avec laquelle les microorganismes arrivent à croître qui définit le caractère périssable de la viande.

Selon la FAO (2016), 1,3 milliard de tonnes de nourriture sont perdues ou gaspillées chaque année dans le monde alors que seulement en Europe, 79 millions de personnes vivent en dessous du seuil de pauvreté et qu'un quart d'entre elles dépendent de l'aide financière (Godard et Reynders, 2014). Un constat alarmant et accablant quand on sait les répercussions du point de vue social, économique et environnemental, mais aussi que 795 millions de personnes meurent de faim ou de malnutrition, chaque année dans le monde. Toujours d'après les données de la FAO (2016), la viande à elle seule subit plus de 20% de perte. D'après Saucier (2016), la réduction des déchets et la détérioration, passe par des stratégies efficaces pour améliorer le contrôle microbien des produits carnés, car ces derniers sont denses en nutriments et hautement périssables.

Selon Huffman (2002), un animal en bonne santé a des muscles stériles ou faiblement contaminés à l'exception des ganglions lymphatiques. Cependant, la viande se contamine après l'abattage suite aux opérations d'éviscération, par contact avec l'équipement, les outils, les mains et les vêtements des travailleurs, en dépit de toutes les précautions prises (Dainty et Mackey, 1992). Selon les conditions d'entreposage, c'est-à-dire la température et l'atmosphère de l'emballage, certains microorganismes sont favorisés au détriment des autres (Gill et Newton, 1978).

La composition de la microflore est un facteur qui influence la durée de vie de la tablette et l'innocuité du produit. Il est bien établi que pendant l'entreposage réfrigéré de la viande en conditions aérobies ou anaérobies, un niveau de contamination microbienne de l'ordre de 7-log unité formant une colonie par gramme (ufc/g) est critique et constitue la fin de la vie de tablette. Par exemple, Bobbitt (2002) a étudié la durée de conservation des carcasses de lapins entreposées à 4°C et a estimé que la durée de vie en conditions aérobies était limitée à 3 jours. Mais dans une étude plus récente, Pereira et Malfeito-Ferreira (2013) et Rodríguez-Calleja et al. (2004) sont parvenus à des conclusions plus optimistes : leurs études établissent la durée de vie de tablette à 6-7 jours, en conditions aérobies. Le tableau 1.10 présente les principaux genres bactériens responsables de la détérioration de la viande et des produits carnés, ainsi que des problèmes de santé qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils sont ingérés.

Tableau 1.10. Microorganismes d'altération et pathogènes associés à la viande fraîche et aux produits carnés impliqués dans la détérioration de la viande et les toxi-infections alimentaires

Microorganismes	Espèces
Les microorganismes d'altération	<i>Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Brochothrix thermosphacta</i> <i>Moraxella</i> <i>Enterobacter</i> <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Leuconostoc</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>Klebsiella</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Alcaligenes</i>
Les microorganismes pathogènes	<i>Salmonella</i> spp. <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium botulinum</i> <i>Escherichia coli</i> O157: H7 <i>Campylobacter</i> spp. <i>Aeromonas hydrophilla</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Arcobacter butzleri</i> <i>Mycobacterium</i> spp.

Modifié de Jayasena et Jo, 2013

À la surface de la viande, la microflore initiale est principalement dominée par des microorganismes mésophiles tandis qu'en conditions de réfrigération (4°C), ce sont les microorganismes psychotrophes qui s'installent (Gill, 1983). Par ailleurs, si les conditions de réfrigération sont médiocres (10°C), les *Enterobacteriaceae* prévalent et détériorent la viande. En conditions aérobies, les *Pseudomonas spp* constituent 50 à 90% de la population microbienne totale parce qu'ils ont la possibilité de se développer plus rapidement par rapport aux autres microorganismes (Saucier et Champagne, 2006). Dans les conditions inverses, c'est-à-dire en conditions anaérobies, la réduction du niveau d'oxygène tend à inhiber les bactéries aérobies au profit des anaérobies ou anaérobies facultatives comme les bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* (Gill, 1983).

L'exsudat de viande sur lequel les microorganismes croissent à la surface de la viande contient des composés de faible poids moléculaire à l'instar des résidus de glucose ainsi que des intermédiaires glycolytiques notamment le glucose-6-phosphate (Eskin, 1990). Tous ces composés jouent un rôle important dans la détérioration de la viande et le type d'organismes présents dans la population microbienne (Lambert et al., 1991). Par exemple, dans la viande dite DFD, le pH est plus élevé ($6 >$), il favorise donc le développement des *Brochothrix thermosphacta*, des *Enterobacteriaceae* ainsi que *Yersinia enterocolitica* (Gill et Penney, 1986 ; Dainty et Mackey, 1992). La décarboxylation des acides aminés par les *Pseudomonas* notamment fait monter le pH.

En présence d'oxygène, *Pseudomonas (fragi, fluorescens et lundensis, trois espèces)* utilise préférentiellement le glucose comme substrat jusqu'à épuisement. Une fois que le glucose épuisé à la surface de la viande, les *Pseudomonas* commencent à dégrader les acides aminés (Gill et Newton, 1978) avec la formation d'amines volatiles et d'ammoniac, responsable d'odeurs et de saveurs désagréables (Bornert, 2000). Ce type de métabolisme est rencontré chez les bactéries du genre *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Microbacterium thermosphactum*, mais aussi les *Lactobacillus* et *Enterobacteriaceae*. Les entérobactéries, en particulier les espèces tolérantes au froid, sont également présentes sur la viande fraîche, mais contribuent rarement à la détérioration à moins d'un mauvais contrôle de température de réfrigération (Nychas et al., 2008).

Suite à ces phénomènes, on observe des odeurs indésirables, les changements de couleur (gris, marron ou vert, FAO, 2017), le rancissement, l'apparition de substances gluantes sur la viande qui constituent des critères négatifs et qui conduisent au rejet de la viande par le consommateur.

En conditions anaérobies, incluant le sous vide, la microflore d'altération prévalente de la viande est habituellement constituée de *Lactobacillus* qui cause de l'acidification par fermentation des sucres plutôt que de la putréfaction (Bornert, 2000). Ce processus hétérofermentaire conduit à la formation de gaz, d'aldéhydes et de cétones, tous à l'origine de modifications du goût et de l'odeur du produit. Ce qui provoque le développement de saveurs aigres moins offensives que celles putrides formées par le métabolisme des bactéries aérobies. De plus, *Brochothrix thermosphacta* est une bactérie anaérobie facultative, tolérante

à de faible concentration l'oxygène et est communément détectée en fin durée de vie sur les viandes réfrigérées en conditions anaérobies, mais n'est pas considérée comme contributeur majeur à l'altération surtout depuis que les équipements d'emballage sont plus performants pour éliminer l'air dans les emballages (Nychas et al., 2008). Toutes les bactéries à l'exception des *Lactobacillus* représentent une faible proportion de la population microbienne de la viande lors de la détérioration. Gill (1976) a mis en évidence que la microflore maximale est établie par la vitesse de diffusion des substrats fermentescibles à la surface. Selon lui, un certain nombre de lactobacilles inhibe la croissance d'autres espèces sur la viande, probablement par la production d'agents antimicrobiens (c'est l'exclusion compétitive) dans le but de créer un avantage sur l'utilisation des nutriments. L'emballage sous vide réduit l'oxydation des lipides dans la viande de lapin et peut donc prolonger sa durée de conservation (Dalle Zotte, 2002). Cependant, ce type d'emballage assombrit la viande et ne peut donc être utilisé que lorsque la rétention de la couleur rouge n'est pas importante (Dalle Zotte, 2002).

L'altération de la viande crue peut se produire de deux manières pendant la réfrigération soit par la croissance microbienne, soit par le rancissement oxydatif (Sebranek et al., 2005). Elle diminue donc la durée de conservation de la viande, ce qui entraîne un gaspillage de nourriture. Par ailleurs, parmi la microflore de la carcasse, des bactéries pathogènes peuvent s'y retrouver et causer des toxi-infections alimentaires si elles ne sont pas bien contrôlées (Fратиanni et al., 2010). Ce qui a pour conséquence un traitement coûteux et la perte d'heures de main-d'œuvre pour les économies nationales. Cependant, en industrie alimentaire, l'altération microbienne est retardée par la chaîne de froid et l'entreposage de la viande à des températures comprises entre -1°C et + 4°C.

Au cours des dernières années, il y a eu une résistance considérable des consommateurs à l'utilisation d'antioxydants de synthèse comme l'acétate de sodium, le nitrite de sodium, le sorbate de potassium, le sulfite, l'acide benzoïque, le butyl-hydroxytoluène (BHT), le butyl-hydroxyanisole (BHA) et le tert-butylhydroquinone (TBHQ ; Basuny et al., 2013). En effet, BHA et BHT ont été incriminés dans le trouble déficitaire de l'attention avec hyperactivité chez les enfants (Feingold, 1982) et les composés de nitrate et les nitrites (nitrosamine) sont des précurseurs de produits cancérigènes (ex. : nitrosamine). Par conséquent, des stratégies

nouvelles, y compris l'utilisation d'agent de conservation naturel est d'un grand intérêt pour l'industrie de la viande en réponse à la demande croissante des consommateurs pour des produits alimentaires le plus naturel possible.

La demande des consommateurs pour des produits frais sans agent de conservation oblige les industriels à innover. Au cours des dernières années, une grande attention a été portée sur des composés naturels tels que les polyphénols des végétaux, les bactéries lactiques (leurs bactériocines) et les huiles essentielles. Contrairement aux composés synthétiques, ces *agents de bioconservation* s'avèrent être un bon compromis, car ils peuvent améliorer la qualité nutritionnelle et sensorielle en diminuant l'oxydation et la croissance microbienne tout en favorisant l'extension de la durée de vie des produits carnés.

1.6. Nouvelles stratégies alimentaires simples et sans investissement majeur pour les producteurs

1.6.1. Les bactéries lactiques : nouvelle approche pour la conservation de la viande

Depuis toujours, les antibiotiques ont été utilisés dans le but d'éliminer diverses bactéries pathogènes à l'origine de pathologies et d'intoxication alimentaires. Mais avec l'émergence des antibiorésistances, les scientifiques se sont orientés vers la recherche de substances naturelles comme les bactériocines des bactéries lactiques. Les bactéries lactiques sont des microorganismes à Gram positif, non mobile, en forme de bâtonnet ou de coques, non sporulant qui produisent de l'acide lactique comme le produit final majeur de la fermentation du glucose (Swetwivathana et Visessanguan, 2015). Elles vivent naturellement dans l'environnement (rarement pathogène), font partie de la microflore intestinale et vaginale (humaine et animale) et se retrouvent à la surface de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, la viande, les végétaux et les céréales. Les bactéries lactiques sont donc également considérées comme des contaminants de surface pendant la transformation des aliments et, par conséquent, même sur les aliments transformés (Henning et al., 2015). Considérées inoffensives et sûres pour la santé humaine (GRAS), les bactéries lactiques sont principalement utilisées en tant que ferments et produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes telles que les acides organiques et les bactériocines. Ces dernières ont eu un intérêt important à cause de leurs activités inhibitrices contre certains

microorganismes pathogènes. Selon la définition de Stiles (1996), la biopréservation est le terme utilisé pour décrire la « durée de conservation prolongée et l'innocuité accrue des aliments utilisant la microflore naturelle et/ou de leurs produits antibactériens » et plusieurs bactéries lactiques conviennent à cet effet. Cette technique serait une alternative idéale pour les producteurs afin d'assurer la salubrité des aliments et d'accroître la durée de conservation microbienne de leurs produits, car les consommateurs exigent des aliments peu transformés avec des additifs alimentaires naturels plutôt qu'avec des agents de conservation de synthèse.

Les bactéries lactiques les plus connues et largement utilisées en industrie sont *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* et *Enterococcus* (Egan et al., 2016). Certaines ont acquis une notoriété pour démontrer un effet « probiotique » lorsqu'elles sont ingérées, c'est-à-dire administrées en quantité adéquate, elles confèrent un avantage pour la santé de l'hôte tandis que d'autres sont connus pour produire une variété d'antimicrobiens (FAO et l'OMS, 2001). Les genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* ont un long historique d'utilisation en alimentation humaine, car elles sont largement incorporées dans les produits laitiers. L'une des sources les plus courantes de probiotiques dans le monde est les produits laitiers fermentés tels que le fromage, le yaourt et le kéfir. Chez les animaux d'élevage, les probiotiques sont censés améliorer la santé globale tout en assurant l'équilibre microbien dans leur intestin. Selon Steiner (2009), leur mode d'action est basé principalement sur des phénomènes d'exclusion compétitive, d'antagonisme bactérien et de modulation immunitaire. Yirga (2015) définit l'exclusion compétitive comme étant la capacité de la microflore normale à se protéger contre l'établissement nocif des agents pathogènes. Ainsi pour exercer leur effet nocif, les bactéries néfastes doivent se fixer sur la paroi intestinale; l'effet des probiotiques est donc d'augmenter la colonisation de la microflore normale non pathogène avec l'inhibition de l'adhérence des organismes pathogènes nuisibles sur les parois intestinales, bloquant ainsi les sites récepteurs et empêchant la fixation des bactéries nocives (Yirga, 2015). De plus, toujours selon le même auteur, les probiotiques entrent en compétition avec les bactéries pathogènes pour les nutriments dans l'intestin. Quant au second rôle des probiotiques, l'antagonisme bactérien, on parle d'activité bactéricide ou bactériostatique dans l'intestin causé par la libération de substances inhibitrices ou mortelles pour les bactéries nocives.

Enfin, les probiotiques permettent également de maintenir les organismes pathogènes en petit nombre tout en soutenant la défense de l'animal contre les agents pathogènes envahisseurs en stimulant la réponse immunitaire gastro-intestinale : c'est la modulation immunitaire.

1.6.1.1. Les bactériocines comme la conservation des aliments

Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens qui ont une activité inhibitrice dirigée contre les bactéries proches de la souche productrice et qui ont gagné une énorme attention en tant qu'agent de bioconservation potentiel (O'Sullivan et al., 2002 ; Swetwivathana et Visessanguan, 2015). Selon Leroy et De Vuyst (2004), ces substances antimicrobiennes sont composées de peptides bioactifs ou de complexes de peptides qui ont une activité bactéricide ou bactériostatique. Leur action, selon la revue de O'Sullivan et al. (2002), est d'interférer avec la paroi cellulaire ou la membrane des organismes cibles en inhibant la biosynthèse de la paroi cellulaire ou en provoquant des pores, entraînant de ce fait la mort de la cellule. Cependant, la souche productrice doit synthétiser une protéine d'immunité à la bactériocine afin d'éviter le suicide. Elles peuvent être produites aussi bien par les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif, toutefois, elles sont généralement inefficaces contre les bactéries à Gram négatif parce qu'elles ne peuvent pas traverser la membrane extérieure et vice versa (O'Sullivan et al., 2002).

Les bactériocines produites par les BAL ont plusieurs propriétés qui les rendent idéales pour une utilisation dans la conservation des aliments. Elles sont tolérantes au pH et à la chaleur (propriétés importantes dans la transformation des aliments, Egan et al., 2016). Aussi (i) beaucoup de BAL producteurs de bactériocines sont considérés comme inoffensifs GRAS et sont perçus par le public comme ayant des caractéristiques de promotion de la santé, (ii) elles sont non toxiques pour les cellules eucaryotes et (iii) elles sont inactivées par les protéases du tube digestif (la pancréatine, la trypsine et la chymotrypsine) donc peu d'influence sur la microflore intestinale (O'Sullivan et al., 2002). En plus, selon les études de Egan et al. (2016), (iv) les bactériocines sont codées par un gène et donc très favorables à la manipulation génétique, lorsque cela est souhaité (Field et al., 2015), (v) toutes les bactériocines produites par les BAL n'ont pas le même mode d'action, et (vii) elles sont actives contre une gamme de bactéries alimentaires pathogènes et d'altération. D'autres propriétés qui les rendent utilisables comme antimicrobiens dans les aliments sont leur manque de résistance croisée

avec les antibiotiques et peuvent être manipulées génétiquement (Galvéz et al., 2007). En somme, les bactéries lactiques offrent plusieurs propriétés clés qui rendent leurs bactériocines hautement souhaitables pour une utilisation dans les aliments.

Dans l'industrie agroalimentaire, les bactéries lactiques sont utilisées pour obtenir des changements favorables dans la texture, l'arôme, la saveur et l'acidité (Leroy et De Vuyst, 2004). De plus, selon l'étude de Swetwivathana et Visessanguan (2015), certaines bactériocines semblent inhiber les agents pathogènes potentiels d'origine alimentaire, y compris *Clostridium botulinum*, *En. faecalis*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* et *Bacillus* spp. Les bactéries lactiques comptent plusieurs genres utilisés comme probiotiques dans l'alimentation animale notamment, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus* et *Carnobacterium*. C'est de *Carnobacterium* qu'il sera question plus spécifiquement dans ce chapitre.

1.6.1.2. Les bactériocines comme des agents de conservation dans la viande

L'utilisation des bactéries lactiques a été largement étudiée dans la littérature dans le but d'améliorer la qualité des produits et d'étendre la durée de conservation de la viande (Guerrero et al., 1995). Mais pour que ces bactéries lactiques soient efficaces, elles doivent être en mesure de survivre à l'acidité stomacale (pH plus bas que 1,5 chez l'homme (Dressman et al., 1990) et 1,9 chez le lapin (Smith, 1965) et arriver dans les intestins en quantités suffisantes, car dans le transit, le long du tube digestif, la majorité des bactéries ayant un effet probiotique meurent.

En outre, la littérature rapporte que les BAL, employées comme probiotique peuvent être utilisées comme alternative aux antibiotiques pour leur effet bénéfique sur les performances zootechniques et la santé des animaux. Par exemple, Xiaolu et al. (2012) a conclu que l'ajout de probiotique (*Bacillus licheniformis*) dans l'eau des poulets de chair pouvait être utilisé en tant que promoteur de la croissance. Par contre l'étude réalisée par Dalloul et al. (2003) a démontré qu'en utilisant *Lactobacillus* comme probiotique dans l'alimentation des poussins, ces derniers étaient significativement plus résistants contre la coccidie (*Eimeria acervulina*). Dans cette étude, le nombre de lymphocytes intraépithéliaux de l'intestin a augmenté suggérant que le probiotique a eu un effet positif sur le système immunitaire des poulets.

Même si de nombreuses études ont rapporté la réduction des coliformes et entérobactéries intestinaux due à l'administration de probiotiques ; cependant, d'autres n'ont rapporté aucun effet (Simon et al., 2003).

Sans aucun doute, la bactériocine plus largement étudiée est la nisine, produite par *Lactococcus lactis* et est autorisée dans plus de 50 pays (Egan et al., 2016) sauf au Canada où elle n'est toujours pas permise. En effet, elle a obtenu peu d'application jusqu'à ce jour, car la nisine est instable dans la viande crue, parce qu'elle réagit avec le glutathion (Rose et al., 1999). De ce fait, la nisine est inactivée dans la viande crue même si elle est bien connue pour son pouvoir antimicrobien contre *L. monocytogenes* et *Cl. botulinum*. Micocin®, un ingrédient contenant l'organisme *Carnobacterium maltaromaticum* CB1, a été homologué au Canada pour son usage dans des produits sous vide comme les saucisses, le rôti de bœuf tranché, le jambon cuit et la dinde cuit en tranches (Health Canada, 2010). Il a également l'approbation GRAS aux États-Unis pour les produits de viande et le saumon fumé (Harrington, 2011) et est approuvé aussi au Mexique, au Costa Rica et en Colombie.

Micocin® a un pouvoir antimicrobien contre *L. monocytogenes*, produisant trois bactériocines : carnocycline A, piscicoline 126 et la carnobactériocine BM1 et autres métabolites antimicrobiens. *Carnobacterium* spp. est une bactérie psychrotrophe, capable de se développer dans la viande, à des températures aussi basses que 1,5 à 2 °C, et ce, dans un emballage sous vide ou en atmosphère modifiée (McMullen et Stiles, 1993 ; Sakala et al., 2002 ; Jones, 2004 ; Casaburi et al., 2011). La particularité de *Carnobacterium* spp. est sa croissance qui est inhibée par l'acétate contenu sur la gélose de Man, Rogosa et Sharpe (MRS), qui sont couramment utilisées pour le dénombrement des bactéries lactiques (Sakala et al., 2002 ; Chenoll et al., 2007) et donc il croît peu sur ce milieu de culture. Par conséquent, pour le dénombrement de cette bactérie lactique dans la microflore de la viande, il est préférable d'utiliser un milieu de culture tel que le All Purpose Tween (APT), afin de permettre sa croissance en conditions anaérobies. Le genre *Carnobacterium* regroupe neuf espèces, mais seulement deux espèces, *divergens* et *maltaromaticum* (anciennement *piscicola*), sont fréquemment rencontrées dans l'environnement et dans les aliments. *C. maltaromaticum* CB1 est efficace contre *En. faecalis*, *En. faecium*, *Pediococcus acidilactici*, *C. divergens*, *L. lactis* spp. *lactis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lb. casei*, *Leuconostoc gelidum*, *S. aureus*, *Cl.*

botulinum, et plus particulièrement, *L. monocytogenes* (Laursen et al., 2005 ; Casaburi et al., 2011 ; González et al., 2013).

1.6.1.3. *Micocin® sur les viandes transformées*

La biopréservation (ajout de bactéries vivantes aux produits de viande) offre la solution idéale au problème de sécurité alimentaire. Les souches de *Carnobacterium* sont particulièrement adaptées à la biopréservation et elles ont peu d'impact sur les qualités organoleptiques des produits. Par exemple, dans du pâté de jambon inoculé expérimentalement, la bactériocine piscicoline 126 a réduit le nombre viable de *L. monocytogenes* immédiatement après son ajout, et ce, pendant les 14 jours de l'essai (Jack et al., 1996). En outre, une réduction de 4 à 5 log du taux de *L. monocytogenes* sur des tranches de saumon emballé sous vide a été constatée en présence de *C. maltaromaticum* à 10⁶ UFC/g à 5°C comparé au témoin non ensemencé (Nilsson et al., 1999). Quant à Gonzalez et al. (2013) une réduction significative du nombre de *L. monocytogenes* à 4 et 8°C dans le Morcilla et Chorizo où le *C. maltaromaticum* CBI avait été ajouté comme biopréservateur par rapport aux produits témoins. Une étude plus récente de Danielski et al. (2017) a démontré le potentiel antilistérielle de trois souches de *C. maltaromaticum*, in vitro, contre *L. monocytogenes* et une inhibition des bactéries Gram- quand ils sont combinés à l'EDTA (*Escherichia coli* O157: H7, et *Salmonella* spp.).

Cependant, peu de publications scientifiques indiquent les effets de l'ajout de *C. maltaromaticum* CBI dans la moulée sur la qualité microbiologique des carcasses. Pour notre étude, Micocin® a été utilisé parce qu'il est possible de le suivre dans les fèces, sur les cuisses et dans la viande hachée de lapin par des méthodes moléculaires (trois gènes spécifiques) et parce qu'elle est active contre *L. monocytogenes*.

1.6.2. *Les polyphénols : composés naturels, idéals pour l'industrie agroalimentaire*

Les polyphénols, d'après Lucera et al. (2012), sont des agents antioxydants, antimicrobiens et réducteurs qui améliorent la durée de vie des tablettes et la texture. En effet, la plupart comportent un groupement aromatique ayant des fonctions hydroxyles capables de libérer un atome d'hydrogène afin de neutraliser les radicaux libres. Suite à cette libération, le groupement aromatique peut rester stable par la délocalisation de ses électrons (Duthie et al.,

2000). Puisque les radicaux libres sont neutralisés, la phase de propagation de l'oxydation se voit ralentie.

1.6.2.1. Caractéristiques et classification

Les polyphénols sont un groupe de substances chimiques que l'on retrouve notamment dans les plantes, et qui sont caractérisées par la présence d'un ou plusieurs noyaux aromatiques avec plusieurs groupes hydroxyle (Figure 1.2.a). Les polyphénols peuvent être divisés en quatre principales familles : les flavonoïdes (flavones, flavanones, flavonols, isoflavonones, anthocyanines, proanthocyanidines et flavanols ; Figure 1.2.b), les acides phénoliques (Figure 1.2.c), les tannins et les lignanes ainsi que les stilbènes, qui se divisent à leur tour en plusieurs catégories ou composés (Manach et al., 2004 ; Erdman et al., 2007).

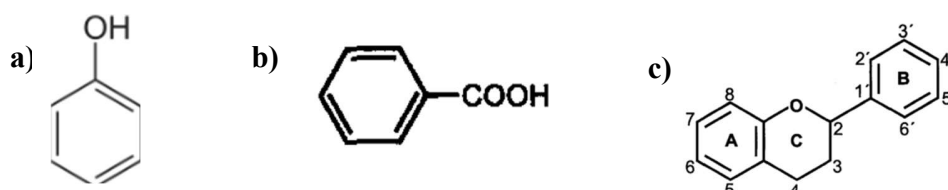


Figure 1.2. a) Molécule de phénol, la structure de base des polyphénols; b) Structure de base des acides phénoliques; c) Structure de base des flavonoïdes

Les polyphénols se trouvent d'une manière générale dans les racines, les tiges, le bois, les feuilles, les fleurs et les fruits des végétaux. Ce sont des antioxydants puissants qui se complètent et s'ajoutent aux fonctions des vitamines antioxydantes et des enzymes comme moyen de défense contre le stress oxydatif causé par l'excès d'espèces réactives de l'oxygène (ERO ; Tsao, 2010). Globalement, ce sont d'excellents piègeurs des ERO et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (Haleng et al., 2007). Ils sont également responsables de la production des ERO et de l'induction de la biosynthèse d'enzymes antioxydantes.

Les composés phénoliques se retrouvent dans notre alimentation, tout spécialement les flavonoïdes qui représentent la classe de polyphénols la plus répandue dans notre régime. D'après Tsao (2010), plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, et parmi celles-ci, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. D'un point de vue moléculaire, les polyphénols se différencient selon leur squelette de base, le degré de modification de ce

squelette (oxydation, hydroxylation, méthylation) et les liaisons possibles avec d'autres molécules comme les glucides, les lipides et les protéines. Ces composés jouent un rôle essentiel dans la croissance, le développement et la survie des végétaux. Ils sont impliqués dans la résistance de base qui rend la plupart des plantes non sensibles aux bactéries potentiellement pathogènes (Biedrzycka et Amarowicz, 2008). Ils contribuent également à la couleur ainsi qu'à l'astringence (dû aux tannins) et à l'amertume de la plante dans laquelle ils se retrouvent (Manach et al., 2004). Ensuite, ils vont protéger les plantes contre les agressions externes : soleil, pluie, froid, etc. et même contre des agents responsables de maladies. Certains d'entre eux jouent même le rôle de phytoalexines comme les isoflavonols permettant de lutter contre les infections causées par les champignons, ou par les bactéries (Makoi et Ndakidemi, 2010).

1.6.2.2. Les composés riches en composés polyphénoliques

L'intérêt pour les plantes et les épices, comme ingrédients alimentaires, vient notamment de leurs propriétés antioxydantes. Ces molécules antioxydantes inhibent les enzymes responsables de la formation des radicaux libres et sont même des chélateurs de certains ions métalliques. Ce sont de véritables "capteurs" de radicaux libres dont la particularité est due à leurs composants à la fois hydrophiles et hydrophobes (Obrenovich, 2010). De par leur capacité à neutraliser les radicaux libres, les antioxydants ont le pouvoir de diminuer les niveaux de stress oxydatif et, par conséquent, les dommages oxydatifs.

Les flavonoïdes par exemple sont très répandus dans les végétaux, les tannins dans le cacao, le café, le thé, le raisin, etc. Quant aux fruits rouges, ils sont riches en anthocyanes et les céréales, les fruits et les légumes, en acides phénoliques. Selon les données de Liu (2013), les petits fruits tels que les fraises, les canneberges, les bleuets, les framboises, les mûres, les grenades ou les raisins ont une teneur particulièrement élevée en polyphénols comparativement aux autres fruits (Figure 1.3). Les fraises par exemple, sont plus riches en anthocyanines et présentent généralement une capacité antioxydante totale plus importante que ceux riches en flavanones (orange) et en flavonols (oignon). Mais la canneberge se classe parmi les premiers pour sa teneur en polyphénols et pour sa capacité antioxydante chez les fruits (Figure 1.3).

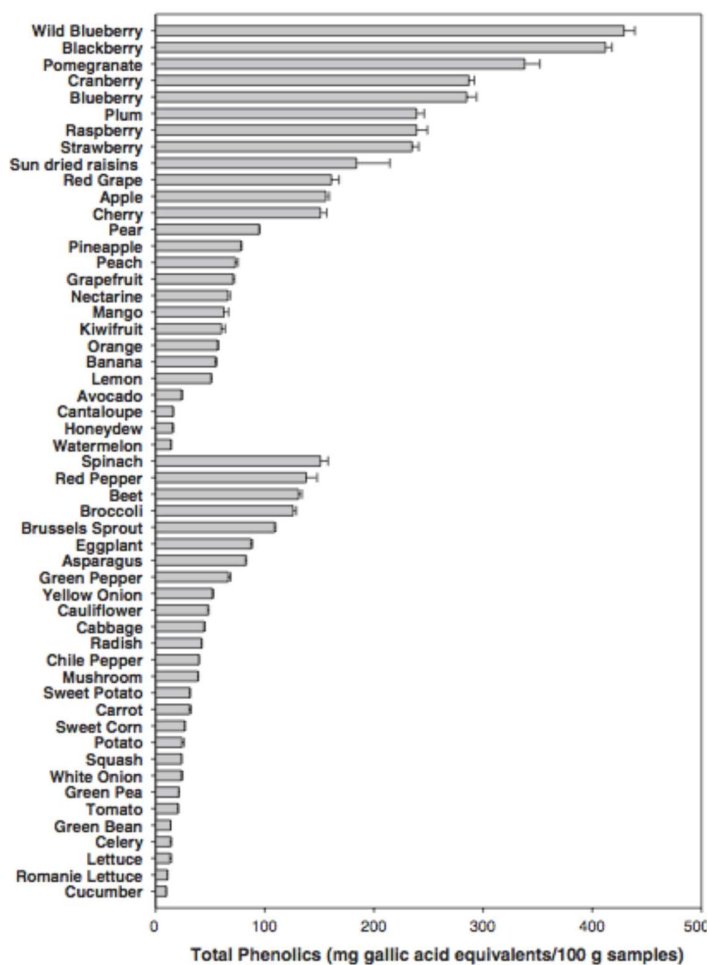


Figure 1.3. Teneur totale en composés polyphénoliques (mg) par 100g d'aliment pour plusieurs fruits et légumes. Figure tirée de l'article de Liu et al. (2013).

La canneberge est un fruit riche en composés polyphénoliques, en particulier en flavonols, les proanthocyanines et en anthocyanines (donnent la coloration rouge) très connues pour leur capacité antioxydante (Kähkönen et al., 2001). La capacité antioxydante des proanthocyanines serait plus importante que celle des vitamines C, E et des catéchines d'après les études de Goetz et Ghédira (2012). De plus, la canneberge renferme également du resvératrol, un polyphénol de la classe des stilbènes qui aurait des propriétés cardioprotectrices.

L'oignon, qui est le condiment le plus consommé dans toutes les régions du monde, renferme comme antioxydants des anthocyanines et des flavonols (plus précisément la quercétine). Il existe plusieurs variétés d'oignon. Par exemple, les anthocyanines donnent la couleur rouge

à certaines variétés d'oignon, et les flavonols colorent les oignons jaunes (Griffiths et al., 2002). De plus, Chu et al. (2000) ont noté que ces antioxydants se retrouvent surtout dans les couches externes des oignons c'est à-dire la pelure. Ainsi, les oignons blancs contiennent peu d'antioxydants comparativement à ceux de couleur jaune et rouge d'après les études de Yang et al. (2004). Au Québec seulement, c'est environ 15000 tonnes d'oignons qui n'atteignent pas les marchés d'alimentations pour des raisons diverses (moches, difformes ou trop petits) selon l'Union des producteurs agricoles. Il est important de valoriser tous les composants issus de notre production agricole notamment dans l'alimentation animale. Ce projet recycle donc des sous-produits et des fractions de polyphénols autrement gaspillées et qui donneront une valeur ajoutée aux aliments.

1.6.2.3. Les huiles essentielles (HE) riches en polyphénols

Les huiles essentielles (HE) ont été longtemps reconnues pour retarder et empêcher les transformations indésirables (telles que la diminution de la valeur nutritive, les odeurs désagréables), mais surtout pour leurs activités antioxydantes, antibactériennes, antiparasitaires et antifongiques (Zhang et al., 2016). Elles sont constituées d'un mélange hétérogène de substances organiques complexes et aromatiques telles que les terpènes et les terpénoïdes, les constituants aromatiques et aliphatiques, tous caractérisés par un faible poids moléculaire (Bassolé et Juliani, 2012). Selon Oussalah et al. (2007), ces huiles volatiles sont généralement concentrées dans une région particulière des plantes dont elles sont issues, comme les feuilles, l'écorce ou les fruits, et quand ils sont produits dans les divers organes de la même plante, ils ont souvent des profils de compositions différents.

Plusieurs d'entre elles présentent des activités prometteuses contre de nombreux agents pathogènes d'origine alimentaire et les microorganismes d'altération (Bassolé et Juliani, 2012). Une caractéristique importante des HE et de leurs composants est leur caractère hydrophobe, ce qui leur permettra de partitionner avec les lipides de la membrane cellulaire des bactéries et des mitochondries, perturbant les structures cellulaires afin de les rendre plus perméables (Solórzano-Santos et Miranda-Navales, 2012 ; Perricone et al., 2015).

1.6.2.4. Biodisponibilité des polyphénols

La biodisponibilité des polyphénols diffère beaucoup d'un composé à un autre. Elle est définie comme la fraction de polyphénols consommés, métabolisés, assimilés, accumulés et présents sous forme active dans la circulation sanguine. Beaucoup de facteurs, comme la dose, la structure, les propriétés chimiques, le modèle d'animal choisi, la voie d'administration, l'influencent, mais d'après les études menées par Manach (2004), ce sont les polyphénols consommés en plus grande quantité qui auront les effets métaboliques les plus importants. Cependant, toujours selon Manach (2004), les polyphénols les plus communs dans l'alimentation humaine ne sont pas nécessairement les plus actifs dans le corps, soit parce qu'ils ont une activité intrinsèque inférieure ou parce qu'ils sont mal absorbés par l'intestin, hautement métabolisé, ou rapidement éliminé.

La consommation quotidienne de phénols végétaux chez l'humain est estimée entre 150 et 1000 mg (Dudonné et al., 2014). Dans l'organisme, certains polyphénols, les plus simples, peuvent être absorbés sous leur forme aglycone (intacte et par diffusion passive dans l'intestin grêle), mais la majorité des polyphénols ne peuvent pas être absorbés sans d'abord être hydrolysés par les enzymes et les bactéries intestinales ou la microflore du côlon (Manach et al., 2005). Les dérivés seront liés d'abord à un sucre simple une fois ingéré (le glucose principalement, ou bien le galactose, l'arabinose, le xylose, l'acide glucuronique, etc. ; Scalbert et Williamson, 2000) et sont appelés glycosides. Le nombre de sucres ainsi lié est le plus souvent un, mais peut être également deux ou trois. La digestion et l'absorption des polyphénols commencent dans l'estomac. Selon Hollman (2011), l'absorption la plus efficace se produit à partir de l'intestin grêle à cause de sa grande surface. Cependant, le foie constitue le principal lieu de métabolisation des composés phénoliques afin de faciliter leur élimination. En effet, ces derniers sont conjugués à ce niveau et formeront des dérivés méthylés, sulfatés, glucuronides ou des glucuronides-sulfates (Manach et al., 2005) : c'est la conjugaison (Figure 1.4). Cette dernière est un processus de détoxification métabolique qui permet de restreindre les effets toxiques potentiels des composés xénobiotiques et qui facilite leur élimination biliaire et urinaire (D'Archivio et al., 2010). Les polyphénols qui ne sont pas absorbés dans l'estomac ou l'intestin grêle seront transportés jusqu'au côlon (Figure 1.4). En outre, ceux qui ont été absorbés et métabolisés dans le foie pour ensuite être excrétés dans la

bile ou directement dans les entérocytes retourneront à l'intestin grêle également pour atteindre le côlon, mais sous une forme chimique différente, comme un glucuronide (Scalbert et Williamson, 2000). Il est donc clair que tout polyphénol unique génère plusieurs métabolites non seulement dans l'intestin grêle et dans le côlon, mais aussi dans le foie, où la plupart des réactions de conjugaison ont lieu.

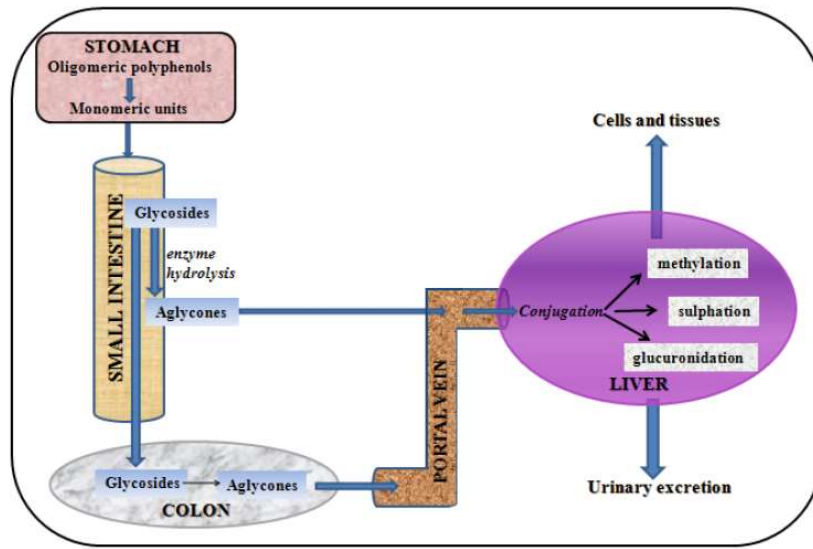


Figure 1.4. L'absorption des polyphénols alimentaires chez l'homme. Les polyphénols sont fortement modifiés au cours de l'absorption dans l'estomac : les glycosides peuvent être hydrolysés dans l'intestin grêle ou dans le côlon et les aglycones libérés peuvent être absorbés. Avant le passage dans la circulation sanguine, les polyphénols subissent d'autres modifications structurales à cause du processus de conjugaison, qui a lieu principalement dans le foie. Tiré D'Archivio et al. (2010).

Les métabolites issus des polyphénols ainsi créés sont donc éliminés de l'organisme par l'excrétion urinaire et biliaire. Selon Erdman (2007), l'excrétion urinaire est une voie importante pour les flavanones, les isoflavones, et les flavan-3-ols, mais l'excrétion biliaire est la principale pour l'ensemble des polyphénols. Pour Manach et al. (2005), seuls les produits conjugués de faible poids moléculaire sont excrétés par voie urinaire, les plus grosses, le seront par voie biliaire. La métabolisation des polyphénols ne s'arrête pas à l'action des entérocytes ou du foie. En effet, ceux-ci sont intensivement dégradés par le microbiote intestinal, qui possède une enzyme la β -glucuronidase capable de libérer les aglycones des métabolites conjugués. Ces derniers sont ensuite sécrétés dans la bile, pour ensuite être réabsorbés (Manach et al., 2005).

D'après les travaux de Manach (2005) et Hollman (2011), seuls les anthocyanes, de la famille des flavonoïdes (ex : fraise et canneberge), peuvent être absorbés directement à partir de l'estomac intact et se retrouver sous forme de glycoside dans le plasma (Dudonné et al., 2014). Ils ont une très faible biodisponibilité et apparaissent 1,5 heure (valeurs maximales) dans le plasma après l'ingestion chez des rats. Sachant que la demi-vie moyenne des polyphénols dans le sang est de 8 heures, avec une variation d'une heure et 18 heures selon la nature des composés (Manach et al., 2005).

Les proanthocyanides présentent également une biodisponibilité faible. Ils sont retrouvés dans les fraises et les canneberges, mais en raison de leur structure, ils ne sont pas absorbés et donc ne se retrouvent pas dans le plasma suivant leur consommation (Dudonné et al., 2014). Selon les études de Manach (2005), cela pourrait être le résultat d'une instabilité une fois absorbé et non d'une mauvaise absorption. Par contre, selon les études d'Anhê et al. (2013, 2014), les composés phénoliques non absorbés atteignent le côlon où ceux-ci peuvent avoir un effet prébiotique. Les anthocyanes par exemple, ont également une faible disponibilité, ont été détectées en très faible quantité dans le plasma des rats ayant consommé un extrait d'anthocyanes (Dudonné et al., 2014). Toujours selon Dudonné et al. (2014) les anthocyanes sont médiocrement disponibles en raison de la dégradation microbienne spontanée ainsi que pour leur haute sensibilité au pH.

Cependant, parmi les polyphénols les mieux absorbés, la quercétine (un flavonol retrouvé surtout dans la canneberge, l'oignon) est absorbée sous sa forme glucosidée (Hollman et al., 2011) avec une demi-vie plasmatique plus longue que la moyenne des polyphénols, soit de 11 à 28h (Manach et al., 2005 ; Dudonné et al., 2014). Chez l'homme, l'absorption maximale pour les glycosides de la quercétine : se produit 0,5-0,7 h après l'ingestion de la quercétine-4'-glucoside et de 6 à 9h après l'ingestion de la même quantité de rutine (quercétine-3 β -rutoside; Manach et al., 2005).

Une fois métabolisés, ses dérivés ont la particularité de posséder une affinité élevée pour l'albumine. La quercétine est largement distribuée dans les plantes alimentaires, présentes sous forme de glycones et de glycosides, elle circule dans le plasma sous forme conjuguée (forme glucuronidée et glucuroconjugué) et dans une moindre mesure dans la forme sulfatée. Une étude faite par Dudonné et al. (2014) indiquent la possibilité d'augmenter la

concentration des métabolites circulant en utilisant des interactions synergiques entre les composés phénoliques et ainsi augmenter la bioactivité de certains extraits de plantes en améliorant leur biodisponibilité orale.

1.7. L'oxydation de la viande : un phénomène redouté en agroalimentaire

Toutes les viandes et les poissons sont sensibles à l'oxydation. Cette oxydation débute immédiatement après l'abattage et s'accroît lorsque le muscle se transforme en viande impactant sur la fonctionnalité des protéines, des lipides et des pigments ; en somme, sur les qualités sensorielles, technologiques et nutritionnelles des viandes. Ce phénomène d'oxydation est le plus redouté en agroalimentaire parce qu'il tend à diminuer la durée de conservation de la viande et entraîne des pertes importantes pour les transformateurs de viande et les détaillants (Nattress et al., 2001 ; Wood et al., 2004). D'autant plus que le problème est encore plus grave lorsque la viande est hachée, entreposée pendant longtemps ou cuite (Lee et al., 2006). En outre, la consommation de produits dérivés de l'oxydation peut compromettre la santé humaine (Dalle Zotte et Szendro, 2011). En effet selon Chi-Tang et Wang (2013), l'accumulation des produits de dégradation des protéines et lipides sont impliqués dans la pathogenèse du diabète, des maladies neurodégénératives, du diabète et même du vieillissement normal.

Dans la viande, l'oxydation est due au stress oxydatif. Ce dernier est causé par la production d'espèces réactives de l'oxygène ERO (les radicaux libres) catalysée par les métaux de transition, comme le cuivre et surtout le fer (Gatellier et al., 2014). Selon l'auteur Gatellier (2014), plus la protection antioxydante du muscle (enzymes antioxydantes endogènes et vitamines antioxydantes apportées par l'alimentation) diminue rapidement après la mort de l'animal, plus l'impact de ces radicaux libres est fort.

1.7.1. La peroxydation des lipides : les AGPIs et leur effet sur la qualité de la viande

La peroxydation lipidique ou la lipopéroxydation est l'une des principales causes de détérioration de la qualité de la viande et des produits carnés, et génère des composés qui peuvent être préjudiciables pour la santé comme des molécules cancérigènes par exemple le malondialdéhyde (MDA), le 4-hydroxynonéal (4-HNE) et les isoprostanes (Byrne et al., 2001; Michel et al., 2008). La peroxydation de la viande est initiée dans la région

phospholipidique hautement insaturée des membranes intracellulaires. Cette fraction de phospholipides riches en acides gras polyinsaturés se dégrade en des produits d'oxydation volatils à chaînes courtes et conduit à la formation d'odeurs et de saveurs désagréables (rancissement des aliments).

L'oxydation des lipides se produit par une auto-oxydation, une photo-oxydation et lors d'une oxydation enzymatique. Cependant dans les produits alimentaires, incluant les produits carnés, le principal processus d'oxydation est l'auto-oxydation qui est catalysée par l'oxygène ou la température ambiante et initiée par des espèces réactives de l'oxygène (ERO). La photo-oxydation quant à elle, est initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs tandis que l'oxydation enzymatique l'est par la présence d'enzymes qui catalysent les réactions d'oxydation (Morales et al., 2006). Le taux d'oxydation des lipides dans les viandes fraîches et cuites est tributaire de plusieurs facteurs internes, à savoir : la teneur en matières grasses et en fer constitutif de l'hème de l'hémoglobine et de la myoglobine, ainsi que de la ferritine, la composition en acides gras et en antioxydants naturels (Morrissey et al., 1994 ; Combes et Dalle Zotte, 2005 ; Min et Ahn, 2005). Ce taux est également tributaire de l'oxydation des facteurs externes tels que la température, la lumière, la cuisson/réchauffement, les ingrédients pro-oxydants non musculaires (comme le sel), l'oxygène, l'activité de l'eau, les conditions d'entreposage, de transformation et d'emballage (Monahan, 2000).

Au cours de la conservation, la sensibilité à l'oxydation dépend de l'effet conjoint du pourcentage d'AGPIs et du fer héminique des viandes (Dalle Zotte, 2002). Pendant l'entreposage, la peroxydation lipidique est favorisée par certains facteurs, dont un pH plus acide, une teneur élevée en acides gras polyinsaturés, la présence élevée de myoglobine (qui varie selon le type de muscle) et des températures de l'ordre de 4 °C et plus (Morrissey et al., 1994). En effet, l'oxydation de la myoglobine transforme l'oxymyoglobine, qui est responsable de la couleur rouge brillant de la viande fraîche en metmyoglobine, pigment caractéristique des viandes oxydées (brune). Tandis que le processus de cuisson entraîne dans le muscle une augmentation de l'oxydation des lipides et l'apparition de saveur dite « réchauffée » dans la viande préparée et réfrigérée.

Les acides gras polyinsaturés sont très sensibles à l'attaque des radicaux libres conduisant à la production d'hydroperoxydes, qui sont responsables de la formation de sous-produits tels que des aldéhydes, des cétones et d'autres composés qui affectent négativement la qualité des aliments. La viande de lapin sur laquelle porte notre étude est sujette aux peroxydations ; ceci s'explique par le fait qu'elle contient naturellement plus d'AGPIs n-3 que les autres espèces (Mourot et al., 2011 ; Dalle zotte et Szendrő, 2011). Ces peroxydations qui se forment soit par l'action des espèces radicalaires (ERO), ou sont catalysées par des enzymes, engendrent une dégradation de la qualité nutritionnelle, mais aussi organoleptique des viandes et produits carnés. Ce phénomène se produit quand l'oxygène atmosphérique (O₂) réagit avec les acides gras insaturés (c'est-à-dire comportant des doubles liaisons carbone-carbone) et forme des espèces partiellement réduites, les ERO.

La peroxydation des lipides polyinsaturés se produit en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison (Michel et al., 2008). La première phase de la peroxydation lipidique est caractérisée par la présence des hydroperoxydes que l'on appelle les « produits primaires » de la peroxydation lipidique. Instables, ces molécules oxydées réagissent avec les constituants de l'aliment/viande et se décomposent en « produits secondaires » et « terminaux » pour former des endopéroxydes cycliques et finalement des produits terminaux volatils et non volatils stables, tels que les aldéhydes (malondialdéhyde ou MDA, 4-hydroxynonéol ou HNE) ou les isoprostanes et le 2-propéol (Michel et al., 2008 ; Dalle-Donne et al., 2006).

En agroalimentaire, Valerga et al. (2013) et Byrne et al. (2001) ont observé que l'oxydation des lipides conduit à une modification de l'aspect (décoloration), à une perte en vitamines (A, E, C, D) et de la valeur nutritive, à de mauvaises odeurs, à une altération du goût (flaveur caractéristique, rancissement) ainsi qu'à la production de composés potentiellement toxiques et cancérigènes pour la santé du consommateur. Les aliments de type viande, riches en AGPIs sont les plus affectés (Dalle Zotte et Szendrő, 2011) et subissent des modifications organoleptiques telles que la rancidité, l'acidification, la modification de la couleur avec apparition de brunissements, les dégradations biochimiques et nutritionnelles (par interaction des produits d'oxydation avec les acides aminés) de l'aliment. En effet, ils sont très sensibles à l'attaque des radicaux libres qui conduit à la production d'hydroperoxydes, qui sont responsables de la formation secondaire de sous-produits tels que les aldéhydes, les cétones

et d'autres composés (peroxydes, hydrocarbures, cétones, acides, esters ; Cillard et Cillard, 2006) qui affectent négativement la qualité des aliments (Lund et al., 2011) et aussi la texture de la viande. Cela a été corroboré par l'étude de Musella et al. (2009) qui a démontré que la peroxydation des acides gras insaturés altérerait les qualités sensorielles du porc.

Concernant les viandes cuites, les procédés thermiques peuvent aussi favoriser l'oxydation des lipides en perturbant les membranes cellulaires et en libérant des composés pro-oxydants, qui induisent " la saveur réchauffée " pendant l'entreposage réfrigéré et le réchauffage ultérieur (Sato et Hegarty, 1971). Combes et Dalle Zotte (2005) affirment que la cuisson entraîne l'oxydation partielle des AGPIs des phospholipides. L'oxydation de ces derniers est plus élevée dans les muscles oxydatifs que dans les muscles glycolytiques ; en d'autres termes, elle est d'autant plus forte que l'insaturation des AGPIs est plus élevée (Gandemer, 1998). De plus, la cuisson de la viande à haute température entraîne la formation d'amines hétérocycliques (AH, par exemple friture à une $T > 200^{\circ}\text{C}$; Vanier, 2007), des nitrosamines ($T > 130^{\circ}\text{C}$; Vendreuve, 2006), composés nocifs pour la santé du consommateur, car carcinogène (Dalle Zotte, 2002). Étant donné que la viande de lapin est généralement riche en AGPI à longue chaîne, cela peut limiter davantage la durée de conservation de la viande cuite.

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour suivre et évaluer l'état d'oxydation des lipides des produits, mais la plus utilisée est la méthode TBARS (substances réagissant à l'acide thiobarbiturique; Dawn-Linsley et al., 2005) pour les viandes et les produits transformés. Le dosage du TBARS permet d'évaluer la quantité de malondialdéhyde (MDA), un produit terminal de l'oxydation des lipides membranaires par les radicaux libres. La figure 1.5 présente la comparaison des valeurs d'oxydation de la viande de différentes espèces animales, exprimées en TBARS (en mg de MDA/kg viande; Combes et Dalle Zotte (2005). D'après les indices de TBARS de la figure 1.5, on peut noter la plus grande sensibilité de la viande de lapin à l'oxydation par rapport aux autres espèces (Combes et Dalle Zotte, 2005). Il est important de noter que des valeurs de TBARS égales ou supérieures à 5 mg MDA/kg de viande représentent le seuil pour la détection d'odeurs et de goûts désagréables pour les humains (Insausti et al., 2001).

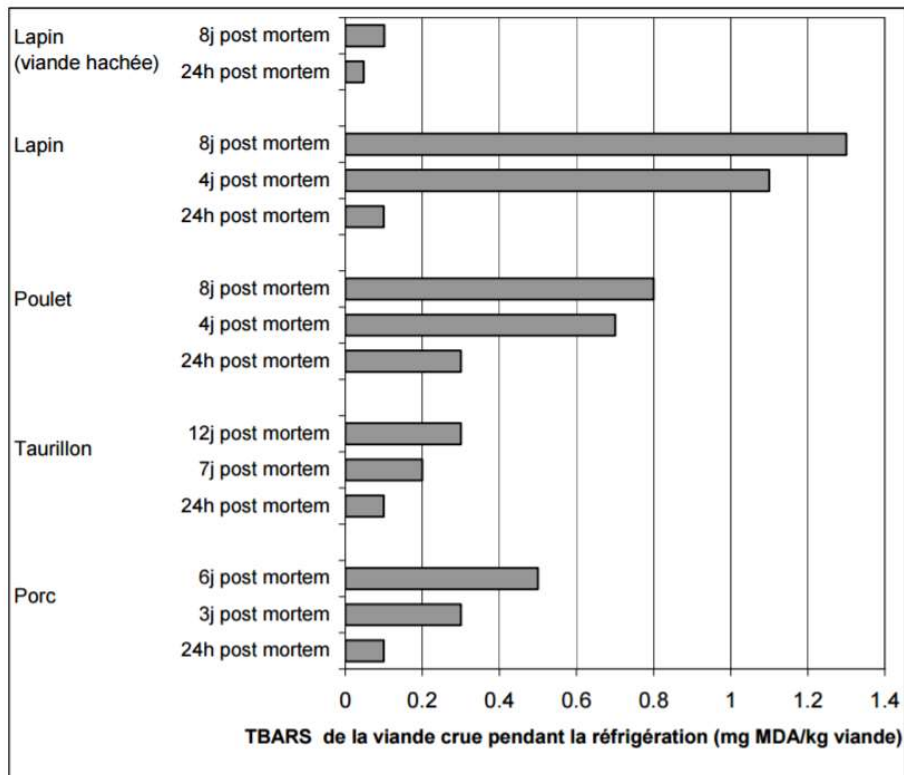


Figure 1.5. Comparaison des valeurs d'oxydation, exprimées en indice TBARS (exprimées en mg de MDA/kg muscle), de la viande de porc (muscle *Longissimus lumborum*), de taurillon (muscle *Longissimus thoracis*), de poulet (muscle *Pectoralis major*) et de lapin (muscle *Longissimus dorsi* et viande hachée). Tirée de Dalle zotte (2005).

Ainsi, la lutte contre l'oxydation des denrées alimentaires au cours de leurs transformations technologiques, de l'entreposage et de la distribution s'impose afin de maintenir la qualité des aliments et prolonger la durée de vie de tablette.

1.7.2. L'oxydation des protéines et son effet sur la qualité de la viande

L'oxydation des protéines est un facteur important pour les industriels dans la mesure où elle a un impact important sur les propriétés technologiques comme l'émulsification, la gélification ou encore l'extraction de protéines d'intérêt (Byrne et al., 2001). Les protéines sont parmi les constituants cellulaires les plus abondants et donc une cible importante du stress oxydatif. Lorsque des radicaux libres réagissent avec des protéines, plus précisément avec le groupement radical (chaîne latérale) des acides aminés, il se forme des groupements carbonyles. La formation de carbonyles est l'un des changements les plus importants dans

les protéines musculaires oxydées. Ces composés engendrent une perte de la fonctionnalité protéique et les propriétés sensorielles et nutritionnelles sont modifiées. De nombreuses études mettent en évidence l'impact des carbonyles protéiques spécifiques sur la capacité de rétention d'eau, la texture, la saveur et sa valeur nutritive des produits de viande. Selon Xiong (2000), une modification des chaînes latérales des acides aminés et de la fragmentation des protéines, affectent leur caractère hydrophobe, leur conformation, leur solubilité, et modifie leur sensibilité aux enzymes protéolytiques. En d'autres termes et d'après les travaux de Santé-Lhoutellier et al. (2008), l'oxydation des protéines de la viande conduit à une perte de biodisponibilité des acides aminés, soit par dénaturation chimique de ces composés, soit par diminution de la digestibilité des protéines. Les carbonyles et les groupes (aldéhydes et cétones) sont formés sur les chaînes latérales des protéines (en particulier avec la proline, l'arginine, la lysine et la thréonine) au cours du processus d'oxydation. Les dommages qu'ils occasionnent aux protéines sont irréversibles et les modifications oxydatives de la structure des protéines peuvent avoir un large éventail de conséquences fonctionnelles en aval, telles que l'inhibition des activités enzymatiques ou une susceptibilité accrue à la protéolyse et à l'agrégation (Lund et al., 2011). Filgueras et al. (2010) et Rowe et al. (2004) proposent également que l'oxydation des protéines puisse avoir une incidence négative sur la couleur de la viande, la tendreté (O'Sullivan et al., 2012) et la rétention d'eau (Melody et al., 2004).

Tout comme l'oxydation des lipides, plusieurs analyses peuvent être utilisées pour la détermination de l'oxydation des protéines. Les carbonyles totaux sont détectés par leur réactivité avec le 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH) pour former des hydrazones protéiques, colorés en jaune et détectable à une longueur d'onde de 370 nm (Estévez, 2011). Lors de la réaction de Maillard, première étape du brunissement enzymatique des produits alimentaires (Fu et al., 1994), des produits terminaux de la glycation de protéines (AGE), le méthylglyoxal (MGO) et le glyoxal (GO), sont formés (Lo et al., 2006). En effet, les études de Fan et al. (2010) ont rapporté que le méthylglyoxal est le produit soit de la glycolyse, soit de l'oxydation ou de l'oxydation de la thréonine, des corps cétoniques ou de l'acide ascorbique. À l'opposé, Patel et Ahmed (2015) ont démontré dans leur étude que des amines hétérocycliques et des hydrocarbures aromatiques polycycliques sont également générés par la réaction de Maillard pendant la cuisson à haute température. En fait, même si la réaction de Maillard améliore la qualité gustative (formation d'arôme), elle induit aussi des

changements de qualité nutritionnelle et l'apparition de composés indésirables dans ces aliments. Ces produits terminaux s'accumulent avec l'âge et sont hautement dangereux pour l'organisme humain, car ils sont impliqués dans l'apparition des maladies cardiovasculaires (Fan et al., 2010, Obrenovich et al., 2010, Estévez, 2011, Patel et Ahmed, 2015). Dans les industries alimentaires, ce sont des précurseurs de la modification d'arôme et de couleur qui jouent donc un rôle primordial dans la qualité des produits transformés. Certains acides aminés sont sensibles à diverses conditions entre autres au pH, à la température, à l'oxydation, à la présence de glucides réducteurs comme le lactose, le fructose et le glucose. En plus d'affecter les lipides et les protéines, l'oxydation altère également d'autres composés, dont les pigments de myoglobine. La myoglobine, sous la forme d'oxymyoglobine, est responsable de la couleur rouge-vif de la viande. Lorsque le fer ferreux (II) de l'oxymyoglobine est oxydé en fer ferrique (III), l'oxymyoglobine se transforme en metmyoglobine, modifiant la couleur de la viande à rouge brunâtre. D'un autre côté, certaines études ont démontré que l'accumulation des produits de dégradation des protéines et des lipides joue un rôle majeur sur l'apparition des maladies liées à l'âge. En effet, d'après les études de Chi-Tang et Wang (2013), les dommages oxydatifs des protéines sont impliqués dans la pathogenèse du diabète, des maladies neurodégénératives, du diabète et même du vieillissement normal.

1.7.3. Les Polyphénols en tant qu'antioxydants

L'un des principaux problèmes de l'industrie agroalimentaire est d'assurer la conservation des aliments. Les phénomènes d'oxydation sont notamment redoutés. Maîtriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité, en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences sur l'innocuité alimentaire (Marc et al., 2004). Pour les industries agroalimentaires, l'antioxydant alimentaire idéal serait facilement incorporable et efficace à faible dose, non toxique et n'entraînant ni coloration, ni odeur, ni saveur indésirable. De plus, il serait résistant aux processus technologiques et stable dans le produit fini. D'après Dalle-Zotte (2000), les antioxydants qui sont introduits dans l'alimentation des animaux, limite efficacement les processus d'oxydation. Ils permettent la maîtrise de la stabilité des lipides, des protéines et,

donc des propriétés organoleptiques des viandes, surtout dans les viandes riches en AGPIs, comme la viande de lapin (car il y a des risques accrus de peroxydation, Cannata et al., 2010).

Direct sur la viande

C'est le cas de plusieurs composés phénoliques naturels tels que les flavonoïdes et ceci est prouvé également dans les études de Park et al. (2008) ainsi que celles de Tang et Cronin (2007). Lesdites études ont rapporté l'effet inhibiteur de l'oignon sur l'oxydation des lipides lorsque celui-ci est ajouté directement sur la viande de dinde et de porc. Botsoglou et al. (2002) sont arrivés à des résultats semblables au sujet de l'ajout d'huile d'origan sur la viande de poulet crue et cuite. Il a été rapporté aussi que l'addition d'extraits de jus de canneberge directement dans la viande de dinde fraîche (Raghavan et Richards, 2006) et dans celle du porc transformé (Lee et al., 2006) diminuait l'oxydation des lipides. Un enrichissement du régime en vitamine E (puissant antioxydant) par exemple, améliore le pouvoir de rétention d'eau et donc la texture de la viande (Dalle-Zotte, 2000), et permet de réduire la peroxydation des acides gras dans le muscle (Gladine et al., 2007 ; Gobert et al., 2008).

Ces herbes et épices peuvent donc être utilisées comme ingrédient pour améliorer la durée de vie de tablette de la viande vulnérable à l'oxydation, car ils ont démontré leur activité antimicrobienne (Oussalah et al., 2007 ; Speranza et Corbo, 2010) et antioxydante (Botsoglou et al., 2002, 2003, 2004). En effet, Fratianni et al. (2010) ont démontré que l'ajout des huiles essentielles de thym et de baume à la viande fraîche de poulet entreposées pendant 3 semaines à 4°C a réduit la formation 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et réduit le taux de peroxydation des lipides. En outre, l'étude *in vitro* d'Ahn et al. (2004) suggère que des extraits naturels (notamment des extraits de pépins de raisin et d'écorce de pin) ont le potentiel d'être utilisés comme une méthode de conservation pour réduire l'oxydation des lipides sur la viande de bœuf haché.

Dans l'ensemble, l'amélioration de la stabilité oxydative s'est effectuée par l'ajout de sources naturelles d'antioxydants directement sur la viande. Cependant, lorsqu'ils sont directement appliqués sur la viande, des problèmes organoleptiques apparaissent (Oussalah et al., 2007). Selon Govaris et al. (2004); Dhama et al. (2015), les approches nutritionnelles sont souvent

plus efficaces que l'addition directe de l'additif à la viande puisque le composé est de préférence déposé là où il est le plus nécessaire.

Dans l'alimentation des animaux

L'efficacité des sources d'antioxydants a été démontrée à plusieurs reprises sur l'oxydation des lipides. En effet, il a été démontré que la supplémentation avec les polyphénols dans l'alimentation améliore la stabilité oxydative de la viande (Liu et al., 1995) et au Québec, la vitamine E est maintenant utilisée régulièrement dans l'alimentation des porcs pour améliorer la stabilité oxydative des lipides dans la viande. Les études de Mourot et al. (2011) ont observé une réduction de la peroxydation des acides gras de la viande de lapin nourris avec des polyphénols ou de la vitamine E, à cause de leur propriété antioxydante. L'application d'antioxydants naturels dans la ration des animaux est une pratique majeure pour ralentir ou inhiber le processus d'oxydation, réduire le gaspillage et améliorer la durée de vie de tablette de la viande.

Luna et al. (2010) a ajouté du thymol et du carvacrol aux régimes de poulets de chair à des niveaux de 150 mg / kg pendant 42 jours et a signalé des effets positifs sur la stabilité à l'oxydation pendant l'entreposage de la viande rouge.

1.7.4. Les Polyphénols en tant qu'antimicrobiens

In vitro

Ainsi, de nombreux extraits d'origine naturels comme les huiles essentielles de plantes, d'herbes et d'épices pourraient servir d'agents antimicrobiens contre la détérioration des aliments et des agents pathogènes (Nazzaro et al., 2013). Certains sont connus du public comme l'origan, la menthe, le romarin, l'orange, la sauge, la cannelle, la lavande, le laurier, le clou de girofle, le cumin, le fenouil, la coriandre, la menthe poivrée, le thym, la mélisse, la coriandre, le laurier, l'eucalyptus, la verveine, l'origan, le thymol, la cannelle et l'aneth dont leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes ont été démontrées dans de nombreuses études (Tsigarida et al., 2000 ; Skandamis et Nychas, 2001 ; Dzudie et al., 2004 ; Govaris et al., 2005 ; Choularia et al., 2007 ; Solomakos et al., 2008 ; Barbosa et al., 2009 ; Fratianni et al., 2010 ; Barbosa et al., 2009). Skandamis et al. (2002) ont rapporté que les HE

de clou de girofle, d'origan, de romarin, de thym et de sauge ont une activité inhibitrice élevée, en particulier contre les bactéries gram-positives, plutôt que les bactéries Gram négatifs (Marino et al., 2001).

Selon Berger (2007), les principaux constituants des huiles essentielles sont le carvacrol, le thymol, l'eugénol, l'aldéhyde cinnamique, la vanilline, le chavicol de méthyle (ou l'estragol), etc. Mais, selon les études menées par Bassolé et Juliani (2012), ce sont le carvacrol, l'eugénol, le cinnamaldéhyde, le citral ou le thymol qui ont une plus grande activité contre la croissance bactérienne. Le carvacrol et le thymol demeurent les composés actifs des HE les plus puissants (Botsoglou et al., 2002 ; Chouliara et al., 2007 ; Nazzaro et al., 2013). Dans l'étude de Gutierrez et al. (2008), toutes les combinaisons d'origan (avec basilic, de la mélisse, de la marjolaine, de l'origan, du romarin, de la sauge et du thym) ont montré une efficacité additive contre *B. cereus*, et l'origan associé à la marjolaine, au thym ou au basilic a également eu un effet additif contre *E. coli* et *P. aeruginosa* en utilisant le test spot-on-agar. Les mêmes résultats ont été observés dans cette même étude, lorsque les mélanges de marjolaine ou de thym ont également présenté des effets additifs en association avec le basilic, le romarin ou la sauge contre *L. monocytogenes*. De nombreuses études *in vitro* font état d'une efficacité élevée des HE contre les pathogènes d'origine alimentaire et les bactéries responsables de la détérioration (Burt, 2004; Oussalah et al., 2007; Gutierrez et al., 2008). L'étude de Elgayyar et al. (2001) soutient que plusieurs des huiles essentielles ont un puissant effet antimicrobien contre certains pathogènes d'origine alimentaire seulement dans une concentration de ppm (> 400 ppm). Cependant, une concentration plus élevée d'HE est nécessaire pour obtenir le même effet que dans les aliments *qu'in vitro* (Burt, 2004). Différentes huiles essentielles utilisées dans l'étude de Oussalah et al. (2007) ont inhibé la croissance de quatre bactéries pathogènes : *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* et *Staphylococcus aureus* à différentes concentrations. Plus récemment, Fei et al. (2011) a montré que les combinaisons synergiques d'HE d'origan / basilic contre *E. coli*, de basilic / bergamote contre *S. aureus*, d'origan / bergamote contre *B. subtilis* et d'origan / périlla contre *S. cerevisiae* a significativement perturbé l'intégrité des membranes cellulaires comparativement aux membranes témoins non traitées.

Direct sur la viande

Fратиани et al. (2010) a démontré que l'ajout des huiles essentielles de thym et de baume sur la viande fraîche de poulet entreposée pendant 3 semaines à 4°C a inhibé efficacement la croissance d'*E. coli* tandis que celle de baume a limité la croissance de *Salmonella* spp. Cependant, Chouliara et al. (2007) a constaté que l'ajout direct d'une combinaison d'huiles essentielles d'origan, sur la durée de conservation de la viande fraîche de poulet sous atmosphère modifiée, diminue significativement les populations microbiennes (bactéries lactiques, microorganismes aérobies totaux, *Pseudomonas* spp., levures) et l'oxydation des lipides. Des études récentes ont montré que les extraits de plantes sont utiles pour la réduction des pathogènes associés aux saucisses de Francfort (Mytle et al., 2006) ou au bœuf cuit (Ahn et al., 2007).

Une autre étude d'Ahn et al. (2004) a démontré une inhibition de la population d'*E. coli* O157: H7, de *L. monocytogenes* et de *Salmonella Typhimurium* (1,08, 1,24 et 1,33 log ufc/g, respectivement) dans le bœuf haché cru traité avec 1% d'extraits naturels des extraits de pépins de raisin après 9 jours d'entreposage réfrigéré. De plus, toujours dans cette même étude, l'utilisation d'extrait d'écorce de pin (1%) et d'oléorésine de romarin (1%) ont entraîné une réduction d'environ 1 log ufc/g dans les populations des trois pathogènes cité-ci haut après 9 jours d'entreposage.

Par ailleurs, Zhang et al. (2016) a déduit un effet synergique plus important sur les bactéries d'origine alimentaires lorsque des extraits d'épices (clous de girofle et romarin) sont combinés comparativement à l'activité individuelle de ces extraits sur la croissance microbienne sur la viande de poulet crue. C'est cette approche que Krishnan et al. (2014) ont adoptée et ont réussi à démontrer que l'addition de la combinaison d'extraits d'épices (le clou de girofle + la cannelle + l'origan) a été très efficace contre la croissance microbienne et les réactions d'oxydation sur la viande de poulet crue.

En outre, Apostolidis et al., (2008) a observé que la canneberge agit en synergie avec l'huile d'origan pour inhiber *L. monocytogenes* lorsqu'ils sont ajoutés directement à la viande de bœuf. Par ailleurs, selon les résultats obtenus par Bassolé et Juliani (2012), même si l'utilisation de combinaisons d'HE et de leurs composants est une nouvelle approche pour

accroître l'efficacité des HE dans les aliments, il faudrait tirer parti de leurs effets additifs et synergiques, mais aussi antagonismes, car selon ces derniers, certains HE ont généralement une activité antibactérienne plus élevée que les mélanges de leurs principaux composants. Le tableau 1.11 rapporte quelques exemples de combinaison d'HE sur une large gamme de bactéries ainsi que les interactions antimicrobiennes qui en découlent. La combinaison de composés phénoliques a produit des effets synergiques sur plusieurs microorganismes, en particulier, la combinaison du thymol avec le carvacrol. Par contre, la combinaison du menthol et du thymol n'a aucun effet sur aucun des microorganismes (Bassolé et Juliani, 2012).

Tableau 1.11. Combinaison des composants et des huiles essentielles ainsi que de leurs interactions antimicrobiennes contre plusieurs microorganismes.

Combinaisons	Microorganismes	Intéactions
Thymol/carvacrol	<i>S. aureus, Ps. aeruginosa</i>	Additive
	<i>E. coli</i>	Synergique
	<i>S. aureus, B. cereus, E. coli</i>	Antagoniste
	<i>S. aureus, Ps. aeruginosa</i>	Additive
	<i>E. coli</i>	Additive
Thymol/eugenol	<i>Salmonella Typhimurium</i>	Synergique
	<i>E. coli</i>	Synergique
Carvacrol/eugenol	<i>E. coli</i>	Synergique
	<i>S. aureus, B. cereus, E. coli</i>	Antagoniste
Carvacrol/Cymene	<i>B. cereus</i>	Synergique
Carvacrol/linalool	<i>L. monocytogenes</i>	Synergique
Cinnamaldehyde/Carvacrol	<i>E. coli</i>	Additive
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	Synergique
Cinnamaldehyde/Thymol	<i>E. coli</i>	Synergique
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	
Cinnamaldehyde/Eugeno	<i>Staphylococcus spp.</i> ,	Additive
	<i>Micrococcus spp., Bacillus spp.</i> ,	
	<i>Enterobacter spp.</i>	

Modifié de Bassolé et Juliani, 2012

Toutefois, il importe de mentionner que si les huiles essentielles doivent être plus largement appliquées comme antimicrobiens dans les aliments, la saveur est à considérer (Oussalah et al., 2007).

D'après les études pilotées par Daglia (2012), certains acides phénoliques (acide gallique, caféique et férulique) ont des propriétés antibactériennes contre *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* et *P. aeruginosa*. Par exemple, les proanthocyanidines de la canneberge ont un spectre

très large sur les bactéries pathogènes à Gram négatif (*E. coli*, *Salmonella typhimurium*) et à Gram positif (*Enterococcus faecalis*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* et *Bacillus subtilis*, Tableau 1.12). Ainsi, l'activité antimicrobienne des épices et des herbes a été largement étudiée et n'est plus à démontrer selon Velasco et Williams (2011).

Contrairement aux viandes de bœuf, de porc et de volaille, le traitement industriel de la viande de lapin est encore peu développé, ce qui limite l'intérêt scientifique pour l'évaluation des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles et des extraits de nombreuses plantes (origan, sauge, thym, romarin, etc.) directement dans le produit (Dalle Zotte et Szendrő, 2011). Aujourd'hui, l'industrie de la viande de lapin aura un plus grand intérêt dans le traitement de la viande si on utilise des extraits naturels avec des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes.

Tableau 1.12. Classes de quelques polyphénols et des microorganismes qui leur sont sensibles. tiré de Daglia (2012)

Polyphénols	Propriétés
Flavan-3-ol et Flavonol	antivirale (<i>Adenovirus</i> , <i>Enterovirus</i> ...) antibactérienne (<i>Candida albicans</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> ...) antifongique (<i>Cl. perfringens</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>C. jejuni</i> ...)
Tannins condensés	antibactérienne (<i>S. mutans</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>) antivirale (<i>Influenza à virus</i> , <i>Herpès type 1</i>)
Tannins hydrolysables	antibactérienne (<i>Salmonella</i> , <i>Staphylocoque</i> , <i>E. coli</i> , <i>Listéria spp</i> , <i>Clostridium</i> ...) antivirale (<i>Virus de l'herpès 1 et 2</i> , <i>Virus d'Epstein-Barr</i>) antifongique (<i>Candida parapsilosis</i>)
Acides phénoliques	antibactérienne (<i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> ...)
Néolignanes	antibactérienne (différentes souches de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>)

Tiré de Daglia (2012)

Daglia (2012) démontre également dans son étude que la canneberge a des effets inhibiteurs sur le développement de *Staphylococcus aureus* et *E. coli* sur la viande en général. D'ailleurs, les travaux de Park et al. (2008) ont conclu que l'ajout d'oignon et d'ail à la viande de porc a inhibé la croissance des bactéries totales et des entérobactéries mesurées sur l'estomac et la longe de porc réfrigéré.

Direct dans l'alimentation

De toutes ces études qui foisonnent, il en existe très peu à ce jour qui ont testé l'enrichissement de la moulée avec des huiles essentielles et d'extraits de végétaux riches en composés actifs sur la qualité oxydative et microbienne de la viande de lapin. Pourtant, selon certaines études (Mitsumoto et al., 1993 ; Lahucky et al., 2010), la supplémentation est une stratégie simple, pratique et plus efficace contrairement à l'addition directe sur la viande et son action est immédiate lors de l'exposition à la surface de l'air. Selon Džinić et al. (2015), les approches nutritionnelles sont souvent plus efficaces que l'addition directe de l'additif à la viande parce que le composé est de préférence déposé là où il est le plus nécessaire. En utilisant cette stratégie alimentaire, Fortier et al. (2012) ont amélioré la qualité microbienne de la viande de porc grâce à une ration supplémentée d'huile d'origan et de pulpe de canneberge. De même, Soutos et al. (2009) a démontré que l'ajout d'huile d'origan à l'alimentation des lapins, a réduit les comptes des aérobies mésophiles totaux, de *Pseudomonas* spp. et d'*Enterobacteriaceae* sur la carcasse après 12 jours de réfrigération sous conditions aérobies. Un régime supplémenté en huiles essentielles d'origan semble également exercer une activité cocciostatique contre *Eimeria tenella* chez le poulet comme l'a démontré les études de Giannenas et al. (2003). Une autre étude menée par Govaris et al. (2005) a également démontré que l'incorporation d'huile essentielle d'origan dans l'alimentation des dindons a exercé un effet inhibiteur sur la croissance des microorganismes des filets de poitrine pendant l'entreposage réfrigéré.

Force est de reconnaître que de nombreuses informations sont disponibles sur la composition des carcasses de lapins, mais les données sur la contamination microbologique demeurent rares. Il y'a donc moins d'articles qui traitent des effets de la supplémentation d'extraits de végétaux et d'huiles essentielles sur la qualité microbologique comparativement à la qualité oxydative de la viande de lapin. Soutos et al. (2009) est pratiquement le seul qui a traité de ce sujet chez le lapin.

Il est donc difficile de tirer des conclusions quant à l'effet de l'ajout d'extraits de végétaux dans l'alimentation des animaux sur la qualité microbologique de la viande de lapin. Toutefois, comme pour l'oxydation dans la ration fonctionne et est efficace si ajouté dans l'alimentation que sur la viande directement, il y a lieu de penser que ce sera similaire pour l'effet antimicrobien.

De cette revue de littérature, il ressort que les microorganismes sont omniprésents et selon l'auteur Saucier (2016), on peut faire de la « gestion de la microflore » qui consiste à garder le type et la quantité de microorganismes appropriés à un moment spécifique pendant l'entreposage. En tirant profit des différents spécificités de certains microorganismes, on peut trouver une alternative idéale et sûre, pour les producteurs afin d'assurer l'innocuité de la viande de lapin et augmenter la durée de vie de tablette des produits.

Chapitre 2: Problématique, objectifs et hypothèses de recherche

2.1. Problématique

Tel que mentionné en introduction, le lapin est une production marginale au Québec et son développement ne peut être assuré que si nos éleveurs produisent de la viande de qualité. Au Canada, il n'y a pas d'antibiotiques d'homologués pour le lapin et par conséquent les normes de biosécurité en élevage sont très élevées pour arriver à contrôler les maladies dans les élevages. De plus, le consommateur d'aujourd'hui est friand d'expérience nouvelle, toujours à l'affût de nouveauté gustative. Cependant, en dépit des mesures d'hygiène rigoureuses, la surface des carcasses se contamine au contact de son environnement incluant les organismes provenant du système gastro-intestinal de l'animal. De plus, la viande de lapin est susceptible à l'oxydation de par sa grande richesse en acide gras polyinsaturés (AGPIs).

Au vu de la littérature, les composés antimicrobiens naturels sont de plus en plus testés dans la viande et dans l'alimentation animale dans le but d'améliorer la qualité microbiologique et oxydative des produits carnés. Ainsi, les recherches menées au cours de cette thèse visent à développer des stratégies alimentaires simples, sans investissement majeur pour le producteur, afin d'optimiser la qualité de la viande de lapin produite au Québec. Même si aujourd'hui, le marché cunicole est volatil et peu stable, une meilleure durée de conservation favorisera l'exportation qui ne peut que contribuer à améliorer la balance commerciale de l'industrie, mais aussi celle du pays.

2.2. Hypothèse

L'addition d'une alimentation riche en polyphénols (extraits de végétaux et d'huiles essentielles) ou d'une culture protectrice peut contrôler positivement le développement de la flore microbienne de la carcasse de lapin, mais aussi la stabilité oxydative lors de l'entreposage de la viande de lapin.

2.3. Objectifs

2.3.1. Objectif général

L'objectif premier de cette thèse est d'aider les producteurs de lapin du Québec à exprimer son plein potentiel en termes de qualité en développant de nouvelles stratégies nutritionnelles, et ce sans investissement majeur pour les producteurs.

2.3.2. Objectifs spécifiques

Pour valider l'hypothèse présentée ci-dessus, le plan de travail de cette thèse s'est déroulé à travers différentes stratégies alimentaires visant à améliorer la qualité microbiologique de la viande de lapin :

- ✓ Évaluer l'efficacité de l'ajout de polyphénols de sources naturelles (oignon, fraise, canneberge et huiles essentielles) sur les performances zootechniques, mais surtout sur la qualité microbiologique et oxydative de la viande de lapin, lorsque ce dernier est administré dans l'alimentation des animaux à une concentration de 10 ppm d'ingrédients actifs.
- ✓ Déterminer l'effet antimicrobien et antioxydant d'une combinaison d'extraits de végétaux et d'huiles essentielles, et ce à des doses élevées (500 à 1000 ppm) à l'alimentation des animaux pour contrôler la qualité microbienne de la viande de lapin
- ✓ Évaluer l'effet d'une alimentation riche en une culture protectrice commerciale Micocin® sur la microflore de la carcasse et celle de la viande.
- ✓ Et en évaluer son effet antilistériel lorsque cinq souches de *Listeria monocytogenes* sont inoculées expérimentalement dans la viande de lapin.

Chapitre 3: Effects of plant extracts and essential oils as feed supplements on quality and microbial traits of rabbit meat

Publié dans World Rabbit Sci. 2016, 24: 107-119. Doi :10.4995/wrs.2016.3665

L'altération (microbienne et oxydative) de la viande en général peut être contrôlée par de nombreux additifs de synthèse, mais la résistance croissante des consommateurs vis-à-vis de ces additifs est un problème qui a poussé la recherche sur l'identification de nouveaux composés naturels, qui ne laissent ni résidus dans le produit ou dans l'environnement tout en augmentant la durée de vie de tablette des viandes et des produits carnés. Pour cette raison, des extraits de plantes et d'huiles essentielles sont considérés comme l'une des alternatives les plus prometteuses, compte tenu de leurs activités antimicrobiennes et oxydatives principalement. Pour cette raison, l'utilisation d'extraits de végétaux et d'huiles essentielles à 10 ppm d'ingrédients actifs (faible dose) sur la qualité de la carcasse de lapin a été évaluée. Le choix de la dose vise à apporter une dose comparable de polyphénols entre la dose homologuée d'huiles essentielles (France) et celle d'extraits de plantes. Ainsi, ce chapitre présente les résultats d'une étude visant à quantifier l'effet d'une ration supplémentée en extraits de canneberge, fraise, oignon et d'huiles essentielles, riches en polyphénols sur l'amélioration de la qualité microbienne et oxydative de la viande de lapin.

Les résultats ont été présentés sous forme d'affiche à la journée de la recherche de la Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval, 26 novembre, Québec, Qc. A.P. Koné, D. Cinq-Mars, Y. Desjardins, F. Guay, A. Gosselin, et L. Saucier. 2013. Effets de l'ajout d'extrait d'oignon, de fraise, de marc de canneberge et d'huiles essentielles sur la qualité microbiologique de la viande de lapin.

Les résultats préliminaires de cette étude ont été, également, présentés sous forme d'affiche au 94^{ème} symposium annuel de l'Association Scientifique canadienne de la Viande (ASCV), tenu du 7 au 9 Mai 2014 à Toronto. De plus, le résumé a été publié dans la revue Meat Science : Improvement of rabbit meat microbial quality by feed supplementation with natural sources of polyphenols. A.P. Koné, D. Cinq-Mars, Y. Desjardins, F. Guay, A. Gosselin, et L. Saucier. Meat science 99 (2015) :145.

Contributions des auteurs :

Amenan Prisca Nadège Koné (candidat au Ph. D.): mise en place du protocole, planification des expériences, collecte, analyse et interprétation des données, préparation du manuscrit.

Prof. Linda Saucier et Prof. Frédéric Guay (Directrice de recherche, auteure de correspondance et co-auteur): participation à la mise en place du protocole, révision et correction du manuscrit. De plus, les analyses statistiques ont été réalisées avec l'aide du Prof. Guay.

Prof. Dany Cinq-Mars, Prof. Yves Desjardins et Prof. André Gosselin (collaborateurs) : collaboration dans la mise en place du protocole et la révision du manuscrit. Drs Desjardins et Gosselin sont les spécialistes en phytologie sur le projet.

Effects of plant extracts and essential oils as feed supplements on quality and microbial traits of rabbit meat

Koné A.P.^{†*}, Cinq-Mars D.[‡], Desjardins Y.^{*†}, Guay F.[‡], Gosselin A.^{*†}, Saucier L.^{‡*}

[‡]Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Food Science, Université Laval, Quebec City, Quebec, Canada G1V 0A6.

^{*}Institute of Nutrition and Functional Foods, Université Laval, Quebec City, Quebec, Canada G1V 0A6.

[†]Department of Plant Science, Université Laval, Quebec City, Quebec, Canada G1V 0A6.

*Corresponding author: Université Laval, Québec, (QC), Canada, G1V 0A6

Téléphone: 418-656-2131 #6295

Fax: 418-656-3766

E-mail: linda.saucier@fsaa.ulaval.ca

3.1. Résumé

Les effets de la supplémentation de la ration des lapins avec des extraits d'oignons, de canneberges, de fraises et des huiles essentielles sur la qualité de la viande ont été analysés. Cinq groupes de quarante-huit lapines Grimaud sevrées ont reçu la ration supplémentée ou une ration témoin; l'unité expérimentale était une cage de six lapins. Chaque régime expérimental contenait 10 ppm d'ingrédients actifs ajoutés. Les lapins ont été nourris avec les régimes expérimentaux pendant 4 semaines et les performances de croissance caractéristiques d'abattage ont été déterminées. Le pH a été mesuré 1 et 24 h *post mortem* (pHu) sur les muscles *Longissimus dorsi* (LD) et *Biceps femoris*, gauche et droit. On a mesuré également les pertes à la cuisson, la perte en eau et la couleur (L*, a* et b*) du LD droite et ainsi que le statut oxydatif des gras et des protéines après l'abattage (TBARS, DNPH, Folin ciocalteu). Seul le pHu du muscle LD pour le groupe supplémenté avec l'extrait de fraise était significativement plus faible que le groupe témoin (P=0,04). Cependant, nous notons que pour la moyenne de pHu du muscle LD, était inférieure à 6 pour la viande des animaux ayant reçu un régime enrichi en polyphénols, par rapport au groupe témoin. La supplémentation en extrait végétal n'a pas influencé la qualité de la viande, les performances zootechniques ou la stabilité à l'oxydation. Sous conditions aérobies et anaérobies, nos résultats indiquent que la supplémentation du régime alimentaire avec des extraits riches en polyphénols, en particulier avec des huiles essentielles, a un effet positif faible, et sporadique sur la microflore bactérienne par rapport au groupe témoin ($P < 0,05$). En conclusion, les extraits de plantes et les huiles essentielles peuvent être utilisés dans l'alimentation des lapins sans effets néfastes sur les performances et les caractéristiques de qualité de la viande. Cet effet sera optimisé en recherchant des doses plus élevées.

Mots clés: huiles essentielles; extrait végétal; polyphénol; viande de lapin; durée de conservation.

3.2. Abstract

The effects of dietary supplementation of onion, cranberry and strawberry extracts and essential oils on meat quality were analysed. Five groups of forty-eight Grimaud female weaned rabbits received the supplemented or the control ration; the experimental unit was a cage of six rabbits. Each experimental diet contained 10 ppm of added active ingredients. Rabbits were fed with the experimental diets for 4 weeks before determining slaughter and carcass traits and determining the pH at 1 and 24 h post mortem (pHu) of the Longissimus dorsi (LD) and the Biceps femoris muscle, left and right, respectively. Cooking loss, drip loss and L*, a* and b* color parameters were obtained of the right LD and for ground meat and antioxidant status (TBARS, DNPH, Folin ciocalteu) was measured. Only the pHu of the LD muscle for the strawberry supplemented group was significantly lower when compared to the control group ($P = 0.04$). However, we note that for the LD, the average was less than 6 for the meat of animals who received a diet enriched in polyphenols, compared to the control group. Plant extract supplementation did not influence meat quality traits, growth performance or oxidative stability. But under aerobic and anaerobic conditions, our results indicate that diet supplementation with extracts rich in polyphenols, especially with essential oils, had a small but sporadic positive effect on bacterial microflora compared to the control group ($P < 0.05$). In conclusion, plant extracts and essential oils can be used in a rabbit diet without adverse effects on performance and meat quality traits. This effect will be optimized by investigating higher doses.

Key words: essential oils; plant extract; polyphenol; rabbit meat; shelf life.

3.3. Introduction

According to 2002 data, rabbit meat production is particularly developed in the Mediterranean countries of the EU, such as in France, with a consumption of 1.5 kg per person per year (Magdelaine, 2003), whereas other countries, such as the USA, only consume 0.02 kg per person per year (Cliche, 2010). In Canada, rabbit meat consumption per capita in 2013 was 0.024 kg (AAFC, 2012).

Rabbit meat is low in calories, high in protein and very rich in polyunsaturated fatty acids compared to other meats (Combes, 2004). Although the high concentration of polyunsaturated fat in rabbit meat is a nutritional advantage (ratio omega 6/omega-3=5.9; Combes, 2004), it makes the meat particularly sensitive to lipid oxidation and affects meat appearance and flavour. Its ultimate pH (pHu) is particularly high, compared to other meats, such as beef and pork (5.5-5.7), which makes it more prone to bacterial growth and spoilage (Jolley, 1990; Faucitano et al., 2010). According to Blasco and Piles (1990), the pHu greatly influences meat quality and microbial growth, impacting the risk of foodborne infection. As reported in a number of studies, susceptibility to microbial growth is higher in carcasses with higher pH values ($\text{pH} > 6$), resulting in Dark, Firm and Dry (DFD) meat (review by Faucitano et al., 2010).

The occurrence of foodborne illness is increasing in industrialized countries (King et al., 2000). In Canada, Thomas et al. (2008) estimated the number of foodborne illness cases to be 11 million with an estimated annual cost of \$3.7 billion (CDN). Hence, microbiological food safety continues to be a major concern for consumers, industries and governments (Sofos and Geornaras, 2010), and meat safety remains an important consideration since meat is the most commonly incriminated food representing 32.1% of reported cases of foodborne illnesses in Quebec (DGSAIA, 2012).

For these reasons, it is important to find effective solutions to produce safer meat. Some strategies include the addition of synthetic products to the meat, such as nitrates, phosphate, lactate, acetate and sodium diacetate. Other strategies, including the use of natural preservatives, have been of great interest to the meat industry in response to the growing consumer demand for food products without artificial preservatives. Many small fruits like

cranberry and strawberry contain large amounts of phenolic compounds. Cranberry is very rich in proanthocyanidins, which have inhibitory effects on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* growth in meat (Daglia, 2012). Exogenous addition of cranberry powder to fresh turkey meat (Raghavan and Richards, 2006) and minced pork meat (Lee et al., 2006) also decreased lipid oxidation. Studies on beef confirmed the efficacy of an onion extract dietary supplement in reducing microbial contamination (Reyhan and Mikail, 2010). Essential oils extracted from various spices and herbs were successfully used in animal feed to increase the oxidative stability of meat (Botsoglou et al., 2002, 2003, 2004). Soultos et al. (2009) demonstrated that adding oregano oil to the diet of rabbits reduced total mesophilic aerobes, *Pseudomonas* spp. and *Enterobacteriaceae* after 12 days of storage under aerobic conditions, and Fortier et al. (2012) obtained similar results with pigs.

In order to improve rabbit meat quality and shelf life, we examined the effects of feed supplementation with essential oils or onion, strawberry or cranberry extracts on carcass microbial contamination as well as meat quality and oxidation stability.

3.4. Materials and methods

3.4.1. Animal management and alimentation

Experimental design and animal handling procedures were approved by the Animal Use and Care Committee of Université Laval, which strictly adheres to the Guidelines of the Canadian Council on Animal Care (CCAC, 2009). A total of 240, 35-day-old, weaned, female Grimaud breed rabbits were obtained from a commercial farm (Laprodéo, Saint-Tite, Quebec, Canada) and were maintained in conventional commercial cages. Rabbits were placed six per cage and the cage constituted the experimental unit. Eight cages were analyzed per experimental group. Upon arrival, the animals were acclimatized to their new environment and received a control diet, followed by four weeks on the experimental feed (Table 3.1). A group without supplement served as the control group (commercial feed) and four experimental groups received a supplement of essential oils (Xtract™ Instant, Pancosma SA, Geneva, Switzerland), or onion, strawberry or cranberry extract (Nutra Canada Inc., Champlain, Québec, Canada). The level of Xtract (10 ppm of active ingredients) was added according to supplier recommendations to promote a healthy rabbit digestive system. It contains thyme oil, trans-anethole, thymol, eugenol, cinnamaldehyde, capsicum oleoresin, arabic gum and

maltodextrins. The other groups were supplemented at the same level (10 ppm of total polyphenol) based on the content of total polyphenols measured by the Folin-Ciocalteu method according to Waterhouse (2003). Supplement was mixed directly with the other feed ingredients prior to pelleting at 60°C and cooling at 16°C within 2.5 min. Feed was manufactured in a commercial facility in separate 600 kg batches (Belisle Solution Nutrition, St-Mathias-sur-Richelieu, Quebec, Canada).

Tableau 3.1. Nutritional values and composition^a of the commercial and experimental diets.

Ingredients	
Crude protein (min) %	16.8
Crude fat matter (min)%	4.37
ADF (max)%	24.4
NDF (max)%	33.0
Crude fiber (max) %	18.1
Calcium (real)%	0.99
Phosphorous (real) %	0.48
Sodium (real) %	0.30
Vitamin A (min) UI/kg	5542
Vitamin D (min) UI/kg	755
Vitamin E (min) UI/kg	35.0
Added Selenium mg/kg	0.10
Extracts of active ingredients (%)	0.001

^a**Composition:** Alfalfa, beet pulp, wheat, soybean meal, canola meal, corn gluten feed, molasses, mineral and vitamin premix.

The animals were fed *ad libitum*. They were weighed and the feed intake was measured weekly during the experimental period to determine the body weight (BW), the average daily weight gain (ADG), the average daily feed intake (ADFI) and the feed conversion ratio (FCR). The animals were slaughtered at an average weight of 3067 ± 258 g. They were fasted 20 h before slaughter, including transport and lairage time, according to the current commercial practices to reduce transport-related sickness. They had access to water at all times prior to transport. The length of transport to the abattoir was 5 h with a third of the distance consisting of rural roads. The animals were slaughtered in a federally inspected establishment according to the Canadian Food Inspection Agency rules and the Meat Hygiene Manual of Procedures.

3.4.2. Meat quality measurement

The muscular pH of the BF and the LD muscles were measured post mortem after 1 (pH1) and 24 h (pHu; Blasco and Ouhayoun, 1996) using a portable pH meter (ROSS, Orion Star

A221, Thermo Scientific, Beverly, CA, USA) combined with an Orion Kniphe pH electrode (ThermoFisher, Nepean, ON, Canada) and a temperature compensation probe (928 007 MD, micro probes ATC, Maryland, USA). Meat color was evaluated 24 h after slaughter on the LD and the exposed surface of the BF using a Chromameter (Chromameter CR 300 Minolta Ltd., Osaka, Japan) equipped with a D65 light source and a 0° viewing angle geometry according to the reflectance coordinates (L*, a*, b*; CIE, 2004), after exposing the muscle surface for 20 min blooming time (Faucitano *et al.*, 2010). The drip loss was measured on a piece of LD (about 2 cm thick x 2.5 cm in diameter, from the front part of the carcass) by weight difference, according to the EZ - Driploss method (Rasmussen and Anderson, 1996), where samples are stored at 4°C for 48 hours. The meat exudate lost (%) during cold storage was also measured by weight difference of the thighs upon microbial analysis. The cooking loss was also determined on a similar piece of LD muscle (Pla, 1999) and is expressed as a percentage of the initial weight loss. Each sample was placed into an 18-oz Whirl-Pak bag (Nasco Whirl- Pak®, USA) and immersed in a water bath at 70°C for 15 minutes after removing the air from the bag. The samples were then removed from the bag, patted dry with filter paper and weighed (Vergara *et al.*, 2005; Apata *et al.*, 2012).

3.4.3. Muscle Sampling

One leg per animal was packaged aerobically in a styrofoam tray (14w X 24l X 4.5h cm) with an absorbent pad, sealed with an oxygen-permeable polyethylene film (35 ga; oxygen transmission 825 cc/100 sq. in. per 24 h at 23°C; water vapor transmission rate 24 g/100 sq. in. per 24 h at 38°C and 90% RH) obtained from a local food equipment distributor (Emballage L. Boucher, Quebec, QC, Canada) and stored at 4°C for 0, 5, 10 or 15 days. The other leg was vacuum packaged (Sipromac, St-Germain, QC, Canada) in bags (nylon (23%) and polyethylene (77%; seven multilayers) of 300 ga; oxygen transmission 3.3 cc/100 sq. in. per 24 h at 23°C; water vapor transmission rate 0.5g/100 sq. in. per 24 h at 38°C and 90% RH; Sealed Air Co, Mississauga, ON, Canada) and stored also at 4°C for 0, 15, 30 or 45 days. The rest of the carcass was deboned and the meat was ground and stored at -30°C (Electric meat Grinder, No RE50255, IPNO IPXI, China).

3.4.4. Microbial Analysis

For microbial enumeration of the thighs, a sampling procedure similar to the one described by Brichta-Harhay et al. (2007) for whole poultry carcasses was used. One leg from the rabbits (6) coming from the same cage (our experimental unit; 8 cages for each experimental group) was randomly taken at each sampling time. Each cage was sampled at every sampling time and conditions (aerobic and anaerobic). Thigh was aseptically placed in a sterile Stomacher bag (Stomacher® 400C, Seward Laboratory Systems Inc., London, UK), weighted (see details on meat exudate lost during cold storage above) and sealed after addition of 300 ml of 0.1% (wt/vol) peptone water (Bacto peptone, Difco Laboratories, Inc., Detroit, MI, USA). The bag was placed on a rotary shaker (Boeckel Scientific Orbitron Rotator II, model 260250, New York, USA) for one minute on each side. The samples were then manually massaged for 30-sec to remove microorganisms from the surface. Ten-fold dilutions were done in 0.1% peptone water for enumeration on appropriate agar plates (Saucier et al., 2000). Total Aerobic Mesophilic (TAM) counts were performed on Plate Count Agar medium (PCA; Difco Laboratories Inc.) incubated at 35°C for 48 h (MFHPB-18, Health Canada, 2001). Presumptive Lactic Acid Bacteria (LAB) were enumerated on deMan, Rogosa and Sharp (MRS; Difco Laboratories Inc.; Saucier et al., 2000) and the plates were incubated anaerobically for 48 h at 25°C using anaerobic jars with an envelope generator of H₂ and CO₂ (AnaeroGen™2.5L, AN0025A, Oxoid Company, Nepean, ON, Canada). Presumptive *Pseudomonas* spp. were determined on Heart Infusion Broth agar (Difco Laboratories Inc.) after adding a Cetrimide-Fucidin-Cephalosporin supplement (Oxoid, No.SR0103E) and plates were incubated at 25°C for 48 h (Mead and Adams, 1977; Gill and Greer, 1993). Coliforms and *E. coli* counts were determined using 3M Petrifilm™ plates after incubating at 35°C for 18-24 h (MFHPB-34, Health Canada, 2013). Presumptive *S. aureus* were evaluated on 3M Petrifilm™ plates and incubated at 37°C for 26 h (MFLP-21, Health Canada, 2004). *Enterobacteriaceae* counts were performed on 3M Petrifilm™ (MFLP-09, Health Canada, 2007) and incubated at 37°C for 24 h. Measurements were performed in duplicate and all bacterial counts were transformed to a log₁₀ value of colony forming units per gram of thigh weight (log₁₀ CFU/g) prior to statistical analysis according to Gill (2000).

3.4.5. Proximate analysis

Ground meat samples (100 g) were lyophilized (Model 6203-3005-OL, Virtis Co., Gardiner, NY, USA) for 7 days. The fat content was measured using a Soxtec system (Soxtec system HT 1043 Tecator, Hoganas, Sweden) using procedure 991.36 of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995). Total protein was quantified using procedure 992.15 of the AOAC (1995) with a LECO[®] protein analyzer (model FP-2000, Leco Corp., St. Joseph, MO, USA). The results are expressed on the basis of wet weight and the analyses were performed in triplicate.

3.4.6. Determination of muscle antioxidant status

Lipid oxidation. Products of lipid oxidation were measured in minced meat, quantitated using the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) method and are expressed as malondialdehyde (MDA) equivalents according to the method of Ermis et al. (2005) with the following modifications. Briefly, 10 g of minced meat was homogenized with 10 ml of Phosphate Buffered Saline solution (PBS, Sigma-Aldrich, St-Louis, MO, USA). After centrifugation (3000×g, 4°C, 15 min), 12.5 µl of butylated hydroxytoluene (BHT) solution was added to 500µl of supernatant and vortexed. Then, 250 µl of trichloroacetic acid (TCA) was added to the mixture and placed on ice for 30 min. After centrifugation, (3000×g, 4°C, 10 min), 500 µl of the supernatant was added to 37.5 µl of EDTA (ethylenediaminetetraacetic) and 125 µl of thiobarbituric acid in 0.05N NaOH followed by 15 min in boiling water (100°C) to allow the color reaction to develop. After heating, the samples were cooled and centrifuged for 10 min at 3000×g and 4°C. Absorbance (100 µl) was measured at 530 nm using a spectrophotometer (Varioskan[™], Microplate instrumentation Thermo Electron Corporation, Vantaa, Finland). The results were expressed as nanomoles of MDA per g of meat. Measures were performed in triplicate for each meat sample.

Total phenol content. Total phenol content was measured using the method of Jang et al. (2008). Each meat sample (5 g) was homogenized in distilled water (15 ml) and chloroform (9 ml), then centrifuged at 3000×g for 5 min at room temperature (21°C). Chloroform was added to remove the lipids. The total phenol content in the aqueous supernatant was estimated by the Folin-Ciocalteu method (Subramanian et al., 1965). A 1 ml aliquot of diluted sample

(1:4, v/v) was added to 500 ml of 2N Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA) followed by the addition of 1 ml of NaCO₃ (10%). Reaction mixture was vortexed and the absorbance was measured with a spectrophotometer (Varioskan™) at 700 nm after incubating for 1 hour at room temperature (21°C). Quantification was based on a standard curve generated with gallic acid. All measurements were performed in triplicate.

Carbonyl content measurement. Protein carbonyl groups were evaluated on 5 g of ground meat using an assay kit from Cayman Chemical Company (Item No.10005020, Ann Arbor, MI, USA). Nucleic acids were removed according to the manufacturer's instructions. Absorbance was measured at 370 nm (Varioskan™) and the results are expressed as nanomoles of 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) fixed per mg of protein. All measurements were performed in triplicate.

3.4.7. Statistical analysis

To determine whether treatment, time, and their interactions had an effect on the microbiological analysis, data were analyzed by an analysis of variance (ANOVA) using the MIXED procedure of SAS software. The five treatments were analyzed independently to determine the overall effect of supplementation with plant extracts (onion, cranberry, and strawberry) and essentials oils versus the control treatment. For these analyses, the storage time under aerobic (0, 5, 10 or 15d) and anaerobic conditions (0, 15, 30 or 45d) was taken into consideration (SAS Institute Inc., 2002). Logistic regression models, using the GLIMMIX procedure, were used to evaluate the effect of dietary treatments on the presence or absence of coliforms, *E. coli*, presumptive *S. aureus* and *Enterobacteriaceae*, in both anaerobic and aerobic storage conditions. Frequency distributions for coliforms, *E. coli*, presumptive *S. aureus* and *Enterobacteriaceae* were obtained with FREQ procedure. Significant difference was declared at $P < 0.05$ and a tendency was declared at $P < 0.10$.

3.5. Results

3.5.1. Growth performance

The effect of dietary supplementation with plant extracts and essential oils on the rabbits' growth performance is presented in Table 3.2. Overall, there was no significant difference between the control and the experimental groups except for the feed conversion ratio with

cranberry supplementation on week four ($P = 0.050$), whereas a trend was observed ($P = 0.065$) for the strawberry supplemented group. Other trends ($P < 0.10$) were also observed. By week 2, body weight of the group supplemented with strawberry extract tended to be higher than the control group ($P = 0.097$). On week 3, the average daily gain for the group supplemented with essential oils tended to be higher than the control ($P = 0.088$) and by week four, the average daily gain for the group supplemented with cranberry ($P = 0.071$) and strawberry extract ($P = 0.077$) tended to be higher than the control group. Overall, during the whole feeding period, growth was similar for all experimental groups as slaughter weight was not significantly different.

Tableau 3.2. Growth performance of weaned rabbits fed experimental diets.

	Control	Essential oils	Cranberry	Onion	Strawberry	SEM	CTL vs EO ^a	CTL vs C ^b	CTL vs O ^c	CTL vs S ^d
							P-value			
Initial BW (g)	1698	1736	1719	1745	1729	36	NS	NS	NS	NS
Week 1										
BW on d7 (g)	2115	2177	2181	2141	2160	32	NS	NS	NS	NS
ADG, (g/d)	59.6	63.1	66.1	56.6	61.4	13.1	NS	NS	NS	NS
ADFI, (g/d)	178	172	176	178	187	12	NS	NS	NS	NS
FCR	0.332	0.368	0.376	0.320	0.345	0.059	NS	NS	NS	NS
Week 2										
BW on d14 (g)	2437	2450	2505	2455	2534	41	NS	NS	NS	<u>0.097</u>
ADG, (g/d)	45.9	44.9	46.3	44.9	47.5	3.5	NS	NS	NS	NS
ADFI, (g/d)	175	170	175	183	186	9	NS	NS	NS	NS
FCR	0.264	0.265	0.263	0.247	0.258	0.015	NS	NS	NS	NS
Week 3										
BW on d21 (g)	2729	2780	2792	2757	2827	46	NS	NS	NS	NS
ADG, (g/d)	41.7	47.1	40.9	43.1	41.7	2.2	<u>0.088</u>	NS	NS	NS
ADFI, (g/d)	176	180	178	182	181	8	NS	NS	NS	NS
FCR	0.238	0.264	0.230	0.241	0.232	0.015	NS	NS	NS	NS
Week 4										
BW on d28 (g)	3046	3101	3062	3032	3098	48	NS	NS	NS	NS
ADG, (g/d)	45.3	45.7	38.6	39.3	38.7	2.5	NS	<u>0.071</u>	NS	<u>0.077</u>
ADFI, (g/d)	151	157	155	148	153	6	NS	NS	NS	NS
FCR	0.297	0.291	0.251	0.266	0.253	0.023	NS	0.050	NS	<u>0.065</u>
Global										
ADG, (g/d)	48.1	50.1	47.9	45.9	47.4	4.3	NS	NS	NS	NS
ADFI, (g/d)	170	170	171	173	175	7	NS	NS	NS	NS
FCR	0.282	0.296	0.281	0.268	0.272	0.019	NS	NS	NS	NS

SEM: standard error of the mean; n=8 rabbit cages, a cage of six rabbits is the experimental unit. BW: body weight; ADG: average daily weight gain; ADFI: average daily feed intake; FCR: feed conversion ratio. ^aCTL vs EO : Contrast *a priori* to determine the effect of treatment control versus Essential oils; ^bCTL vs C : control versus cranberry ; ^cCTL vs O: control versus onion; ^dCTL vs S: control versus strawberry. NS: not significant; g/d: grams/day. *P* value in bold is significant ($P < 0.05$), underlined values describe a tendency ($P < 0.10$).

Tableau 3.3. Effect of the dietary treatment on physicochemical analyses and meat quality parameters in rabbit meat.

	Control	Essential oils	Cranberry	Onion	Strawberry	SEM	CTL vs EO ^a	CTL vs C ^b	CTL vs O ^c	CTL vs S ^d
	P-value									
% Lipid	11.2	13.3	13.0	13.3	14.3	1.5	NS	NS	NS	NS
% Protein	18.4	17.9	19.5	18.6	18.4	0.7	NS	NS	NS	NS
% Moisture	68.4	67.6	66.5	66.9	67.3	1.6	NS	NS	NS	NS
% Drip loss	0.33	0.03	0.04	0.03	0.09	0.15	NS	NS	NS	NS
% Cooking loss	30.6	30.6	30.3	30.6	30.0	1.5	NS	NS	NS	NS
Water Loss aerobic 5-15 days ^e										
D5	2.38	1.56	2.08	2.24	2.18	0.25	NS	NS	NS	NS
D10	2.10	2.01	2.19	2.13	1.97	0.10	NS	NS	NS	NS
D15	1.96	1.71	1.07	1.64	1.74	0.29	NS	NS	NS	NS
Water Loss anaerobic 15-45 days ^f										
D15	1.92	2.30	2.48	2.26	2.31	0.25	NS	NS	NS	NS
D30	1.11	1.53	1.13	1.21	0.98	0.41	NS	NS	NS	NS
D45	0.39	0.59	1.22	0.31	0.91	0.42	NS	<u>0.09</u>	NS	NS

SEM: standard error of the mean; n=8 rabbit cages, a cage of six rabbits is the experimental unit; NS: not significant.

^aCTL vs EO: Contrast *a priori* to determine the effect of treatment control versus Essential oils; ^bCTL vs C: control versus cranberry; ^cCTL vs O: control versus onion; ^dCTL vs S: control versus strawberry.

NS = not significant. Underlined P values describe a tendency ($P < 0.10$).

^eLinear effect of time on water loss under aerobic conditions, $P < 0.0017$. ^fLinear effect of time on water loss under anaerobic conditions, $P < 0.0001$.

3.5.2. Proximate composition and pH of the meat

The effect of the dietary treatments on physicochemical analyses and meat quality parameters of the rabbit meat are presented in Table 3.3. Protein content (17.9 to 19.50%), fat (11.2 to 14.3%), moisture (66.5 to 68.4%) and cooking loss (30.0 to 30.6%) were not influenced significantly by the dietary treatments ($P > 0.05$). Furthermore, drip loss, measured 48 h after slaughter, was not affected by supplementation compared to the control group ($P > 0.05$). Overall, water loss was very small (0.03-0.09%) and only a trend was observed during anaerobic storage (45 days; $P = 0.09$). Nevertheless, a negative linear effect of time was observed throughout the storage period in aerobic ($P = 0.0017$) and anaerobic ($P = 0.0001$) conditions.

No significant difference was observed for the pH in the LD and BF muscle one hour after slaughter (6.39 to 6.75 and 6.40 to 6.76, respectively; Table 3.4). The pH_u in LD muscle for the strawberry supplemented group was significantly lower than the control group ($P = 0.04$),

but only a downward tendency was measured in the BF muscle ($P = 0.08$). It is important to note, however, that the average pHu in LD muscle for all groups supplemented with plant extract were below 6 compared to the control (Table 3.4). A pH of 6 is the threshold pH value for DFD meat (Faucitano et al., 2010).

3.5.3. Color of the meat

Color parameters of the LD muscle: L* (lightness), a* (redness), b* (yellowness) were not significantly influenced by the dietary enrichment in polyphenols ($P > 0.05$; Table 3.4). When evaluating BF muscle, meat from the rabbit fed ration supplemented with cranberry extract had a significantly higher red color index ($a^*=3.23$; $P < 0.03$) compared to the control ($a^*=2.11$). When ration was supplemented with strawberry extract, the lightness index ($L^*=50.6$; $P = 0.03$) was significantly darker than the control ($L^*=53.6$). No trends caused by treatments were found in the b* values of the rabbit meat.

3.5.4. Antioxidant status of meat

The effects of dietary supplementation with plant extracts and essential oils on lipid oxidation, carbonyl and total phenol content in raw meat is presented in Table 3.4. No significant differences ($P > 0.05$) were observed between the dietary treatments and the control.

Tableau 3.4. Effect of dietary treatments on physical characteristics of the *Longissimus dorsi* and the *Biceps femoris* muscles, and on lipid oxidation, carbonyl and total phenol content in raw meat.

	Control	Essential oils	Cranberry	Onion	Strawberry	SEM	CTL vs EO ^a	CTL vs C ^b	CTL vs O ^c	CTL vs S ^d
							P-value			
pH 1h										
LD	6.63	6.69	6.75	6.39	6.54	0.18	NS	NS	NS	NS
BF	6.63	6.51	6.76	6.40	6.65	0.10	NS	NS	<u>0.06</u>	NS
pHu (24h)										
LD	6.05	5.92	5.98	5.96	5.84	0.10	NS	NS	NS	0.04
BF	6.23	6.13	6.09	6.13	6.07	0.09	NS	NS	NS	<u>0.08</u>
LD color										
a*	2.65	2.34	2.58	2.95	2.88	0.44	NS	NS	NS	NS
b*	0.61	0.49	0.27	0.39	0.65	0.30	NS	NS	NS	NS
L*	52.7	52.5	51.9	52.5	52.4	2.3	NS	NS	NS	NS
BF color										
a*	2.11	2.39	3.23	2.45	2.90	0.45	NS	0.02	NS	NS
b*	0.70	0.16	0.59	0.42	0.36	0.33	NS	NS	NS	NS
L*	53.6	51.5	52.3	52.5	50.6	1.4	NS	NS	NS	0.03
TBARS ^A (nmol/g MDA)	2.16	1.79	2.12	2.50	2.28	0.32	NS	NS	NS	NS
Carbonyls (nmol/mg)	2.95	2.58	2.81	2.65	2.79	0.51	NS	NS	NS	NS
Total phenols (nmol/g)	1.04	1.03	1.05	1.09	1.05	0.03	NS	NS	NS	NS

Each value represents the mean of eight samples with SEM: standard error of the mean; n=8 rabbit cages, a cage of six rabbits is the experimental unit. ^aCTL vs EO: Contrast a priori to determine the effect of treatment control versus essential oils; ^bCTL vs C : treatment control versus cranberry; ^cCTL vs O: treatment control versus onion. ^dCTL vs S : treatment control versus strawberry.

^AAll data of TBARS are presented as mean Malondialdehyde (MDA) values from three analyses performed in triplicate. TBARS: thiobarbituric acid reactive substances, SEM: standard error of the mean, NS: not significant.

3.5.5. Microbial analysis and shelf life

The evolution of the microflora on rabbit thighs from animals fed rations supplemented with plant extracts or essential oils when packaged under aerobic and anaerobic conditions is presented in Tables 3.5 and 3.6, respectively. Microbial analysis of the refrigerated rabbit meat indicated that for all tests, under both aerobic and anaerobic storage conditions, the cell counts increased significantly over time ($P < 0.05$). Overall, the difference between the control and the experimental groups, supplemented with various sources of polyphenol, was sporadic and at the most of 1.5 log cfu/g for the meat stored under aerobic and anaerobic conditions (Tables 3.5 and 3.6, respectively). However, under aerobic conditions, the control value was always close or greater than the experimental groups, except for presumptive *Pseudomonas* at day 5 for the group supplemented with onion extract (Table 5). At day 0, the presumptive LAB in the control group were significantly higher ($P > 0.05$) than all four experimental groups. A non-parametric analysis was carried out on the presence or absence of coliforms, *E. coli*, presumptive *S. aureus* and *Enterobacteriaceae*, under both aerobic and anaerobic storage conditions. No significant differences were detected between the control group and the groups receiving enriched rations (data not shown, $P > 0.05$).

We observed significant linear and quadratic time effects during the aerobic and anaerobic storage periods ($P < 0.0001$). Generally, after an increase, the bacterial count reached a plateau under aerobic (10 d) and anaerobic (30 d) conditions, as normally seen in a typical growth curve. A significant interaction between time and treatment for LAB was observed ($P < 0.01$) under aerobic conditions. The interaction is explained by the lowest level of LAB in the supplemented group of plant extracts and essential oils compared to the control group at 0 d, 5 d and 15 d, except at 10 d, and for strawberry at 5 d, 10 d and 15 d. A significant interaction between time and treatment for TAM and presumptive LAB was also observed ($P < 0.009$) under anaerobic conditions. For TAM, the effect of treatment was not significantly different for the cranberry group compared to the control, at all time, and for the other treatments, it was significant at day 0. Presumptive LAB interaction is explained by the significant differences of treatment supplemented with plant extracts and essential oils compared to the control group at 0 d. But over time, these significant differences only remained for the group supplemented with essential oils.

Despite limited microbial count differences obtained with a supplementation as low as 10 ppm of active ingredients compared to the control group, some significant differences were observed under both aerobic and anaerobic conditions over time. Compared to the control, onion-, strawberry- and essential oils-supplemented groups had lower TAM counts at day 0 ($P < 0.02$, $P < 0.005$, $P < 0.004$, respectively), although differences were rather limited (<0.7 log cfu/g). Under aerobic conditions, reduced TAM counts (compared to the control group) were also observed at 5 d for the rations containing essential oils ($P = 0.003$) and cranberry ($P = 0.05$), and at 15 d for cranberry ($P = 0.01$), onion- ($P = 0.001$) and strawberry-supplemented groups ($P=0.003$; Table 5). Presumptive *Pseudomonas* counts were reduced on day 5, 10 and 15 by the essential oils supplement ($P < 0.03$) and on day 10 by cranberry ($P = 0.002$) and onion ($P < 0.004$). Overall, a small but positive effect was observed for the dietary treatments compared to the control diet when the meat samples were placed under aerobic conditions (Table 3.5).

Under anaerobic conditions (Table 3.6), the rations supplemented with essential oils reduced significantly TAM counts only at 0 and 45 days ($P = 0.03$). The other supplemented groups were not significantly different than the control at 15, 30 and 45 days ($P > 0.09$). Reduction of LAB counts over time was only observed with essential oils under anaerobic conditions ($P > 0.09$). Essential oils supplement reduced presumptive *Pseudomonas* counts at 45 d ($P = 0.03$) and onion at 15 d ($P = 0.02$). Overall, more significant differences were observed with the presumptive LAB compared to the other microbial groups analysed, and the essential oils supplemented group seems more effective (Table 3.5 and 3.6). Under anaerobic conditions, the effect of supplements is not as important as under aerobic conditions

Tableau 3.5. Total aerobic mesophilic (TAM), presumptive *Pseudomonas* spp. and presumptive Lactic Acid Bacteria (LAB) counts (log cfu/g) on rabbit thighs between 0 and 15 days of storage at 4 °C under aerobic conditions.

	Control	Essential oils	Cranberry	Onion	Strawberry	SEM	CTL vs EO ^a	CTL vs C ^b	CTL vs O ^c	CTL vs S ^d
							P-value			
TAM^e										
d0	2.15 ± 0.63	1.45 ± 0.23	1.83 ± 0.44	1.58 ± 0.30	1.62 ± 0.42	0.18	0.004	<u>0.08</u>	0.02	0.005
d5	4.79 ± 0.39	4.14 ± 0.55	4.39 ± 0.50	4.59 ± 0.80	4.45 ± 0.56	0.19	0.003	0.05	NS	NS
d10	9.31 ± 0.22	8.78 ± 0.90	8.92 ± 0.69	9.19 ± 0.50	9.22 ± 0.30	0.20	<u>0.08</u>	NS	NS	NS
d15	10.49 ± 0.49	10.23 ± 0.42	9.90 ± 0.35	9.50 ± 0.73	9.76 ± 0.21	0.19	NS	0.01	0.001	0.003
Presumptive <i>Pseudomonas</i>^e										
d0	1.03 ± 0.38	0.93 ± 0.36	0.86 ± 0.37	0.82 ± 0.25	0.90 ± 0.48	0.18	NS	NS	NS	NS
d5	4.65 ± 0.81	4.23 ± 0.58	4.56 ± 0.42	4.80 ± 0.62	4.50 ± 0.34	0.19	0.03	NS	NS	NS
d10	10.33 ± 0.19	9.91 ± 0.35	9.93 ± 0.24	9.96 ± 0.26	10.12 ± 0.16	0.12	0.001	0.002	0.004	NS
d15	10.92 ± 0.10	10.65 ± 0.46	10.79 ± 0.15	10.73 ± 0.09	10.78 ± 0.06	0.08	0.01	NS	<u>0.09</u>	NS
Presumptive LAB^{xy}										
d0	1.67 ± 0.65	0.91 ± 0.27	1.22 ± 0.34	1.16 ± 0.44	1.04 ± 0.26	0.19	0.004	0.02	0.01	0.02
d5	4.83 ± 0.73	3.33 ± 0.80	4.33 ± 0.50	4.20 ± 1.10	4.61 ± 0.89	0.24	0.0001	0.004	0.01	NS
d10	9.42 ± 0.68	9.40 ± 0.42	8.81 ± 0.92	9.41 ± 0.82	9.14 ± 0.24	0.23	NS	<u>0.08</u>	NS	NS
d15	10.49 ± 0.34	9.76 ± 0.52	10.17 ± 0.37	10.21 ± 0.46	10.27 ± 0.40	0.12	0.0001	0.01	0.02	<u>0.08</u>

Each value represents the mean of eight samples with standard deviation. SEM: standard error of the mean; n=8 rabbit cages, a cage of six rabbits is the experimental unit, NS: not significant, log cfu/g: colony forming units per gram. P values in bold are significant, underlined values describe a tendency (P < 0.1).

^aCTL vs EO : Contrast a priori to determine the effect of treatment control versus essential oils; ^bCTL vs C : treatment control versus cranberry; ^cCTL vs O: treatment control versus onion.

^dCTL vs S : treatment control versus strawberry.

^xLinear and quadratic time effect, P < 0.0001.

^yTime × treatment interaction, P < 0.01.

Tableau 3.6. Total aerobic mesophilic (TAM), presumptive *Pseudomonas* spp. and presumptive LAB counts (log cfu/g) on rabbit thighs between 0 and 45 days of storage at 4 °C under vacuum.

	Control	Essential oils	Cranberry	Onion	Strawberry	SEM	CTL vs EO ^a	CTL vs C ^b	CTL vs O ^c	CTL vs S ^d
							P-value			
TAM^{xy}										
d0	2.15 ± 0.63	1.45 ± 0.23	1.83 ± 0.44	1.58 ± 0.30	1.62 ± 0.42	0.18	0.004	<u>0.08</u>	0.02	0.005
d15	7.81 ± 0.49	8.10 ± 0.56	7.68 ± 0.70	7.53 ± 0.58	7.61 ± 0.42	0.15	<u>0.07</u>	NS	<u>0.09</u>	NS
d30	9.26 ± 0.53	9.33 ± 0.19	9.15 ± 0.62	9.42 ± 0.34	9.45 ± 0.21	0.17	NS	NS	NS	NS
d45	9.71 ± 0.23	9.55 ± 0.27	9.70 ± 0.32	9.64 ± 0.30	9.76 ± 0.22	0.06	0.03	NS	NS	NS
Presumptive <i>Pseudomonas</i>^x										
d0	1.03 ± 0.38	0.93 ± 0.36	0.86 ± 0.37	0.82 ± 0.25	0.90 ± 0.48	0.18	NS	NS	NS	NS
d15	8.17 ± 0.38	8.12 ± 0.25	8.02 ± 0.27	7.90 ± 0.27	8.14 ± 0.13	0.11	NS	NS	0.02	NS
d30	8.92 ± 0.39	8.76 ± 0.17	8.72 ± 0.54	8.65 ± 0.11	8.89 ± 0.19	0.16	NS	NS	NS	NS
d45	9.49 ± 0.33	9.12 ± 0.42	9.41 ± 0.33	9.44 ± 0.36	9.36 ± 0.50	0.17	0.03	NS	NS	NS
Presumptive LAB^{xy}										
d0	1.67 ± 0.65	0.91 ± 0.27	1.22 ± 0.34	1.16 ± 0.44	1.04 ± 0.26	0.17	0.004	0.02	0.01	0.02
d15	8.26 ± 0.51	8.55 ± 0.18	8.36 ± 0.17	8.39 ± 0.18	8.33 ± 0.20	0.12	0.03	NS	NS	NS
d30	9.83 ± 0.54	9.41 ± 0.54	9.88 ± 0.58	10.00 ± 0.60	9.86 ± 0.65	0.15	0.01	NS	NS	NS
d45	10.16 ± 0.43	9.80 ± 0.43	9.99 ± 0.59	10.13 ± 0.42	10.20 ± 0.38	0.10	0.009	<u>0.09</u>	NS	NS

Each value represents the mean of eight samples with standard deviation SEM: standard error of the mean, n=8 rabbit cages, a cage of six rabbits is the experimental unit, NS: not significant, log cfu/g: colony forming units per gram.

^aCTL vs EO : Contrast a priori to determine the effect of treatment control versus essential oils; ^bCTL vs C: treatment control versus cranberry; ^cCTL vs O: treatment control versus onion.

^dCTL vs S: treatment control versus strawberry.

^xLinear and quadratic time effect, $P < 0.0001$.

^yTime × treatment interaction, $P < 0.009$.

3.6. Discussion

The effects of dietary supplementation with plant extracts and essential oils on the quality of rabbit meat were studied for their antimicrobial and antioxidant effects. Growth performance of the rabbits were consistent with the studies of Botsoglou et al. (2004) who did not observe significant differences when oregano essential oil was provided to rabbits at much higher doses of 100 and 200 mg per kg of feed. Similarly, rabbit consuming a diet supplemented with three levels (0%, 10% or 15%) of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) also had no effect on growth performance (Peiretti and Meineri, 2008). However, Rotolo et al. (2013) did observe a positive effect with oregano and sage dried leaves. Hence, at the low level tested (10 ppm of active ingredients), the plant extracts did not perform as growth promoters like antibiotics administered at sub-therapeutic doses (Richard et al., 2000; Dibner and Richards, 2005).

Color is generally accepted as one of the major features that consumers evaluate when making a purchase decision. The color parameters of meat are related to pHu, which influences the oxidation of the meat's haem pigments. According to Fraysse and Darre (1989), low pH causes discoloration of the meat whereas high pH gives the meat a darker color. At high pH levels, oxymyoglobin rapidly turns into a dark red, reduced myoglobin (Ouhayoun and Dalle Zotte, 1993) and the muscle structure is less reflective because of its less compact structure (Bízková and Tůmová, 2010). But in this study, the lower L* values of strawberry extract in BF (darkest meat, pHu=6.07) had a pHu lower than the control group (pHu=6.23); which is contrary to the literature. Dabbou et al. (2014) showed that different levels of artichoke bracts supplementation did not significantly affect the pHu, L* and other color parameters of rabbit meat. The water loss values we obtained decreased over time, which is also contrary to what is observed in pig *Longissimus* muscle where values have been reported to increase with time (Simitzis et al., 2010).

Oxidation is a process that affects various constituents including proteins, carbohydrates, lipids, pigments, vitamins and DNA in muscle and fatty tissue. Oxidation also increases with time and shortens the shelf life of meat and meat products (Smet et al., 2008). Under our experimental conditions, we observed no treatment effects on TBARS, carbonyl and total phenol content, indicating that the supplementation, or the level of active ingredient used,

had little influence on the level of raw meat oxidation at day 0. The TBARS values obtained are similar to those published by Botsoglou et al. (2004) at day 0 using relatively high levels of oregano essential oils (100 and 200 mg/kg feed rabbit). In this study, the control group's TBARS mean was 155.41 ng/g MDA value, the essential oil group was 130.99 ng/g, cranberry was 153.16 ng/g, onion was 180.38 ng/g and strawberry was 158.58 ng/g, compared to 115 ng/g and 137 ng/g for 100 and 200 mg of oregano essential oil/kg of feed, respectively, for Botsoglou *et al.* (2004). Rotolo et al. (2013), who used oregano and sage dried leaves, also came to the same conclusion. Alma et al. (2013), however, reported that lipid oxidation in pork was inhibited by 1000 ppm of essential oils in the diet. The lack of difference between the experimental groups and the control could be due to the low dose used, despite the higher fat content of our rabbit meat. Indeed, our results obtained for fat (11.2 to 14.3g /100g) correspond to the maximum values obtained by Salvini et al. (1998; 0.6 to 14.4g /100g). The low dose used (10 ppm), could also explain the absence of increased levels of total phenols at day 0.

Rabbit meat protein values between 17.9 and 19.5 g /100g observed in this study are comparable to published values between 18.1 and 23.7g /100g (Salvini et al., 1998). In agreement with our results, Peiretti et al. (2013) showed that different levels of tomato pomace supplementation did not significantly affect the chemical composition of rabbit meat.

Jolley (1990) indicated that rabbit meat has characteristics similar to DFD meat and rapidly deteriorates. Rabbit meat obtained in this experiment also had characteristics similar to DFD meat. This resulted in a large water retention capacity and very low water loss (drip loss) and is corroborated by Hulot and Ouhayoun (1999). An inverse relationship exists between drip loss and pH, so when pH is low, drip loss is high (Melody et al., 2004). This is in agreement with previous studies, which reported that no significant differences to drip loss occurred with dietary supplementation of spirulina (*Arthrospira platensis*) and thyme leaves in rabbit feed (Dalle Zotte et al., 2014).

Meat contains sufficient nutrients to support microbial growth, even at refrigeration temperature. Several intrinsic and extrinsic factors affect growth rate (Greer, 1989; Holmer et al., 2009). The faster spoilage of DFD pork is promoted by a high ultimate pH but also by its lower content of glucose and glycolytic intermediates, which forces organisms to use

amino acids and leads to spoilage and off-odours, notably by the production of malodorous compounds such as biogenic amines putrescin and cadaverin, produced in low quantity, and volatile metabolites, including sulfur compounds, aldehydes and ketones (Newton and Gill, 1981). In rabbits, the pHu was higher in BF muscle than LD and was attributable to its lower glycolytic potential (Hulot and Ouhayoun, 1999). Compared to the control group, a significantly lower pH was only observed with the strawberry-supplemented ration in the BF muscle (pHu=5.84; Table 3.4). The fact that the means of the pHu for the LD muscle were below 6 for meat from rabbits fed supplemented rations suggests conducting other experiments at a higher level of supplementation. Other studies, however, did not observe significant effects for dietary supplementation of rabbit feed with rosemary (0.2%), oregano extract (0.2%) and rosemary (0.1%) plus oregano extract (0.1%) on pHu values (Cardinali et al., 2012). Therefore, based on published studies, it is uncertain if higher incorporation levels would significantly affect this parameter. Improved pre-slaughter management to lower animal stress would be a more sound approach to reduce the pHu of the meat (Hulot and Ouhayoun, 1999).

The microbiological analyses do not reveal clear activity of dietary supplemented cranberry, strawberry, onion and essential oils rations on rabbit meat since significant differences were observed sporadically at the low supplementation level used. Overall, under aerobic conditions, presumptive *Pseudomonas* spp, presumptive LAB and TAM were close or reduced in all experimental groups, compared to the control group. Based on a maximum of 7-log cfu/g for TAM, we obtained a shelf life between 5-10 days. Soutos et al. (2009) also came to the same conclusion with a diet supplementation of 100 or 200 mg/kg oregano oil and indicated that, according to both appearance and odor, shelf life was estimated at between 8-12 days under aerobic conditions.

As observed by Soutos et al. (2009) with oregano oil, supplementation of the diet with polyphenol-rich extracts influenced the microbial status of the meat under aerobic more favorably compared to anaerobic conditions. Despite a limited effect of the experimental diets compared to the control group (<1.5 log cfu/g, essential oils compared to the control group at day 5 under aerobic conditions), our results suggest that more research is needed using higher concentrations of active substances. Because of the low toxicity of plant extracts

(Shoji et al., 2004), a higher degree of supplementation must be tested to optimize the positive effects observed.

3.7. Conclusion

The results of this study show that meat from rabbits receiving feed without supplements had the characteristics of DFD meat, which is more susceptible to microbial spoilage due to its high ultimate pH. The addition (10 ppm of active ingredients) of various dietary supplements containing polyphenols appears to influence favorably the microbial quality of the rabbit thighs during storage, especially under aerobic conditions and with essential oils. However, higher doses of extracts should be tested before concluding to an effective antimicrobial activity of practical and commercial value.

3.8. Acknowledgements

This research was carried out with the financial support of the Programme de soutien à l'innovation en agroalimentaire, a program derived from the Growing Forward agreement between the Ministère de l'agriculture des pêcheries et de l'alimentation du Québec (MAPAQ) and Agriculture and Agri-Food Canada. The Syndicat des producteurs de lapins du Québec is also a partner in this project.

Chapitre 4: Plant extracts and essential oils as feed additive to control rabbit meat microbial quality

Ce chapitre n'a été révisé par aucun des coauteurs et constitue mon travail original ; le manuscrit sera soumis à Meat science.

Les multiples propriétés des extraits de végétaux et des huiles essentielles ne sont plus à démontrer. La raison d'être de cette étude est fondée sur les résultats l'étude précédente, celle du chapitre 3 (Koné et al., 2016). Suite aux résultats de ce chapitre, des extraits de végétaux et d'huiles essentielles ont été combinés, et ce, à une dose 5 à 10 fois plus élevée que celle du chapitre 3 pour étudier leurs effets et la présence de synergies entre eux. Par conséquent, ce chapitre présente l'effet de suppléments alimentaires incluant des extraits d'oignon, de canneberge et d'huiles essentielles, riches en polyphénols sur la qualité microbiologique de la carcasse et de la viande de lapin.

Les résultats de ce chapitre ont été présentés sous forme d'affiche lors de la 96^{ème} conférence annuelle conjointe du Conseil des viandes du Canada (CVC) et de l'Association scientifique canadienne de la viande (ASCV) à Ottawa (ON), du 27 au 29 septembre 2016. Ainsi que celle d'Abdelwahed, M. Z., A. P. Koné, D. Cinq-Mars, Y. Desjardins, F. Guay, A. Gosselin, et L. Saucier. 2016. Improvement of rabbit meat oxidative status using feeding strategies, sur l'oxydation de la viande

Les résultats ont été présentés aussi au Symposium des étudiants membres de l'INAF, 28 avril, Québec, Qc.

Koné, A. P., M. Z. Abdelwahed, D. Cinq-Mars, Y. Desjardins, F. Guay, A. Gosselin, et L. Saucier. 2016. Stratégies nutritionnelles à base d'extraits de plantes et d'huiles essentielles pour améliorer la qualité de la viande de lapin.

Contributions des auteurs :

Amenan Prisca Nadège Koné (candidat au Ph. D.): la candidate était responsable de la mise en place du protocole, planification des expériences, collecte, analyse et interprétation des données, préparation du manuscrit.

Prof. Linda Saucier et Prof. Frédéric Guay (Directrice de recherche, auteure de correspondance et le coauteur) : participation à la mise en place du protocole, révision et correction du manuscrit. Les analyses statistiques ont été réalisées avec l'aide du Prof. Guay.

Prof. Dany Cinq-Mars, Prof. Yves Desjardins et Prof. André Gosselin (collaborateurs) : collaboration dans la mise en place du protocole et la révision du manuscrit. Drs Desjardins et Gosselin sont les spécialistes en phytologie sur le projet.

Mohamed Zied Abdelwahed (étudiant à la maîtrise en sciences animales) : participation à la mise en place du protocole et à l'alimentation des animaux.

**Plant extracts and essential oils as feed additive to control rabbit meat
microbial quality**

Amenan Prisca Koné^{a,b}, Mohamed Zied Abdelwahed^{a,b}, Desjardins Yves^{b,c}, Gosselin André^{b,c}, Dany Cinq Mars^a, Frédéric Guay^a, Linda Saucier^{a,b},

^a Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Food Science, Université Laval, 2425 rue de l'Agriculture, Quebec City, QC, Canada, G1V 0A6

^b Institute of Nutrition and Functional Foods, Université Laval, 2440 boul. Hochelaga, Quebec City, QC, Canada, G1V 0A6

^c Department of Plant Science, Université Laval, Quebec City, Quebec, Canada G1V 0A6.

*Corresponding author: Université Laval, Québec (QC), Canada, G1V 0A6

Téléphone: 418-656-2131 #6295

Fax: 418-656-3766

E-mail: linda.saucier@fsaa.ulaval.ca

4.1. Résumé

Le présent travail a évalué les effets de la combinaison d'extraits de plantes (oignon, canneberge) et d'huiles essentielles sur la qualité de la carcasse et de la viande de lapins. Cinq groupes de 48 lapines Grimaud sevrées ont reçu un complément: 500 et 1000 ppm d'extrait d'oignon (O^{500} et O^{1000} respectivement), 500 ppm d'extrait d'oignon + 500 ppm d'extrait de canneberge (O^{500} / Cr^{500}), 500 ppm d'extrait d'oignon + 100 ppm d'huiles essentielles (O^{500} / EO^{100}) et la ration contrôle (C). La qualité microbiologique a été évaluée sur des cuisses entières, entreposées dans des conditions aérobies et anaérobies à 4 °C. Dans des conditions aérobies ou anaérobies, l'effet de la supplémentation alimentaire en polyphénols a eu un effet sporadique sur la qualité microbienne des cuisses de lapin ($P < 0,05$) avec une différence maximale de 1,29 log observée avec les groupes O^{500} / Cr^{500} et O^{500} / EO^{100} . Ces résultats montrent que la combinaison d'extraits de plantes et d'huiles essentielles (à dose plus élevée) sont des additifs naturels prometteurs pour contrôler la qualité microbienne de la viande de lapin.

Mots clés: microbiologique; agents de conservation naturels; extraits de plantes et huiles essentielles; viande de lapin.

4.2. Abstract

The present work evaluated the effects of the combination of plant extracts (onion, cranberry) and essential oils on the carcass and meat quality of rabbits. Five groups of forty-eight weaned Grimaud female rabbits received a supplemented: 500 and 1000 ppm onion extract (O^{500} and O^{1000} respectively), 500 ppm onion extract + 500 ppm cranberry extract (O^{500}/Cr^{500}), 500 ppm onion extract + 100 ppm essential oils (O^{500}/EO^{100}) or the control ration (C). Microbiological quality was evaluated on whole thighs stored under aerobic and anaerobic conditions at 4 °C. Under aerobic or anaerobic conditions, the effect of diet supplementation with polyphenols had a sporadic effect on microbial quality of rabbit thighs ($P < 0.05$) with a maximum difference of 1.29-log observed with O^{500}/Cr^{500} and O^{500}/EO^{100} groups. These results show that the combination of plant extracts and essential oils (at higher dose) are promising natural additives for to control rabbit meat microbial quality.

Keywords: microbiological; natural preservatives; plant extracts and essential oils; rabbit meat.

4.3. Introduction

The rabbit meat possesses high nutritional and dietetic properties, as it is lean with its lipids generally highly unsaturated and a very low omega 6/omega 3 ratio (Dalle Zotte and Szendrő, 2011). However, during slaughter and processing, meat can be contaminated with pathogenic and spoilage microorganisms, leading to meat wastage loss of valuable protein, with possible deleterious effect on human health (Irkin and Arslan, 2008). This situation might have substantial economical and environmental impact (Dave and Ghaly, 2011).

In order to counteract these processes, many strategies have been tried, especially the addition of synthetic products to the meat, such as nitrites (Krause et al., 2011), metal-chelating agents (Allen and Cornforth, 2010) and synthetic antioxidants, namely butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT, Naveena et al., 2008). While their use efficient, consumer perception of synthetic products used in food and feed has progressively changed because of safety and toxicity concerns. Scientific research and the meat industry have increasingly focused on the phenolic compounds present in plant extract, herbs and essential oils (EO) for their potential antimicrobial, antifungal and antiviral activities (Dalle Zotte et al., 2016).

These properties are induced by many substances like some flavonoids, proanthocyanidins (cranberry), quercetin (onion extract), carvacrol and thymol (essential oil of herbs), etc. and render spices and some herbs, the best preservative agents in food (Li et al., 2014). This strategy is interesting, especially as antimicrobials are deposited in the meat during the life of the animal (diet) without requiring the addition of exogenous products after slaughter. According to Negi (2012) and Oussalah et al. (2007), different antimicrobials from plant origin and EO can effectively reduce the number or inhibit the growth of pathogenic and spoilage microorganisms, and thus have a potential to become a good alternative to synthetic antimicrobials. Indeed, plants and many small fruits contain large amounts of phenolic compounds that are more inhibitory against Gram-positive than Gram-negative bacteria (Mangena and Muyima, 1999; Marino et al., 2001). Kone et al. (2016) demonstrated that the plant extracts and essential oils (alone, at low dose, 100 ppm) can be used in a rabbit diet because had a small but sporadic positive effect on bacterial microflora (especially with

essential oils on presumptive lactic acid bacteria, LAB). For example, cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) is an important commercial crop in the United States and Canada (Leusink et al., 2010) and it has been reported to act in synergy with oregano oil to inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* when added directly on beef meat (Apostolidis et al., 2008). As well as, the exogenous addition of onion extracts, a source of flavonoids, reduced beef fillet meat microbial contamination by inhibiting *Escherichia coli* and yeast and mould counts in different days of storage and in refrigeration conditions 4 °C (Reyhan and Mikail, 2010). Furthermore, the same effects on the microbial quality of fresh pork loin during storage were observed in the study of Fortier et al. (2012) with a combination of oregano oil and cranberry pulp added to the diet. According to Burt (2004) and Marino et al. (2001), minor compounds of a particular EO may work in synergy with other components resulting in improved antibacterial properties (Dinesh and Cheorun, 2013). For example, the addition of rosemary or thyme EO to fine paste meat products has been effective against aerobic bacteria and lactic acid bacteria (LAB, Viuda-Martos et al., 2010).

Information on the effects of natural compounds used as feed additive on rabbit meat microbiological quality is limited. Because of the low toxicity of plant extracts (Shoji et al., 2004) and for to test a higher degree of supplementation in order to optimize the positive effects observed in the study of kone et al. (2016), we examined the effects of combination of plant extracts (cranberry, onion) and essential oils on carcass microbial contamination as well as meat quality.

4.4. Materials and methods

4.4.1. Animal housing and feeding

Animal care and handling procedures were approved by Université Laval Animal Use and Care Committee, which strictly adheres to the Guidelines of the Canadian Council on Animal Care (CCAC, 2009). A total of 240, 35-day-old weaned Grimaud breed female rabbits were obtained from a commercial farm (Laprodéo, Saint-Tite, Quebec, Canada) and were raised in conventional commercial cages.

Rabbits were placed 6/cage, which constituted the experimental unit (0.37 m² per rabbit). Eight cages of homogeneous weight were analyzed per experimental group (No. = 48

rabbits/group) with a cycle of 12 h of light (starting at 9:00 am) and 12 h of dark throughout the experiment. Temperature was set at 20.5 ± 0.3 °C and humidity level at 37 ± 3 %. Upon arrival, the animals were acclimatized to their new environment and received a commercial diet (Table 4.1) for a week, followed by three weeks on the experimental feed. All diets had the same basal mixture of ingredients and only varied the plant extracts (onion and cranberry, Nutra Canada Inc., Champlain, Québec, Canada) and essential oils (Xtract™ Instant, Pancosma SA, Geneva, Switzerland) included. Namely: a group without supplement served as the control group (C), 500 ppm onion extract (O⁵⁰⁰), 1000 ppm onion extract (O¹⁰⁰⁰), 500 ppm onion extract + 500 ppm cranberry extract (O⁵⁰⁰/Cr⁵⁰⁰) and 500 ppm onion extract + 100 ppm essential oils (O⁵⁰⁰/EO¹⁰⁰).

The level of essential oils (100 ppm; Xtract™ Instant, Pancosma SA, Geneva, Switzerland) was added according to supplier recommendations to promote a healthy rabbit digestive system. Essential oils contain encapsulated thyme oil, trans-anethole, thymol, eugenol, cinnamaldehyde, capsicum oleoresin, arabic gum and maltodextrins. Supplement was mixed directly with other feed ingredients prior to pelleting at 60 °C and cooling at 16 °C within 2.5 min. Feed was manufactured in a commercial facility in separate 600 kg batches (Belisle Solution Nutrition, St-Mathias-sur-Richelieu, Quebec, Canada).

Tableau 4.1. Nutritional values and composition of the experimental diets.

	Commercial data	
	^b Wet basis	^c Dry basis
Crude protein %	16.0	17.02
Crude fat matter %	4.6	4.90
Crude fiber %	18.1	19.25
Calcium %	1.00	1.06
Phosphorous %	0.44	0.47
Sodium %	0.30	0.32
Vitamin A UI/kg	6034	6419
Vitamin D UI/kg	1018	1083
Vitamin E UI/kg	40.0	42.55
Total selenium mg/kg	0.19	0.20
Added selenium mg/kg	0.10	0.11

^aIngredients: Alfalfa, beet pulp, wheat, soybean meal, canola meal, corn gluten feed, molasses, mineral and vitamin premix.

^bData provided by the commercial feed mill on a wet basis.

^cData calculated using the measure dry matter.

The total phenolic content in the feed was determined by using the Folin-Ciocalteu method (Dudonné et al., 2015) and was expressed in mg of gallic acid equivalents (GAE) per gram of diet (Table 4.2). Briefly, 0.5 g of the sample extracted with 10 ml of methanol: sonication 20 minutes at 37 °C and then centrifugation (10000 g for 4 minutes at room temperature). The pellet was extracted once again with 10 ml of methanol: sonication 20 minutes at 37 °C followed by centrifugation (4000 rpm for 4 minutes at room temperature). The 2 supernatants are pooled and the volume is adjusted to 25 ml with Ultrapure water (Millipore Milli-Q water purification system). Extract solutions were mixed with 100 µl of 10-fold diluted Folin-Ciocalteu reagent and 80 µl of sodium carbonate solution (NaCO₃; 75 g/L). The absorbance readings were taken at 765 nm after incubation at room temperature for 1h. Quantification was based on a standard curve generated with gallic acid. All measurements were performed in triplicate.

Tableau 4.2. Total Phenolics of the experimental diets

	C	O ⁵⁰⁰	O ¹⁰⁰⁰	O ⁵⁰⁰ /Cr ⁵⁰⁰	O ⁵⁰⁰ /EO ¹⁰⁰
Total phenols (mg GAE/g of feed)	5.47 ± 0.13	5.56 ± 0.28	6.41 ± 0.29	5.60 ± 0.35	6.28 ± 0.19

Each value represents the mean of three samples with standard deviation.

Animals were fed *ad libitum* until a minimal target slaughter weight of 2200 g was reached. They were weighed, and feed intake was measured weekly during the experimental period to determine body weight (BW), average daily gain (ADG), average daily feed intake (ADFI) and feed conversion ratio (FCR). They were fasted 15 h before slaughter, including transport and lairage time, according to the current commercial practices to reduce transport-related sickness (Bianchi et al., 2008). They had access to water at all times prior to transport. The length of transport to the abattoir was 30 min, and animals were allowed a waiting period of 30 min before slaughter. Animals were slaughtered in a provincially inspected establishment according to regulations in the province of Quebec, Canada (DGSAIA, 2011).

4.4.2. Meat quality measurement

For meat quality measurement, one rabbit per cage was randomly analyzed according to Koné et al. (2016, 2017). The muscular pH of the *Biceps femoris* (BF) and the *Longissimus lumborum* (LL) muscles were measured post-mortem after 1 (pH 1) and 24 h (pHu; Blasco, and Ouhayoun, 1996) using a portable pH meter (ROSS, Orion Star A221, Thermo Scientific, Beverly, CA, USA) combined with an Orion Kniphe electrode (ThermoFisher, Nepean, ON, Canada) and a temperature compensation probe (928 007 MD, micro probes ATC, Maryland, USA). Meat colour was evaluated 24 h after slaughter on the LL and the exposed surface of the BF using a Chromameter (Chromameter CR 300 Minolta Ltd., Osaka, Japan) equipped with a D65 light source and a 0° viewing angle geometry according to the reflectance coordinates (L^* , a^* , b^* ; CIE, 1976), after exposing the muscle surface for 20 min blooming time (Faucitano et al., 2010). Meat exudate lost (%) during cold storage was measured by weight difference of the thighs. Regarding drip loss, the measure was taken from a piece of *Longissimus thoracis et lumborum* muscle (LTL about 2 cm thick x 2.5 cm in diameter) also by weight difference, according to the EZ-Driploss method (Rasmussen and Anderson, 1996), where samples are stored at 4 °C for 48 hours. Cooking loss was determined on a similar piece of LTL muscle (Pla, 1999) and is expressed as a percentage of the initial weight loss. Each sample was placed into an 18 oz Whirl-Pak bag (Nasco Whirl-Pak®, USA) and immersed in a water bath at 70 °C for 15 minutes after removing the air from the bag. The samples were then removed from the bag, patted dry with filter paper and weighed (Vergara et al., 2005; Apata et al., 2012).

4.4.3. Muscle Sampling

One leg per animal was packaged aerobically in a Styrofoam tray (14w x 24l x 4.5h cm) with an absorbent pad, sealed with an oxygen-permeable polyethylene film (35 ga; oxygen transmission 825 cc/100 sq. in. per 24 h at 23 °C; water vapor transmission rate 24 g/100 sq. in. per 24 h at 38 °C and 90% RH) obtained from a local food equipment distributor (Emballage L. Boucher, Quebec, QC, Canada) and stored at 4 °C for 0, 3, 6 or 9 days. The other leg was vacuum-packed (Sipromac, St-Germain, QC, Canada) in bags (nylon [23%] and polyethylene [77%; seven multilayered] of 300 ga; oxygen transmission 3.3 cc/100 sq. in. per 24 h at 23 °C; water vapor transmission rate 0.5g/100 sq. in. per 24 h at 38 °C and

90% RH; Sealed Air Co, Mississauga, ON, Canada) and also stored at 4 °C for 0, 5, 10, 15 or 20 days. The rest of the carcass was deboned and the meat was ground (Electric meat Grinder, No RE50255, IPNO IPXI, China) and stored at -30 °C.

4.4.4. Proximate analysis

Samples (100 g of ground meat) were lyophilized (freeze dryer Model 6203-3005-OL, Virtis Co., Gardiner, NY, USA) for 7 days. The fat content was measured using a Tecator extraction unit (Soxtec system HT 1043, Hoganas, Sweden) according to procedure 991.36 of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995). Total proteins were quantified using procedure 992.15 of the AOAC (1995) with a LECO[®] protein analyzer (model FP-2000, Leco Corp., St. Joseph, MO, USA). Fat and protein contents are expressed on the wet weight basis and the analysis was performed in triplicate.

4.4.5. Determination of muscle antioxidant status

4.4.5.1. Total phenol content

Total phenol content in the ground meat was measured as described in Kone et al. (2016), using the method of Jang et al. (2008). Each meat sample (5 g) was homogenized in distilled water (15 ml) and chloroform (9 ml), then centrifuged at 3000×g for 5 min at room temperature (21°C). Chloroform was added to remove the lipids. The total phenol content in the aqueous supernatant was estimated by the Folin-Ciocalteu method (Subramanian et al., 1965). A 1 ml aliquot of diluted sample (1:4, v/v) was added to 500 ml of 2N Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) followed by the addition of 1 ml of NaCO₃ (10%). Reaction mixture was vortexed and the absorbance was measured with a spectrophotometer (VarioskanTM) at 700 nm after incubating for 1 hour at room temperature (21°C). Quantification was based on a standard curve generated with gallic acid. All measurements were performed in triplicate.

4.4.6. Microbial Analysis

Microbial enumeration on thighs was performed as described in Kone et al. (2016, 2017), using a sampling procedure similar to the one for whole poultry carcasses described by Brichta-Harhay et al. (2007). One leg was taken randomly from each cage at every sampling time and conditions (aerobic and anaerobic). The thigh was aseptically placed in a sterile

Stomacher bag (Stomacher® 400C, Seward Laboratory Systems Inc., London, UK), weighted (measure was also used to evaluate meat exudate) and sealed after 300 ml of 0.1% (wt/vol) peptone water were added (Bacto peptone, Difco Laboratories, Inc., Detroit, MI, USA). The bag was placed on a rotary shaker (Boekel Scientific Orbitron Rotator II, model 260250, New York, USA) for one minute on each side and then manually massaged for 30 sec to remove microorganisms from the surface. Ten-fold dilutions were carried out in 0.1% peptone water for enumeration on appropriate agar plates (Saucier et al., 2000). Total Aerobic Mesophilic (TAM) counts (MFHPB-18; Health Canada, 2001) were performed on Plate Count Agar medium (PCA; Difco Laboratories Inc.; 35 °C for 48 h). Presumptive Lactic Acid Bacteria (LAB) were enumerated on de Man, Rogosa and Sharp (MRS; Difco Laboratories Inc.; 25 °C for 48 h; Saucier, Gendron, & Gariépy, 2000) under anaerobic conditions using envelope generator of H₂ and CO₂ (AnaeroGen™2.5L, AN0025A, Oxoid Company, Nepean, ON, Canada). Presumptive *Pseudomonas* spp. were determined on Cetrimide-Fucidin-Cephalosporin (CFC) agar (25 °C for 48 h; Mead and Adams, 1977; Gill and Greer, 1993). Coliforms and *E. coli*, as presumptive *S. aureus* and *Enterobacteriaceae* counts were determined using 3M Petrifilm™ plates according to method MFHPB-34 (Health Canada, 2013) MFLP-21 (Health Canada, 2004) and MFLP-09 (Health Canada, 2007), respectively. Presumptive *Listeria* spp. were determined on PALCAM medium (PALCAM *Listeria* Agars Base; Merck, Germany) without supplements and plates were incubated at 30 °C for 48 h. Measurements were performed in duplicate. All bacterial counts were transformed to a log₁₀ value of colony-forming units per gram of thigh weight (log₁₀ CFU/g) prior to statistical analysis according to Gill (2000). Except for presumptive *S. aureus*, coliform, *E. coli*, *Enterobacteriaceae* counts, which were transformed to a Log₁₀ value of colony forming units per ten grams of thigh weight (Log₁₀ CFU/10g). For counts on PCA, MRS, APT, CFC and Palcam, detection level was 1.76 Log₁₀ CFU/10g, and 1.32 Log₁₀ CFU/10g for presumptive *S. aureus*, coliforms, *E. coli* and *Enterobacteriaceae* counts. The bacterial growth during storage represents the difference in cell number (value at 9d subtracted by value at 0d, under aerobic conditions and value at 20d subtracted by value at 0d, under anaerobic conditions).

4.4.7. Statistical analysis

To determine whether treatment, time, and their interactions had an effect on the microbiological analysis, data were analyzed by an analysis of variance (ANOVA) using the MIXED procedure of SAS (SAS Institute Inc., 2002). Tukey's test was carried out to compare the differences between experimental groups. In addition, the storage time under aerobic (0, 3, 6 or 9d) and anaerobic conditions (0, 5, 10, 15 or 20d) were taken into consideration. Data for total phenol were analyzed by an analysis of variance (ANOVA) using the MIXED procedure of SAS software. Significant difference was declared at $P < 0.05$ and tendencies at $P < 0.10$.

4.5. Results

4.5.1. Growth performance

The effects of plant extract and essential oils supplementation in the diet on body weight (BW), average daily weight gain (ADG), average daily feed intake (ADFI) and feed conversion ratio (FCR) are presented in Table 4.3. Feed intake of rabbits on experimental diets, as well as their measured performance parameters, was similar in all groups ($P > 0.05$). The addition of plant extract and essential oils did not therefore have a negative on the appetite of rations.

Tableau 4.3. Growth performance of weaned rabbits fed experimental diets.

	C	C-O	C-2×O	C-O-C _r	C-O-OE	SEM	P-value Effect treatment
Initial BW (g)	1640	1648	1646	1641	1648	20.97	NS
Week 1							
BW on d7 (g)	1998	1992	1980	1973	1980	26.77	NS
ADG, (g/d)	51.11	49.1	47.81	47.34	47.37	1.18	NS
ADFI, (g/d)	171	169.04	142.68	167.01	167.05	4.29	NS
FCR	3.42	3.51	3.42	3.59	3.51	0.08	NS
Week 2							
BW on d14 (g)	2318	2302	2256	2282	2293	31.36	NS
ADG, (g/d)	44.77	44.42	38.49	44.22	44.88	0.98	NS
ADFI, (g/d)	160	169	150	165	166	2.12	NS
FCR	3.62	3.81	4.02	3.76	3.70	0.08	NS
Week 3							
BW on d21 (g)	2584	2561	2555	2546	2550	35.39	NS
ADG, (g/d)	38.21	37.35	42.50	37.64	37.50	1.52	NS
ADFI, (g/d)	173	175	174	172	180	1.92	NS
FCR	4.85	4.91	4.36	4.75	4.89	0.17	NS
Global							
ADG, (g/d)	44.70	43.63	42.93	43.07	43.25	0.95	NS
ADFI, (g/d)	168	170	155	168	171	2.16	NS
FCR	3.96	4.08	3.93	4.03	4.03	0.09	NS

SEM: standard error of the mean; n=8 rabbit cages, a cage of six rabbits is the experimental unit. BW: body weight; ADG: average daily weight gain; ADFI: average daily feed intake; FCR: feed conversion ratio. SEM: standard error of the mean, NS: not significant.

4.5.2. Meat quality traits

The effect of plant extracts and essential oils, alone or in combination, through dietary treatments on rabbit meat physicochemical analysis and quality parameters are presented in Table 4. Data indicate that the lipid content (12.41 to 15.25%), protein (21.45 to 22.49%), moisture (62.08 to 64.51%) were not significantly influenced by the dietary enrichment in sources and concentration of polyphenols ($P > 0.05$).

Furthermore, drip loss (0.38 to 1.05%), measured 48 h after slaughter, was not significantly affected by the different treatments applied ($P > 0.05$). However, the percentage of cooking loss increased significantly in all experimental groups (26.49% to 27.73%) in comparison to control (18.13 %, $P = 0.0001$) except for the O¹⁰⁰⁰ group (21.16%). Furthermore, the O¹⁰⁰⁰ group had a lower cooking loss compared to the onion and cranberry (O⁵⁰⁰/Cr⁵⁰⁰) and the onion and essential oils (O⁵⁰⁰/EO¹⁰⁰) supplemented groups (Table 4.4).

Under aerobic storage conditions, water loss was very small (0.009 to 0.67%) and no significant difference was observed between groups. By contrast, tendencies were observed for the water loss at 5d ($P = 0.06$) and 15d ($P = 0.08$) during anaerobic storage conditions. As for the pH of the meat, all pHu were below 6 in both muscles 24h after slaughter ranging from 5.38 to 5.75. The only significant difference observed was in the LL muscle 1 h after slaughter between the O¹⁰⁰⁰(5.84) and the O⁵⁰⁰/Cr⁵⁰⁰ (6.28) groups ($P = 0.01$). Tendencies were observed for the BF and the LL muscles 1 h ($P = 0.09$) and 24 h ($P = 0.05$) after slaughter, respectively.

The experimental diet had no significant effect on the color parameters (L^* =lightness, a^* =redness and b^* =yellowness) of the BF and LL muscle. Only a tendency was observed with the red colour index a^* where the enriched ration was below (4.49 to 5.56) the control diet (5.59; $P = 0.07$).

Tableau 4.4. Effect of dietary treatment on physicochemical analyses and meat quality parameters in rabbit meat.

	C	O ⁵⁰⁰	O ¹⁰⁰⁰	O ⁵⁰⁰ /Cr ⁵⁰⁰	O ⁵⁰⁰ /EO ¹⁰⁰	SEM	P-value
% Lipid	15.25	12.41	13.99	13.52	14.69	1.32	NS
% Protein	22.30	22.10	22.49	21.45	21.73	0.91	NS
% Moisture	62.08	64.51	63.62	64.44	64.04	1.08	NS
% Drip loss	0.68	0.48	1.05	0.83	0.38	0.77	NS
% Cooking loss	18.13 ^C	26.49 ^{AB}	21.16 ^{BC}	27.24 ^A	27.73 ^A	1.82	0.001
Water Loss aerobic 3-9 days							
D3	0.22	0.40	0.67	0.27	0.15	0.27	NS
D6	0.03	0.13	0.20	0.06	0.07	0.15	NS
D9	0.05	0.04	0.11	0.06	0.009	0.06	NS
Water Loss anaerobic 5-20 days							
D5	1.13	0.80	1.13	1.38	0.70	0.43	<u>0.06</u>
D10	1.52	1.86	1.81	1.98	2.08	0.59	NS
D15	1.36	1.43	1.72	2.65	1.72	0.46	<u>0.08</u>
D20	1.84	1.41	1.16	2.20	1.95	0.49	NS
pH (1 h)							
LL muscle	6.05 ^{AB}	6.14 ^{AB}	5.84 ^B	6.28 ^A	6.18 ^{AB}	0.11	0.01
BF muscle	6.07	6.10	5.95	6.22	6.28	0.11	<u>0.09</u>
pHu (24 h)							
LL muscle	5.40	5.55	5.38	5.52	5.52	0.46	<u>0.05</u>
BF muscle	5.68	5.75	5.64	5.66	5.74	0.48	NS
Colour of BF muscle							
a*	4.33	3.82	4.63	4.49	4.14	0.47	NS
b*	-0.41	-0.37	-0.15	0.16	-0.74	0.38	NS
L*	53.83	53.00	53.32	54.03	52.54	1.00	NS
Colour of LL muscle							
a*	5.59	4.60	5.46	4.49	5.56	0.48	<u>0.07</u>
b*	1.50	1.57	1.05	0.71	1.13	0.49	NS
L*	54.04	53.88	53.37	53.71	54.01	1.27	NS
Total phenols (mg GAE/g of meat)	0.80 ^D ± 0.06	1.07 ^C ± 0.04	1.21 ^B ± 0.04	1.35 ^A ± 0.05	1.23 ^B ± 0.03	0.03	0.001

Each value represents the means of n=8 cages (a cage of six rabbits is the experimental unit) with SEM: standard error of the mean, LL = *Longissimus Lumborum* and BF = *Biceps femoris*. P values in bold are significant, underlined values describe a tendency (P < 0.10). Different letters (A–D) within the columns indicate significant difference at P<0.05. NS: not significant. Total phenols expressed in mg gallic acid equivalent, mg GAE/g.

4.5.3. Total phenol content of raw meat

The level of total phenolic compounds in the meat of the animals fed with the diet enriched plant extracts and essential oils were significantly higher than that of the meat of the control group animals ($P = 0.001$; Table 4.4). Indeed, the highest total phenol content was observed in O⁵⁰⁰/Cr⁵⁰⁰ group (1.35 mg GAE/g), then followed by O⁵⁰⁰/EO¹⁰⁰ group (1.23 mg GAE/g) and O¹⁰⁰⁰ group (1.21 mg GAE/g), O⁵⁰⁰ group (1.07 mg GAE/g) and finally by the control group (0.80 mg GAE/g).

4.5.4. Microbial analysis and shelf life of rabbit thighs stored under aerobic or anaerobic conditions

Microflora evolution on rabbits thighs from animals fed rations supplemented with natural sources of polyphenols when packaged under aerobic and anaerobic conditions are presented in Table 4.5 and 4.6, respectively. Microbial analysis of the refrigerated rabbit meat indicated that for all tests, under both aerobic and anaerobic storage conditions, cell counts increased significantly over time ($P < 0.0001$) except for *Listeria* spp. which remained at the same level during the whole storage period and under both storage conditions ($P > 0.05$). The interaction of time with treatment did not significantly affect ($P > 0.05$) the microbial counts.

Throughout the experiment, all *E. coli* counts remained below detection level (1.32 log₁₀ CFU/10g) under aerobic and anaerobic storage (data not shown) indicating that appropriate hygienic food processing conditions were followed. Overall, in aerobic and anaerobic conditions, no effect of treatment was observed for *Listeria* spp. and presumptive *S. aureus* counts ($P > 0.05$). A significant interaction between time and treatment was observed for TAM and presumptive *Pseudomonas* counts under anaerobic conditions ($P < 0.01$). There is a significant effect of treatments at all times for TAM and presumptive *Pseudomonas* counts except after 15 and 10 days of anaerobic storage, respectively. The O⁵⁰⁰ TAM counts for the first 10 days of anaerobic storage were above all the other groups reaching 1.29 Log difference with the other group. But from day 15, all the supplemented groups were below the control. A similar interaction pattern describing a positive effect of treatments with time is also observed for the presumptive *Pseudomonas* counts. In the beginning, counts were the lowest at d0 and the highest at d20 in the control group.

4.5.4.1. Aerobic conditions

Under aerobic conditions (Table 4.5), addition of a source of polyphenols to the ration had a significant effect ($P = 0.007$; $P = 0.03$) on the rabbit tights TAM counts at day 0 and 6, but not at 3 and 9. The O^{500} group was significantly higher than O^{500}/Cr^{500} , O^{500}/EO^{100} and the control group at day 0 ($P < 0.05$); the differences reached up to 0.69 Log during storage. But at the end of the aerobic storage period (9 days), counts were no longer significantly different ($P > 0.05$).

An effect of treatment on the presumptive *Pseudomonas* counts was only observed at day 0 and 9 ($P = 0.02$ and 0.01 , respectively). A difference was only observed between the control (1.15 Log) and the O^{500} group (2.07 Log; $P < 0.05$) on day 0. By the end of the aerobic storage period, a significant difference ($P < 0.05$) was observed solely between O^{500}/EO^{100} (8.10 CFU/g) and O^{1000} (7.85 CFU/g) groups for a log difference well below one log unit at 0.25. During the storage (0-9 days), the microbial counts of the O^{500} group appears to decrease presumptive *Pseudomonas* numerically, compared to the other experimental groups.

For the presumptive LAB counts, effect of treatment was only observed at the end of the storage period ($P = 0.04$). Counts were similar for all the experimental groups ($P > 0.05$), but at the end of the storage, their growth was significantly favored in O^{500}/EO^{100} compared to O^{1000} and O^{500}/Cr^{500} ($P < 0.05$).

At day 6 and 9, the effect of treatment became significant for the *Enterobacteriaceae* counts ($P = 0.001$ and 0.02 , respectively). Counts were significantly higher for the diet supplemented with 1000 ppm of onion extract (O^{1000}) compared to 500 pm (O^{500}), the combination of onion and cranberry extract (O^{500}/Cr^{500}) and onion and essential oils extract (O^{500}/EO^{100}), but not with the control group ($P < 0.05$) at 6 d. At the end of storage on day 9, a significant difference was only observed between O^{1000} and O^{500}/Cr^{500} ($P > 0.05$); the log difference between the two groups was < 0.63 .

Similarly to *Enterobacteriaceae*, effect of treatment became significant with the coliform counts after 6 and 9 days of aerobic storage ($P = 0.001$ and 0.005 , respectively). The counts with the diet supplemented with 1000 ppm of onion extract (O^{1000}) was higher than the ones supplemented with the combination of onion and cranberry extract (O^{500}/Cr^{500}) and onion with essential oils extract (O^{500}/EO^{100} ; $P < 0.05$) at day 6; log

difference was 1.08 and 0.95, respectively. At day 9, a significant difference was only observed between O¹⁰⁰⁰ and O⁵⁰⁰/Cr⁵⁰⁰ (P = 0.005) where the later was 0.63 log lower.

Overall, the presumptive *Pseudomonas* spp. counts varied from 1.15 to 8.10 CFU/g during the storage period and remained the prevailing microflora. Considering that end of shelf life is reached when cell count is at 7 Log₁₀ CFU/g or higher, rabbit thighs reached that level after 6 days when stored under aerobic conditions. So, for all the experimental groups, it was attained between 6 to 9 days under aerobic storage. Log difference close to or greater than one log unit was only observed at day 6 between O¹⁰⁰⁰ with O⁵⁰⁰/Cr⁵⁰⁰ and O⁵⁰⁰/EO¹⁰⁰ for the *Enterobacteriaceae* (0.96 and 0.91 Log, respectively) and for the coliform counts (1.08 and 0.95 Log, respectively), but not with the control or O⁵⁰⁰. So, for these microbial counts, onion extract alone is closer to the control but effective than when used in combination with another source of polyphenols. On the other hand, based on the total bacterial growth, O⁵⁰⁰ has numerically the lowest microbial counts for the TAM, presumptive *Pseudomonas* spp. and *Enterobacteriaceae*.

Tableau 4.5. Total aerobic mesophilic (TAM), presumptive *Pseudomonas* spp. and presumptive LAB and *Listeria* spp. in Log10 CFU/g. *Enterobacteriaceae*, coliforms and presumptive *Staphylococcus aureus* counts in Log10 CFU/10g on rabbits thighs between 0 and 9 days of storage at 4 °C under aerobic conditions.

	C	O ⁵⁰⁰	O ¹⁰⁰⁰	O ⁵⁰⁰ /Cr ⁵⁰⁰	O ⁵⁰⁰ /EO ¹⁰⁰	SEM	P-value ^z
TAM^x							
d0	1.34 ^B ± 0.29	2.22 ^A ± 0.80	1.48 ^{AB} ± 0.60	1.33 ^B ± 0.33	1.42 ^B ± 0.31	0.24	0.007
d3	2.07 ± 0.39	2.57 ± 0.55	2.47 ± 0.50	2.23 ± 0.80	2.59 ± 0.56	0.18	<u>0.05</u>
d6	5.95 ^A ± 0.22	5.79 ^{AB} ± 0.90	5.89 ^{AB} ± 0.69	5.59 ^B ± 0.50	5.61 ^{AB} ± 0.30	0.12	0.03
d9	8.47 ± 0.49	8.80 ± 0.42	8.58 ± 0.35	8.43 ± 0.73	8.69 ± 0.21	0.18	NS
Total bacterial growth (d9-d0)	7.13	6.58	7.10	7.10	7.27		
Presumptive <i>Pseudomonas</i>^x							
d0	1.15 ^B ± 0.49	2.07 ^A ± 0.85	1.71 ^{AB} ± 0.73	1.35 ^{AB} ± 0.46	1.20 ^{AB} ± 0.50	0.29	0.02
d3	2.10 ± 0.81	2.67 ± 0.58	2.48 ± 0.42	1.96 ± 0.62	2.24 ± 0.34	0.28	NS
d6	5.02 ± 0.19	5.07 ± 0.35	5.24 ± 0.24	4.74 ± 0.26	4.96 ± 0.16	0.27	NS
d9	8.04 ^{AB} ± 0.10	7.96 ^{AB} ± 0.46	7.85 ^B ± 0.15	7.98 ^{AB} ± 0.09	8.10 ^A ± 0.06	0.06	0.01
Total bacterial growth (d9-d0)	6.89	5.89	6.14	6.63	6.90		
Presumptive LAB^x							
d0	1.24 ± 0.31	1.42 ± 0.47	1.63 ± 0.65	1.36 ± 0.10	1.21 ± 0.33	0.20	NS
d3	1.85 ± 0.39	2.10 ± 0.32	1.78 ± 0.34	2.17 ± 1.10	2.02 ± 0.89	0.16	NS
d6	3.37 ± 0.17	3.26 ± 0.25	3.14 ± 0.92	3.06 ± 0.82	3.20 ± 0.24	0.09	<u>0.08</u>
d9	5.07 ^{AB} ± 0.09	4.85 ^{AB} ± 0.44	4.72 ^B ± 0.37	4.66 ^B ± 0.46	5.17 ^A ± 0.40	0.13	0.004
Total bacterial growth (d9-d0)	3.83	3.43	3.09	3.30	3.96		
<i>Listeria</i> spp							
d0	1.37 ± 0.04	1.53 ± 0.65	1.35 ± 0.07	1.36 ± 0.06	1.34 ± 0.04	0.13	NS
d3	1.30 ± 0.18	1.29 ± 0.27	1.29 ± 0.28	1.40 ± 0.35	1.38 ± 0.22	0.07	NS
d6	1.37 ± 0.03	1.29 ± 0.04	1.37 ± 0.03	1.36 ± 0.04	1.28 ± 0.10	0.06	NS
d9	1.30 ± 0.17	1.32 ± 0.77	1.30 ± 0.40	1.26 ± 0.32	1.24 ± 0.19	0.13	NS
Total bacterial growth (d9-d0)	-0.07	-0.21	-0.05	-0.1	-0.1		
<i>Enterobacteriaceae</i>^x							
d0	1.81 ± 0.10	2.37 ± 0.63	2.23 ± 1.07	1.79 ± 0.11	1.79 ± 0.11	0.23	<u>0.05</u>
d3	2.81 ± 0.60	3.02 ± 0.60	2.86 ± 1.00	2.73 ± 0.98	2.76 ± 0.88	0.19	NS
d6	4.24 ^{AB} ± 1.55	3.76 ^B ± 1.01	4.58 ^A ± 1.33	3.62 ^B ± 1.87	3.67 ^B ± 1.82	0.20	0.001
d9	4.91 ^{AB} ± 0.60	5.05 ^{AB} ± 1.23	5.44 ^A ± 0.82	4.81 ^B ± 1.28	4.97 ^{AB} ± 1.03	0.16	0.02
Total bacterial growth (d9-d0)	3.10	2.68	3.21	3.02	3.18		
Coliforms^x							
d0	1.83 ± 0.01	2.08 ± 0.39	2.14 ± 1.10	1.80 ± 0.07	1.81 ± 0.10	0.22	NS
d3	2.56 ± 0.70	2.89 ± 0.94	2.66 ± 0.86	2.70 ± 0.89	2.80 ± 0.94	0.18	NS
d6	3.50 ^{AB} ± 1.24	3.21 ^{AB} ± 1.55	3.85 ^A ± 0.92	2.77 ^B ± 1.32	2.90 ^B ± 1.29	0.24	0.001
d9	5.04 ^{AB} ± 1.03	5.01 ^{AB} ± 1.03	5.36 ^A ± 0.96	4.69 ^B ± 1.25	4.89 ^{AB} ± 1.03	0.14	0.005
Total bacterial growth (d9-d0)	3.21	2.93	3.22	2.89	3.08		
Presumptive <i>S. aureus</i>^x							
d0	1.58 ± 0.21	1.82 ± 0.40	1.69 ± 0.40	1.91 ± 0.27	1.70 ± 0.29	0.12	NS
d3	1.82 ± 0.56	2.02 ± 0.46	1.87 ± 0.47	1.89 ± 0.47	2.01 ± 0.25	0.13	NS
d6	1.66 ± 0.35	1.60 ± 0.11	1.69 ± 0.33	1.53 ± 0.18	1.78 ± 0.34	0.13	NS
d9	1.51 ± 0.42	1.85 ± 0.25	1.78 ± 0.61	1.66 ± 0.20	1.91 ± 0.46	0.20	NS
Total bacterial growth (d9-d0)	-0.07	0.03	0.09	-0.25	0.21		

Each value represents the means of n=8 cages (a cage of six rabbits is the experimental unit) with SD: standard deviation. SEM: standard error of the mean. NS: not significant. cfu/g: colony forming units per gram. P values in bold are significant, underlined values describe a tendency (P < 0.10). Different letters (A–C) within the columns (different groups) differ significantly (P < 0.05). C: commercial feed; O⁵⁰⁰: Commercial feed + 500 ppm onion extract; O¹⁰⁰⁰: commercial feed + 1000 ppm onion extract; O⁵⁰⁰/Cr⁵⁰⁰: commercial feed + 500 ppm onion extract + 500 ppm cranberry extract; O⁵⁰⁰/EO¹⁰⁰: commercial feed + 500 ppm onion extract + 100 ppm essential oils.

^xTime effect, P < 0.0001. ^ztreatment effect observed at each time.

4.5.4.2. Anaerobic conditions

Under anaerobic conditions (Table 4.6), treatment effect is observed mainly on TAM and presumptive *Pseudomonas* counts. Effect of treatment on level of TAM was significant ($P < 0.05$) during the whole storage period except at day 15 ($P > 0.05$). TAM counts were significantly higher ($P < 0.05$) in the group supplemented with 500 ppm onion extract (O^{500}) at day 0 compared to all the other groups except for O^{1000} ($P > 0.05$). By contrast, after a 5d storage, counts for all the other experimental groups were significantly lower than O^{500} , including the control, with a logarithmic difference ranging between 1.08 and 1.29 Log ($P < 0.05$). At day 10, the control group was not different than the experimental groups ($P > 0.05$), but amongst the experimental ones, O^{1000} and O^{500}/Cr^{500} were the lowest ($P < 0.05$). No difference was noted at day 15, but at 20, a significant difference between the control and O^{500} was observed ($P < 0.05$). After 20 days of storage, TAM counts were above 7 Log₁₀ CFU/g for all five experimental groups, including the control, indicating that end of shelf life under anaerobic conditions was reached between 15 and 20 days.

With respect to the presumptive *Pseudomonas* counts, an effect of treatment was observed at all times except at day 10 ($P < 0.03$). The results revealed that at 0 d, a significant difference was only observed between the control and the O^{500} supplemented group ($P < 0.05$). After a 5d storage, O^{500} was significantly different ($P < 0.05$) than all the other groups except with O^{500}/Cr^{500} ; the largest log difference (0.92 Log) was observed between the control group and O^{500} . At day 10, no significant difference was observed amongst the groups ($P > 0.05$), but at day 15, the control and the O^{500} group had greater presumptive *Pseudomonas* counts than O^{500} and O^{500}/Cr^{500} but not O^{500}/EO^{100} . At the end of the storage period (20 d), a significant effect of treatment was observed ($P = 0.03$), but all presumptive *Pseudomonas* counts were above 9 Log₁₀ CFU/g.

At 0 and 5 d, there was no treatment effect ($P > 0.05$) on the level of presumptive LAB. Treatment effect was observed at day 10 and 15 ($P < 0.05$) and was lost by the end of storage (20d; $P < 0.05$) where all presumptive LAB counts were around 8 Log₁₀ CFU/g. At 10 d, the rations supplemented with O^{1000} had presumptive LAB counts significantly lower compared to O^{500} and the control group ($P < 0.05$). At day 15, O^{1000} was lower than the control and the O^{500}/EO^{100} group ($P < 0.05$).

As for the *Enterobacteriaceae* counts, a treatment effect was only observed at the end of the storage period ($P = 0.02$) where a significant difference was observed between O⁵⁰⁰/Cr⁵⁰⁰ and O⁵⁰⁰/EO¹⁰⁰ ($P < 0.05$), respectively the highest (8.09 Log₁₀ CFU/g) and the lowest (7.66 Log₁₀ CFU/g) counts, leaving the others in between.

Treatment effect on the coliforms was sporadic and only observed at day 5 ($P = 0.04$) and 20 d ($P = 0.03$). At day 5, O⁵⁰⁰ was significantly higher than all the other groups ($P < 0.05$). At day 20, a significant difference ($P < 0.05$) was only observed between O500 (the highest) and O⁵⁰⁰/EO¹⁰⁰ (the lowest) with a log difference of 0.47.

Overall, the stronger positive effect in reducing bacterial microflora has been observed especially on TAM, presumptive *Pseudomonas* spp., presumptive Lactic Acid Bacteria (LAB), *Enterobacteriaceae* and coliform counts during the anaerobic storage period. With the 500-ppm onion supplemented group, TAM and presumptive *Pseudomonas* counts start numerically higher to finish lower at day 20 compared to other experimental groups. We also observed that the microbial count of the O⁵⁰⁰ group appears to increase numerically for the different microorganisms studied compared to the other experimental groups, including the control group.

Tableau 4.6. Total aerobic mesophilic (TAM), presumptive *Pseudomonas* spp. and presumptive LAB and *Listeria* spp. in Log₁₀ CFU/g. *Enterobacteriaceae*, coliforms and presumptive *Staphylococcus aureus* counts in Log₁₀ CFU/10g on rabbit thighs between 0 and 20 days of storage at 4 °C under anaerobic conditions.

	C	O ⁵⁰⁰	O ¹⁰⁰⁰	O ⁵⁰⁰ /Cr ⁵⁰⁰	O ⁵⁰⁰ /EO ¹⁰⁰	SEM	P-value ^e
TAM^y							
d0	1.34 ^B ± 0.29	2.22 ^A ± 0.80	1.48 ^{AB} ± 0.60	1.33 ^B ± 0.33	1.42 ^B ± 0.31	0.24	0.007
d5	2.45 ^B ± 0.52	3.68 ^A ± 0.75	2.39 ^B ± 0.77	2.58 ^B ± 0.54	2.60 ^B ± 0.97	0.35	0.008
d10	4.84 ^{AB} ± 0.85	5.29 ^A ± 0.58	4.57 ^B ± 0.76	4.53 ^B ± 0.63	5.25 ^A ± 0.41	0.14	0.0001
d15	6.01 ± 0.85	5.66 ± 0.89	5.48 ± 0.35	5.59 ± 0.95	5.57 ± 0.37	0.20	NS
d20	8.41 ^A ± 0.43	7.88 ^B ± 0.55	8.28 ^{AB} ± 0.41	8.16 ^{AB} ± 0.30	7.97 ^{AB} ± 0.28	0.15	0.01
Total bacterial growth (d20-d0)	7.07	5.66	6.80	6.83	6.55		
Presumptive <i>Pseudomonas</i>^{xy}							
d0	1.15 ^B ± 0.49	2.07 ^A ± 0.85	1.71 ^{AB} ± 0.73	1.35 ^{AB} ± 0.46	1.20 ^{AB} ± 0.50	0.29	0.02
d5	3.00 ^B ± 0.65	3.92 ^A ± 0.81	3.16 ^B ± 0.54	3.28 ^{AB} ± 0.42	3.11 ^B ± 0.66	0.23	0.007
d10	5.78 ± 0.66	5.83 ± 0.25	5.64 ± 0.29	5.64 ± 0.41	5.73 ± 0.40	0.14	NS
d15	7.08 ^A ± 0.60	7.10 ^A ± 0.44	6.36 ^B ± 0.57	6.56 ^B ± 0.63	6.64 ^{AB} ± 0.22	0.17	0.001
d20	9.73 ^A ± 0.62	9.18 ^B ± 0.36	9.40 ^{AB} ± 0.14	9.72 ^A ± 0.66	9.25 ^{AB} ± 0.47	0.20	0.03
Total bacterial growth (d20-d0)	8.58	7.11	7.69	8.37	8.05		
Presumptive LAB^x							
d0	1.24 ± 0.31	1.42 ± 0.47	1.63 ± 0.65	1.36 ± 0.10	1.21 ± 0.33	0.20	NS
d5	2.12 ± 0.72	2.70 ± 1.14	1.97 ± 0.91	2.59 ± 0.80	2.24 ± 0.82	0.30	NS
d10	5.36 ^A ± 0.15	5.35 ^A ± 0.18	5.02 ^B ± 0.51	5.20 ^{AB} ± 0.23	5.33 ^{AB} ± 0.19	0.10	0.02
d15	6.91 ^A ± 0.31	6.57 ^{BC} ± 0.36	6.43 ^C ± 0.30	6.67 ^{ABC} ± 0.26	6.78 ^{AB} ± 0.21	0.10	0.003
d20	8.16 ± 0.40	8.09 ± 0.64	8.17 ± 0.40	8.43 ± 0.20	7.93 ± 0.06	0.14	NS
Total bacterial growth (d20-d0)	6.92	6.67	6.54	7.07	6.72		
<i>Listeria</i> spp							
d0	1.37 ± 0.04	1.53 ± 0.65	1.35 ± 0.07	1.36 ± 0.06	1.34 ± 0.04	0.14	NS
d5	1.33 ± 0.22	1.58 ± 0.51	1.31 ± 0.20	1.35 ± 0.21	1.50 ± 0.38	0.15	NS
d10	1.38 ± 0.03	1.27 ± 0.21	1.37 ± 0.03	1.36 ± 0.04	1.40 ± 0.08	0.04	NS
d15	1.34 ± 0.33	1.32 ± 0.19	1.19 ± 0.51	1.31 ± 0.03	1.56 ± 0.62	0.17	NS
d20	1.48 ± 0.40	1.64 ± 0.64	1.47 ± 0.40	1.28 ± 0.20	1.31 ± 0.06	0.19	NS
Total bacterial growth (d20-d0)	0.11	0.11	0.12	-0.08	-0.03		
<i>Enterobacteriaceae</i>^x							
d0	1.81 ± 0.10	2.37 ± 0.63	2.23 ± 1.02	1.79 ± 0.11	1.79 ± 0.11	0.23	<u>0.05</u>
d5	2.82 ± 0.83	3.37 ± 1.03	3.11 ± 1.10	3.26 ± 0.83	3.08 ± 0.73	0.19	NS
d10	4.77 ± 1.47	4.69 ± 1.67	5.01 ± 1.13	4.83 ± 0.97	4.90 ± 1.10	0.19	NS
d15	6.24 ± 1.75	6.39 ± 1.66	6.23 ± 0.91	6.40 ± 1.60	6.43 ± 1.36	0.30	NS
d20	8.07 ^{AB} ± 0.95	7.80 ^{AB} ± 0.99	7.75 ^{AB} ± 1.06	8.09 ^A ± 1.05	7.66 ^B ± 0.91	0.14	0.02
Total bacterial growth (d20-d0)	6.26	5.43	5.52	6.30	5.87		
Coliforms^x							
d0	1.83 ± 0.10	2.08 ± 0.39	2.14 ± 1.05	1.80 ± 0.07	1.81 ± 0.10	0.22	NS
d5	2.55 ^B ± 0.36	3.39 ^A ± 1.15	2.79 ^B ± 0.98	2.59 ^B ± 0.45	2.75 ^B ± 0.77	0.27	0.04
d10	4.50 ± 1.56	4.41 ± 1.42	4.55 ± 0.92	4.34 ± 0.74	4.71 ± 0.99	0.27	NS
d15	5.38 ± 1.66	5.89 ± 1.23	5.40 ± 0.46	5.79 ± 1.01	5.56 ± 0.90	0.35	NS
d20	7.21 ^{AB} ± 0.58	7.41 ^A ± 0.96	6.98 ^{AB} ± 0.46	7.27 ^{AB} ± 0.76	6.94 ^B ± 0.55	0.15	0.03
Total bacterial growth (d20-d0)	5.38	5.33	4.84	5.47	5.13		
Presumptive <i>S. aureus</i>^x							
d0	1.58 ± 0.21	1.82 ± 0.40	1.69 ± 0.40	1.91 ± 0.27	1.70 ± 0.29	0.13	NS
d5	1.81 ± 0.34	1.81 ± 0.47	1.61 ± 0.31	1.73 ± 0.37	1.81 ± 0.34	0.15	NS
d10	1.94 ± 0.19	1.90 ± 0.50	1.90 ± 0.28	1.73 ± 0.47	1.87 ± 0.30	0.18	NS
d15	1.85 ± 0.32	2.19 ± 0.57	1.93 ± 0.24	1.82 ± 0.15	1.80 ± 0.26	0.15	NS
d20	2.49 ± 0.19	2.74 ± 0.36	2.47 ± 0.62	2.98 ± 0.45	2.54 ± 0.28	0.20	NS
Total bacterial growth (d20-d0)	0.91	0.92	0.78	1.07	0.84		

Each value represents the means of n=8 cages (a cage of six rabbits is the experimental unit) with SD: standard deviation. SEM: standard error of the mean. NS: not significant. CFU/g: colony forming units per gram. P values in bold are significant, underlined values describe a tendency (P < 0.10). Different letters (A–C) within the columns (different groups) differ significantly (P < 0.05). C: commercial feed; O⁵⁰⁰: Commercial feed + 500 ppm onion extract; O¹⁰⁰⁰: commercial feed + 1000 ppm onion extract; O⁵⁰⁰/Cr⁵⁰⁰: commercial feed + 500 ppm onion extract + 500 ppm cranberry extract; O⁵⁰⁰/EO¹⁰⁰: commercial feed + 500 ppm onion extract + 100 ppm essential oils. ^xTime effect, P < 0.0001. ^yTime × treatment effect, P < 0.0001. ^ztreatment effect observed at each time. ^eTime effect, P < 0.0001. ^fTime × treatment effect, P < 0.0001. ^gtreatment effect observed at each time.

4.6. Discussion

The use of plant extracts (onion and cranberry) and essential oils rich in polyphenols, alone or in combination, on the quality of rabbit meat was studied for their antimicrobial effects. Rotolo et al. (2013) did observe a positive effect on rabbit growth performances when the diet was supplemented with 1% (w/w) of oregano and sage dried leaves. An et al. (2005) also observed a positive effect on the growth performance of white mini broilers with onion extracts (0.3% or 0.5%) added in their diet. Our study has not shown such positive effects of phenolic compound supplementation on the growth performance of rabbits at the level tested (100-1000 ppm of extract). Similar absence of improved zootechnic performances has been observed when rabbit consumed a diet supplemented with three levels (0%, 10% or 15%) of chia seeds (Peiretti and Meineri, 2008). Growth performance of our rabbits was also consistent with the studies of Botsoglou et al. (2004) and Papageorgiu et al. (2003) which did not observe significant differences when oregano essential oil was provided to rabbits and turkeys, at doses of 100 and 200 mg per kg of feed. In the present study, rabbits were raised in commercial cages at a research facility where ideal and controlled experimental rearing conditions were characterized by low infection pressure and stress level compared to intensive farming conditions (Bou et al., 2009).

To our knowledge, no studies considering the effect of onion and cranberry extracts, alone or combined at the dose tested, on rabbit meat composition (proteins, lipids, moisture) has been published. Rotolo et al. (2013) concluded that the combination of oregano and sage dried leaves on crude protein of LL meat don't modify meat proximate composition. On the other hand, Cardinali et al. (2015) tested 0.2% oregano extract, 0.2% rosemary extract and a combination of 0.1% oregano + 0.1% rosemary on meat composition of LL and found positive effect on lipids and moisture following in supplementation. In the results presented in table 4, lipids (12.41 to 15.25) and protein (21.45 to 22.49) were comparable to those reported by Salvini et al. (1998) but in non-enriched meat. And since our supplementation have no negative effect, one can envisage their use in animal feed.

The diet supplementation tested here did not have detrimental effect on meat quality parameters either, except for cooking loss. Generally, the loss of exudates from muscle tissue

is unavoidable and reduces the meat nutritional value, because some nutrients may be lost in the exudate (Kerry et al., 2002). In addition, during cooking, an increased rigidity of the myofibrillar structure of the meat occurs due to the denaturation of proteins and this is associated with increased water loss (Hughes et al., 2014). Testing cooking loss on the LL muscle as well, Cardinali et al. (2012) observed a decreased cooking loss with a dietary supplementation of oregano and rosemary extracts in comparison with the control group.

In the consumer mind, meat with a nice red colour is synonymous of fresh good quality product (Renerre and Labas, 1987). It is the first quality attribute seen by the consumer and influences product acceptance at the time of purchase. In the present study, the combination of plant extracts and essential oils studied did not influence color ($P > 0.05$) although the numerical values for redness (a^*) of the LD muscle are below the control for all the experimental groups ($P = 0.07$) which is in agreement with the results obtained by Cardinali et al. (2012). In broiler breast meat, Allen et al. (1997) found that there was a correlation between pH and meat colour; as the pH decreased, the lightness and yellowness values increased, but the redness values were reduced. In the current study, no significant differences were observed in rabbit meat pH_u between treatments. According to Hulot and Ouhayoun (1999) the variability of pH from one muscle to another depends on the type of fiber which constitute them and the glycolytic potential of each muscle.

The phenolic concentration of the different rations (Table 4.2) used in our study can be explained by the difference in the chemical structure of the bioactive compounds and by the nature of the food ingredients. This has been confirmed by the studies of Dudonné et al. (2015) who demonstrated that the absorption and metabolization of phenolic compounds are shown to be strongly modulated by the structure of the phenolic compounds. Indeed, the control group feed has been formulated with plants such as alfalfa. The latter is considered a plant rich in phenolic compounds such as isoflavones (daidzein) and lignans (Dal Bosco et al., 2015), hence the total phenol richness observed in Table 4.2 (5.47 ± 0.13 mg GAE/g of feed).

In our study, the meat of rabbits fed on onion and cranberry extracts had the highest polyphenol content compared to other groups. The richness of cranberries in (+)-catechin and (-)-epicatechin (Dudonné et al., 2015), may explain this result given that these monomers

are more assimilable than procyanidins B1 and B2, dimers (Brenes et al., 2015; Collin and Crouzet, 2011). However, even if these compounds, such as the procyanidins and ellagitannins, are known to be poorly absorbed), the combination of these compounds with quercetin (onion) increases the bioactivity of certain plant extracts. This has been proven by the work of Yves Desjardins (2014) when obese rats orally ingested phenolic compounds GlucoPhenol (a mixture of strawberry and cranberry extracts) supplemented with onion extract in comparison to the group without onion supplementation.

Our results also show that the addition of polyphenol rich extracts in animal feed, is found in meat (Table 4.2 and 4.4). In contrast to the feed, the polyphenol content of rabbit meat fed with plant extracts and essential oils was significantly higher than that of the animals in the control group. These results mean that the polyphenols of onion, cranberries and essential oil extracts were better absorbed and assimilated by rabbits than those of the control diet.

There is a relationship between concentrations of phenol compounds ($O^{500}/Cr^{500}=1.35$ mg GAE/g; $O^{500}/EO^{100}=1.23$ mg GAE/g) and antibacterial activity. It is noted that the log difference (more than one log) of the growth of certain microorganisms (*Enterobacteriaceae*, coliform counts) was observed in meat from rabbits fed O^{500}/Cr^{500} and O^{500}/EO^{100} . Several studies suggest that meat and meat products shelf life can be extended by the presence of natural antioxidants coming from plant extracts and essential oils or a combination of both (Palazzo et al., 2015; Negi, 2012). Furthermore, according to Zhang et al. (2016), a synergistic inhibitory effect on food-borne bacteria has been observed when spice extracts are combined. It could be concluded that the more polyphenols there are in the meat, the stronger its antimicrobial action. However it must be remembered that the degree of inhibition depends on the combination of spices, microorganisms and storage like temperature for example (Zaika, 1998).

According to FDA (1999), a log reduction below 1 has little practical value. In our study, the addition of extracts of vegetables and essential oils in the diet of rabbits does not seem to have a positive effect on the number of bacterial compared to control group, during storage. The significant differences observed are more between the experimental groups ($P < 0.05$). Indeed, the analyses revealed that significant antimicrobial activity of O^{500}/Cr^{500} and O^{500}/EO^{100} groups on rabbit meat was observed, although sporadic, with a logarithmic

difference that can reach up to 1.08-log compared to O¹⁰⁰⁰ group (Table 4.5). And O¹⁰⁰⁰ group compared to O⁵⁰⁰ group with a maximum logarithmic difference to 1.29 (Table 4.6). The significant differences of microbial counts of TAM and presumptive *Pseudomonas* at 0d -between treatments, under aerobic and anaerobic conditions - were possibly due to different hygiene conditions in the slaughterhouse, the individual effect of animals. Total aerobic and presumptive *Pseudomonas* counts were the most affected by the treatment effect. For the presumptive LAB, it is only by the end of the storage period, under both refrigeration conditions, that the treatment effect is seen on the evolution of their development. The conclusion must be drawn carefully with respect to cell numbers of heterogeneous groups such as TAM and presumptive LAB. Although the number might be similar, the actual strains growing at a specific time may differ. Hence, other methods, like metagenomic for instance, would have to be used to evaluate the strain variation and modulation.

Furthermore, in our study, under anaerobic conditions, the O⁵⁰⁰ group appears to have reduced numerical counts of TAM and presumptive *Pseudomonas*. Whereas according to Ceylan and Fung (2004), bioactive components of plant-origin have a relatively weak antimicrobial activity against *Pseudomonas* spp.

Onion and cranberries are known for their antimicrobial activity, which is linked to their phenolic moiety, and therefore are suitable as natural antimicrobial ingredients. As for essential oils, their antimicrobial activity is linked to phenolic constituents such as carvacrol, eugenol, and thymol, amongst the most active constituents with a wide spectrum of antimicrobial properties (Dinesh and Cheorun, 2013). It was been shown that gram-negative bacteria are somewhat resistant to antimicrobials of plant origin because of the lipopolysaccharide present in the outer membrane (Burt, 2004; Zhang et al., 2016). But but in our study, this fact was not observed on *Enterobacteriaceae*, coliform and presumptive *Pseudomonas*. Overall, presumptive *Pseudomonas* (7.85 log₁₀ to 8.10 log₁₀ CFU/g at day 9) was the prevailing microbial group under aerobic storage as expected (Dainty and Mackay, 1992). The end of shelf life reached when TAM cell count is at 7 log₁₀ cfu/g or higher (ICMST, 1986). When pathogens are in low number, it becomes advantageous to use indicator organisms such as generic *E. coli*, *Listeria* spp. presumptive *S. aureus*, to evaluate safety risk (Buchanan and Oni, 2012). Our results indicate that for those indicator organisms,

counts were below or close to the detection level ($1.32 \text{ Log}_{10} \text{ CFU}/10\text{g}$) and so remained low throughout the storage. Only presumptive *S. aureus* counts increase by hardly a log (0.84-1.07 log) in 20 days of refrigeration under anaerobic conditions. To more properly assess the effect of diet supplementation with polyphenols on pathogens, inoculation of meat at various levels would be required.

The antimicrobial effects of many plant extracts have been well studied. According to Negi (2012), the effectiveness of antimicrobial compounds depends on its type and concentration, the pH of the food, type and number of contaminating microorganisms. And Zhang et al. (2016) reported a stronger antimicrobial activity for mixed spice extracts (clove and rosemary) when compared with using the individual extract separately. In our study, the combination of plant extract and essential oils had a synergistic effect on some microorganisms (*Enterobacteriaceae*, coliform, presumptive LAB), especially under anaerobic conditions.

Previous studies by Koné et al. (2016) have revealed that diets supplemented with 10 ppm of active plant extracts and essential oils ingredients especially with essential oils, had a small but sporadic positive effect on bacterial microflora compared to the control. The same conclusion was observed in our study during the addition of some natural extract plants (high dose) - in the feeding rabbit - exhibited an antimicrobial effect against some microorganisms. The effects are admittedly real (reduction of 1 log and more) but sporadic in aerobic and anaerobic conditions.

4.7. Conclusion

The findings of this study evidenced that the combination of plant extracts and essential oils supplementation had no effect on carcass yield. Whether it is under aerobic or anaerobic conditions, the effect of diet supplementation with polyphenols had a sporadic effect on microbial quality of rabbit thighs (more than 1 log) when combined extracts and essential oils were added in rabbit's feed. This study shows that the combination of plant extracts and essential oils (at higher dose) has the potential to improve meat safety by such feeding strategy. Other analyzes are to consider to study the bioavailability of polyphenols in meat and determine the molecular species present. This would make it possible to know the

microbial metabolism of polyphenols and determine if the measured effects are derived from a prebiotic effect of these chemical compounds or effect of metabolites.

4.8. Acknowledgements

This research was carried out with the financial support of the *Programme de soutien à l'innovation en agroalimentaire*, a program derived from the *Growing Forward* agreement between the *Ministère de l'agriculture des pêcheries et de l'alimentation du Québec* (MAPAQ) and Agriculture and Agri-Food Canada. The *Syndicat des producteurs de lapins du Québec* is also a partner in this project.

Chapitre 5: Application of *Carnobacterium maltaromaticum* CB1 as a feed additive for weaned rabbits to improve meat microbial quality and safety

Ce chapitre a été soumis à la revue scientifique Meat Science.

Quand les animaux sont en santé, il ya peu ou pas de microorganismes dans leurs muscles sont peu ou pas contaminés sauf pour les ganglions lymphatiques. Donc, c'est la surface des carcasses qui se contamine au contact de l'environnement incluant les organismes provenant du système gastro-intestinal. En outre, la pression des consommateurs pour réduire, voire éliminer, l'ajout d'additifs chimiques dans les aliments est de plus en plus grandissante. Selon la définition de l'OMS, "les probiotiques sont des microorganismes vivants qui lorsqu' administrés en quantité suffisante, exercent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte". Bien que largement étudié pour leurs effets bénéfiques sur la santé, l'impact de la consommation de probiotiques par les animaux d'élevage sur l'hygiène des carcasses reste à déterminer. Dans notre étude, une culture protectrice commerciale a été utilisée afin de valider que la consommation de cette dernière peut influencer voire moduler positivement la contamination des carcasses et l'évolution de la microflore lors d'un entreposage réfrigéré.

Les résultats de cette étude ont fait l'objet de plusieurs communications scientifiques :

Koné, A. P., J. M. Velez Zea, M. Z. Abdelwahed, D. Cinq-Mars, F. Guay, Y. Desjardins, A. Gosselin, et L. Saucier. 2015. Amélioration de la qualité microbiologique des carcasses de lapin par ajout à la ration d'une culture protectrice commerciale. Journée de la recherche de la Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval, 20 mai, Québec, Qc.

Koné, A. P., J. M. Velez Zea, D. Cinq-Mars, F. Guay, et L. Saucier. 2015. Amélioration de la qualité microbiologique des carcasses de lapin par ajout à la ration d'une culture protectrice commerciale. 83ème congrès de l'ACFAS, Section n°207- Ressources naturelles (présentation orale), Université du Québec à Rimouski (UQAR), 25-29 mai, Rimouski, Qc.

Koné, A. P., M. Z. Abdelwahed, D. Cinq-Mars, Y. Desjardins, F. Guay, A. Gosselin, et L. Saucier. 2016. Improvement of rabbit meat microbial quality by feed supplementation

with plant extracts and essential oils. 96th Annual Canadian Meat Council Conference 27-29 sept., Ottawa, ON.

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

Contributions des auteurs :

Amenan Prisca Nadège Koné (candidat au Ph. D.) : mise en place du protocole, planification des expériences, collecte, analyse et interprétation des données microbiologiques, préparation du manuscrit.

Prof. Linda Saucier, Prof. Frédéric Guay et Prof. Dany Cinq-Mars (Directrice de recherche, auteur correspondant et les co-directeurs, respectivement) : participation à la mise en place du protocole, révision et correction du manuscrit. De plus, le Prof. Guay supervisait les analyses statistiques.

Dominic Gagné (collaborateur): Réalisation de l'analyse biomoléculaire et participation à la correction du manuscrit.

Juliana Maria Velez Zea (étudiante stagiaire): soutien pour les analyses microbiologiques et l'alimentation des animaux.

Autres collaborateurs:

Monica Gill (Assistante de recherche du Prof. Linda Saucier): Réalisation de l'inoculation expérimentale de *Listeria monocytogenes* dans la viande hachée compte tenu de ma grossesse.

Application of *Carnobacterium maltaromaticum* as a feed additive for weaned rabbits to improve meat microbial quality and safety

Amenan Prisca Koné^{a,b}, Juliana Maria Velez Zea^{a,c}, Dominic Gagné^a, Dany Cinq-Mars^a,
Frédéric Guay^a, Linda Saucier^{a,b,*}

^a Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Food Science, Université Laval, 2425 rue de l'Agriculture, Quebec City, QC, Canada, G1V 0A6

^b Institute of Nutrition and Functional Foods, Université Laval, 2440 boul. Hochelaga, Quebec City, QC, Canada, G1V 0A6

^c Escuela de Biociencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, A.A. 3840, Medellín, Colombia

*Corresponding author: Université Laval, Québec (QC), Canada, G1V 0A6

Téléphone: 418-656-2131 #6295

Fax: 418-656-3766

E-mail: linda.saucier@fsaa.ulaval.ca

5.1. Résumé

Cette étude aborde l'amélioration de la qualité microbienne de la viande en enrichissant le régime alimentaire des animaux de ferme par une culture protectrice. Un total de 144 lapines Grimaud sevrées ont été divisées en deux groupes expérimentaux: un régime alimentaire témoin et un régime supplémenté avec Micocin® (*Carnobacterium maltaromaticum* CB1; 8 Log₁₀ UFC / kg d'aliments). Les organismes aérobies mésophiles totaux (AMT), *Escherichia coli* et autres coliformes, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* spp, *Listeria* spp. et les dénombrements de bactéries lactiques présomptives ont été évalués sur les cuisses entières entreposées dans des conditions aérobies (0, 3, 6, 8 jours) et anaérobies (0, 5, 10, 15, 20 jours) à 4 °C. Les résultats ont démontré que la microflore sur les cuisses réfrigérées était modulée par l'ajout de Micocin® dans l'alimentation ($P < 0,05$) et que la réduction la plus efficace de la croissance de *L. monocytogenes* était observée avec de la viande hachée entreposée en conditions anaérobies à 4 °C avec une réduction logarithmique de 2 log à la fin d'un entreposage de 15 jours ($P = 0,025$).

Mots-clés: *Carnobacterium maltaromaticum* CB1; *Listeria monocytogenes*; contamination de la viande; qualité de la viande; viande de lapin; durée de conservation.

5.2. Abstract

This study addresses the improvement of meat microbial quality by enriching the diet of farm animals with a protective culture. Weaned Grimaud rabbits were divided into two experimental groups: a control and a diet supplemented with Micocin® (*Carnobacterium maltaromaticum* CB1; 8 Log₁₀ CFU/kg of feed). Overall, meat quality was not affected substantially by the treatment. Total Aerobic Mesophilic (TAM), *Escherichia coli* and other coliforms, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* spp., *Listeria* spp. and presumptive lactic acid bacteria counts were evaluated on whole thighs stored under aerobic (0, 3, 6, 8 days) and anaerobic (0, 5, 10, 15, 20 days) conditions at 4 °C. The results demonstrated that the microflora on refrigerated thighs was modulated by the addition of Micocin® ($P < 0.05$) and that the most effective reduction of *Listeria monocytogenes* growth was observed with ground meat stored under anaerobic conditions at 4 °C with a 2 Log difference at the end of a 15-day storage ($P = 0.025$).

Keywords: *Carnobacterium maltaromaticum* CB1; *Listeria monocytogenes*; meat contamination; meat safety; rabbit meat; shelf life.

5.3. Introduction

Nowadays, importance of healthy foods, including meat, continues to be a concern for the consumer (Fread, 2015). Rabbit meat often stands for its healthier characteristics due to its higher protein content, low unsaturated fats, richer in polyunsaturated ones, absence of uric acid and purines, compared to pork or beef meat (Dalle-Zotte, 2004; Ramírez et al., 2005, Hernández, 2006; Nistor et al., 2013). However, its annual consumption remains limited worldwide to 0.30 kg per capita (Gidenne, 2006) in comparison to beef (6.4 kg), pork (12.5 kg) and poultry (13.5 kg, OECD, 2015). According to the Codex Alimentarius Commission (CAC, 2005) and the FAO (2005), meat is traditionally viewed as a potential vehicle for the transmission of foodborne disease with *Campylobacter* spp., *Salmonella enterica* serotypes, *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* being the most frequently reported culprits (Newell et al., 2010). Meat is the most frequently implicated food in Canada, and fish in the USA (Bélanger et al., 2015). Foodborne diseases have economic consequences evaluated at 3.7 billion \$CAN (PHAC, 2012a) and 10-83 billion \$USD (Nyachua, 2010) per year in Canada and the USA, respectively, whereas in the European Union, 3 billion € is accounted for annually for *Salmonella* infections alone (DeWaal, & Robert, 2005). Even when meat is produced under strict hygienic conditions, surface contamination by spoilage and pathogenic microorganisms is to be expected. Even healthy animals may constitute a reservoir for foodborne pathogens (PHAC, 2012b). Therefore, new strategies must be investigated for microbial control as the use of chemical additives is no longer a viable option in terms of consumers' demands (Ricke, 2003). More natural interventions have been widely studied by the food processing industry including lactic acid bacteria (LAB), which act as protective cultures in functional meat (Vamanu, & Vamanu, 2010). Some of them improved shelf life during food and meat storage and it is due, at least in part, to the production of inhibitory substances such as organic acids, ethanol, diacetyl, bacteriocins and hydrogen peroxide (Kandler, & Weiss, 1986) that limit the growth of other organisms, including pathogens (Leroy, & De Vuyst, 2004; Castellano et al., 2008). In the meat industry, the prevalence of LAB is achieved through a competitive exclusion to extend the shelf life of meats notably under modified atmosphere packaging (Saucier, 1999).

Micocin® is a dry-formulated live culture of *Carnobacterium maltaromaticum* CB1 which produces bacteriocins and other antimicrobial metabolites. It was designed to be used for

ready-to-eat meats where this LAB species forms a major part of the microbial population. It has been approved for use in Canada, Mexico, Costa Rica, Colombia and the United States (Health Canada, 2010; Marketwire, 2011). It has the ability to control the growth of spoilage and pathogenic bacteria during the storage of vacuum packaged meat products (Goktepe, 2006; Gálvez et al., 2008). *C. maltaromaticum* is an atypical heterofermentative, tolerant to freezing, thawing, high pressure and it can grow at temperatures as low as 0 °C (Caplice, & Fitzgerald, 1999; Hammes, & Hertel, 2003; Leisner et al., 2007). Strain CB1 produces three bacteriocins: carnocyclin A, piscicolin 126 and carnobacteriocin BM1, which have been proven to be effective to inhibit the growth of *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Pediococcus acidilactici*, *C. divergens*, *Lactococcus lactis* spp. *lactis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lb. casei*, *Leuconostoc gelidum*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, and more particularly, *L. monocytogenes* (Laursen et al., 2005; Casaburi et al., 2011; Gonzalez, Yien, & Castrillon, 2013).

LAB have been successfully used in feed, as a probiotic supplement improving notably gastrointestinal health of the animal ingesting it (Collins, & Gibson, 1999). Studies in rabbits have shown reduced gut colonization of *E. coli* and other enteric pathogens, higher average daily weight gain, better feed conversion ratio and enhanced absorption of the intestinal mucosa (Kritas et al., 2008; Coperland et al., 2009; Ezema, & Eze, 2012; Seyidoglu, & Peker, 2015). However, to our knowledge, no studies have investigated the effect of such probiotic feed additives with respect to meat quality and safety. Therefore, the aim of this study was to demonstrate that the use of a positive microflora, such as Micocin®, as a feed additive in rabbit rations, can modulate carcass contamination in order to improve meat microbial quality and safety.

5.4. Materials and Methods

5.4.1. Animal housing and feeding

Animal care and handling procedures were approved by Université Laval's Animal Use and Care Committee, which strictly adheres to the Guidelines of the Canadian Council on Animal Care (CCAC, 2009). A total of 144, 35-day-old weaned female Grimaud breed rabbits were obtained from a commercial farm (Laprodéo, Saint-Tite, Quebec, Canada) and

were maintained in conventional commercial cages. Rabbits were individually weighted upon arrival and assigned immediately either to the experimental or the control group. Rabbits were placed six per cage (0.37 m² per rabbit) in order to have homogeneous weight per cage and within groups; the cage constituted the experimental unit. Twelve cages were analyzed per experimental group. In order to make sure that the control group does not get contaminated by the microbial culture (Micocin®, Griffith Foods, Toronto, ON, Canada) given to the experimental one, the animals had to be housed in two different but similar rooms and strict biosecurity measures were observed. On a daily basis, control group were always visited first and the personnel changed clothes, mask, hair net and gloves between each group. If the control group needed to be revisited, personnel had to shower first. A cycle of 12 h of light (starting at 9:00 am) and 12 h of dark was used throughout the experiment, temperature was at 20.1 ± 0.4 °C and humidity level at 33 ± 4 %.

The experimental group was fed the ration supplemented with the protective culture Micocin® containing *C. maltaromaticum* CB1 at a final concentration of 8 Log₁₀ CFU (Colony-Forming Unit) per kg of feed. Micocin® was provided to us as a concentrate containing 10 Log₁₀ CFU/g which was added during the commercial pelleting process (Table 5.1). Feed was manufactured in a commercial facility in separate 600 kg batches (Belisle Solution Nutrition, St-Mathias-sur-Richelieu, Quebec, Canada). The feed supplemented with Micocin® was manufactured last to avoid contaminating the equipment. Animals were fed *ad libitum* until a minimal target slaughter weight of 2.200 g was reached, which took 21 to 28 days. They were weighed, and the feed intake was measured weekly during the experimental period to determine body weight (BW), average daily gain (ADG), average daily feed intake (ADFI) and feed conversion ratio (FCR).

To make sure truck and slaughter line was not contaminated by *C. maltaromaticum* CB1, the two groups had to be slaughtered on two different days, the one without supplement first, to avoid cross contamination. They were fasted 15 h before slaughter, including transport and lairage time, according to the current commercial practices to reduce transport-related sickness (Bianchi et al., 2008). They had access to water at all times prior to transport. The length of transport to the abattoir was 30 min, and animals were allowed a waiting period of 30 min before slaughter. They were the first rabbits to be slaughtered at those two dates in

order to standardize contamination coming from the slaughter house. Animals were slaughtered in a provincially inspected establishment according to regulations in Quebec, Canada (DGSAIA, 2011).

Tableau 5.1. Nutritional values and composition of the commercial diets.

	Commercial data ^b		Analysis	
	Wet basis	Dry basis ^c	Control	Micocin®
Dry matter %			90.75 ± 0.07	90.70 ± 0.01
Crude protein %	16.0	17.63	16.52 ± 0.30	16.49 ± 0.07
Crude fat matter %	4.6	5.07	3.67 ± 0.02	3.68 ± 0.01
Crude fiber (real) %	18.1	19.94		
Calcium (real)%	1.00	1.10		
Phosphorous (real) %	0.44	0.48		
Sodium (real) %	0.30	0.33		
Vitamin A (min) UI/kg	6034	6649		
Vitamin D (min) UI/kg	1018	1122		
Vitamin E (min) UI/kg	40.0	44.08		
Total selenium (real) mg/kg	0.19	0.21		
Added selenium mg/kg	0.10	0.11		

^a**Composition:** Alfalfa, beet pulp, wheat, soybean meal, canola meal, corn gluten feed, molasses, mineral and vitamin premix.

^bData provided by the commercial feed mill on a wet basis.

^cData calculated using the measure dry matter.

5.4.2. Meat quality measurement

For meat quality measurement, one rabbit per cage was randomly analyzed. The muscular pH of the Biceps femoris (BF) and the Longissimus lumborum (LL) muscles were measured post-mortem after 1 (pH 1) and 24 h (pHu; Blasco, & Ouhayoun, 1996) using a portable pH meter (ROSS, Orion Star A221, Thermo Scientific, Beverly, CA, USA) combined with an Orion Kniphe electrode (ThermoFisher, Nepean, ON, Canada) and a temperature compensation probe (928 007 MD, micro probes ATC, Maryland, USA). Meat colour was evaluated 24 h after slaughter on the LL and the exposed surface of the BF using a Chromameter (Chromameter CR 300 Minolta Ltd., Osaka, Japan) equipped with a D65 light source and a 0° viewing angle geometry according to the reflectance coordinates (L*, a*, b*; CIE, 1976), after exposing the muscle surface for 20 min blooming time (Faucitano, Chevillon, & Ellis, 2010). Meat exudate lost (%) during cold storage was measured by weight difference of the thighs. Regarding drip loss, the measure was taken from a piece of *Longissimus thoracis et lumborum muscle* (LTL about 2 cm thick x 2.5 cm in diameter) also

by weight difference, according to the EZ-Driploss method (Rasmussen, & Anderson, 1996), where samples are stored at 4 °C for 48 hours. Cooking loss was determined on a similar piece of LTL muscle (Pla, 1999) and is expressed as a percentage of the initial weight loss. Each sample was placed into an 18 oz Whirl-Pak bag (Nasco Whirl-Pak®, USA) and immersed in a water bath at 70 °C for 15 minutes after removing the air from the bag. The samples were then removed from the bag, patted dry with filter paper and weighed (Vergara, Berruga, & Linares, 2005; Apata et al., 2012).

5.4.3. Muscle Sampling

One leg per animal was packaged aerobically in a styrofoam tray (14w x 24l x 4.5h cm) with an absorbent pad, sealed with an oxygen-permeable polyethylene film (35 ga; oxygen transmission 825 cc/100 sq. in. per 24 h at 23°C; water vapor transmission rate 24 g/100 sq. in. per 24 h at 38°C and 90% RH) obtained from a local food equipment distributor (Emballage L. Boucher, Quebec, QC, Canada) and stored at 4°C for 0, 3, 6 or 8 days. The other leg was vacuum packaged (Sipromac, St-Germain, QC, Canada) in bags (nylon [23%] and polyethylene [77%; seven multilayered] of 300 ga; oxygen transmission 3.3 cc/100 sq. in. per 24 h at 23°C; water vapor transmission rate 0.5g/100 sq. in. per 24 h at 38°C and 90% RH; Sealed Air Co, Mississauga, ON, Canada) and also stored at 4 °C for 0, 5, 10, 15 or 20 days. The rest of the carcass was deboned and the meat was ground (Electric meat Grinder, No RE50255, IPNO IPXI, China) and stored at -30°C.

5.4.4. Proximate analysis

Samples (100 g) were lyophilized (freeze dryer Model 6203-3005-OL, Virtis Co., Gardiner, NY, USA) for 7 days. The fat content was measured using a Tecator extraction unit (Soxtec system HT 1043, Hoganas, Sweden) by the procedure 991.36 of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995). Total proteins were quantified using the procedure 992.15 of the AOAC (1995) with a protein analyzer LECO® (model FP-2000, Leco Corp., St. Joseph, MO, USA). Fat and protein contents are expressed on the wet weight basis and the analysis was performed in triplicate.

5.4.5. Determination of muscle antioxidant status

5.4.5.1. Total phenol content

Total phenol content was measured using the method of Jang et al. (2008). Each raw ground meat sample (5 g) was homogenized in distilled water (15 ml) and chloroform (9 ml) and then centrifuged at $3000 \times g$ for 5 min at room temperature (21°C). Chloroform was added to remove the lipids. The total phenol content in the aqueous supernatant was estimated by the Folin-Ciocalteu method (Subramanian et al., 1965). Diluted sample aliquots of 1 ml (1:4, v/v) were added to 2N Folin-Ciocalteu's phenol reagent (500 ml; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) followed by addition of 10% NaCO₃ (1 ml). Reaction mixture was vortexed and the absorbance was measured with a spectrophotometer (Varioskan™ Microplate instrumentation Thermo Electron Corporation, Vantaa, Finland) at 700 nm after incubating for 1 h at room temperature (21 °C). Quantification was based on a standard curve generated with gallic acid. The results are expressed in GAE (gallic acid equivalent per g of meat, µg GAE/g). All measurements were performed in triplicate.

5.4.5.2. Lipid oxidation

Lipid oxidation products were measured in ground meat stored at -30 °C, quantitated using the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) method and are expressed as malondialdehyde (MDA) equivalents according to the method of Ermis et al. (2005) with the following modifications. Briefly, 10 g of minced meat was homogenized with 10 ml of Phosphate Buffered Saline solution (PBS, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). After centrifugation ($3000 \times g$ for 15 min at 4 °C), 12.5 µl of butylated hydroxytoluene (BHT) solution was added to 500 µl of supernatant and vortexed. Then, 250 µl of trichloroacetic acid (TCA) was added to the mixture and placed on ice for 30 min. After centrifugation ($3000 \times g$ for 10 min at 4 °C), 500 µl of the supernatant was added to 37.5 µl of ethylenediaminetetraacetic (EDTA) and 125 µl of thiobarbituric acid in 0.05N NaOH followed by 15 min in boiling water (100°C) to allow the colour reaction to develop. After heating, the samples were cooled at room temperature (5 min) and centrifuged for 10 min at $3000 \times g$ and 4 °C. Absorbance (100 µl) was measured at 530 nm using a spectrophotometer (Varioskan™). The results are expressed in nanomoles of MDA per g of meat. Measures were performed in triplicate for each meat sample.

5.4.5.3. Carbonyl content

Protein carbonyl groups were evaluated on 5 g of ground meat using an assay kit from Cayman Chemical Company (Item No. 10005020, Ann Arbor, MI, USA). Nucleic acids were removed according to the manufacturer's instructions. Absorbance was measured at 370 nm (Varioskan™) and the results are expressed as nanomoles of 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) fixed per mg of protein. All measurements were performed in triplicate.

5.4.6. Microbial Analysis

For microbial enumeration on the thighs, a sampling procedure similar to the one for whole poultry carcasses described by Brichta-Harhay et al. (2007) was used. One leg from the five remaining rabbits per cage was randomly taken at each sampling time. Each cage was sampled at every sampling time and conditions (aerobic and anaerobic). Thigh was aseptically placed in a sterile Stomacher bag (Stomacher® 400C, Seward Laboratory Systems Inc., London, UK), weighted (measure was also used to evaluate meat exudate in section 2.2) and sealed after 300 ml of 0.1% (wt/vol) peptone water were added (Bacto peptone, Difco Laboratories, Inc., Detroit, MI, USA). The bag was placed on a rotary shaker (Boekel Scientific Orbitron Rotator II, model 260250, New York, USA) for one minute on each side and then manually massaged for 30 sec to remove microorganisms from the surface. When ground meat was analyzed, 25 g was homogenized in 225 ml of peptone water for 2 min at 230 rpm in a stomacher (Stomacher® 400 circulator, Seward, England). Ten-fold dilutions were carried out in 0.1% peptone water for enumeration on appropriate agar plates (Saucier et al., 2000). Total Aerobic Mesophilic (TAM) counts were performed on Plate Count Agar medium (PCA; Difco Laboratories Inc.) incubated at 35°C for 48 h (MFHPB-18; Health Canada, 2001). Presumptive Lactic Acid Bacteria (LAB) were enumerated on deMan, Rogosa and Sharp (MRS; Difco Laboratories Inc.; Saucier et al., 2000) and on All Purpose Tween (APT; Difco of Becton, Dickinson) agar plates since *Carnobacterium* is not particularly acid-tolerant and grow poorly on MRS. The plates were incubated anaerobically for 48 h at 25°C using anaerobic jars with an envelope generator of H₂ and CO₂ (AnaeroGen™2.5L, AN0025A, Oxoid Company, Nepean, ON, Canada). Presumptive *Pseudomonas* spp. were determined on Ceftrimide-Fucidin-Cephalosporin (CFC) agar (supplement No.SR0103E, Oxoid) and plates were incubated at 25 °C for 48 h (Mead et

Adams, 1977; Gill et Greer, 1993). Coliform and *E. coli* counts were determined using 3M Petrifilm™ plates after incubation at 35 °C for 18-24 h (MFHPB-34; Health Canada, 2013a). Presumptive *S. aureus* strains were evaluated on 3M Petrifilm™ plates incubated at 37 °C for 26 h (MFLP-21; Health Canada, 2004). *Enterobacteriaceae* counts were performed on 3M Petrifilm™ (MFLP-09; Health Canada, 2007) after incubation at 37 °C for 24 h. Presumptive *Listeria* spp. were determined on PALCAM medium (PALCAM *Listeria* Agars Base; Merck, Germany) without supplements, while plates were incubated at 30°C for 48 h. Regarding *L. monocytogenes*, counts were performed using PALCAM *Listeria* selective supplement (No. 1. 12122.001; EMD, NJ, USA), plates were put in a 30 °C incubator for 48 h (MFHPB-30; Health Canada, 2011). Measurements were performed in duplicate. All bacterial counts were transformed to a Log₁₀ value of colony-forming units per gram of thigh weight (Log₁₀ CFU/g) prior to statistical analysis according to Gill (2000). Except for presumptive *S. aureus*, coliform, *E. coli*, *Enterobacteriaceae* counts, which were transformed to a Log₁₀ value of colony forming units per ten grams of thigh weight (Log₁₀ CFU/10g). For counts on PCA, MRS, APT, CFC and Palcam, detection level was 1.76 Log₁₀ CFU/10g, and 1.32 Log₁₀ CFU/10g for presumptive *S. aureus*, coliforms, *E. coli* and *Enterobacteriaceae* counts.

Microbial analysis was also performed on the faeces during the feeding period. They were collected (500 g) from the pan underneath the 12 cages and were analyzed once a week for the presence of *C. maltaromaticum* CB1 and enumeration of TAM, presumptive LAB on MRS and APT, coliforms and *E. coli*, and *Enterobacteriaceae* as described above. The samples were stored at 4°C and were analyzed within 24 h. A 25 g sample of faeces was homogenized in 225 ml of peptone water and dilution plated on appropriate media similarly to ground meat described above.

5.4.7. Experimental inoculation of ground meat with *L. monocytogenes*

5.4.7.1. Bacterial cultures and growth conditions

A cocktail of five *L. monocytogenes* strains, namely 1043 (1/2a), 2371, 2558 (1/2b), 2739, 2812 (1/2a), were used in this study. They were all isolated from meat products and kindly provided by Health Canada (Ottawa, ON, Canada). Stock cultures were stored at -80 °C in

Brain Heart Infusion (BHI; BBL-Becton Dickinson, Mississauga, Ontario, Canada) supplemented with 20% glycerol (FisherBiotech, Fairlawn, NJ, USA). Prior to experimental use, working cultures were individually thawed and subcultured (1%) daily in BHI broth for a minimum of two and a maximum of seven consecutive days. Cultures were incubated at 30°C for 24 h. *L. monocytogenes* inoculum was prepared by mixing equal volume of strains grown separately to stationary phase. Cell suspensions were harvested by centrifugation (5000 x g for 10 min at 4 °C), washed ones and resuspended in 12.5 ml of peptone water. Cell suspension was diluted a 100-fold and meat was inoculated with 100 µL in order to obtain a final concentration of 4 Log₁₀ CFU/g of meat.

5.4.7.2. Ground meat inoculation and incubation

A total of four experimental ground meat groups were analyzed: uninoculated meat from rabbit fed (1) the control ration without *C. maltaromaticum* and (2) from rabbit fed with the ration supplemented with *C. maltaromaticum*; (3) *L. monocytogenes* inoculated meat from rabbit fed the control ration without *C. maltaromaticum* and (4) from rabbit fed with the ration supplemented with *C. maltaromaticum*. The control groups, not inoculated with *L. monocytogenes*, were followed as well to study the effect of *C. maltaromaticum* on indigenous microflora found in ground meat. It was placed in a household mixer (KitchenAid®, Artisan®, Michigan, USA) and appropriate volumes of the *L. monocytogenes* cocktail were added and mixed for 4 min; peptone water was used for the none inoculated groups. The meat was then divided into thin layers of 25 g samples and was packaged under aerobic conditions in sterile laboratories plastic bags (Whirl-Pak®, B01009, Nasco, USA) or was vacuum packaged as described above, but in smaller bags. Cell enumeration was performed after 0, 3, 6, 9, 12 and 15 days of storage at 4°C and 10°C. Ground meat samples were analyzed as described above in section 5.4.6.

5.4.8. Presence of *C. maltaromaticum* CB1 on faeces, thighs and ground meat

5.4.8.1. Growth and culture conditions for indicator strains and bacteriocin production

For use in these experiments, stock frozen cultures in 20% glycerol were subcultured in 9 ml of APT broth incubated at 25 °C for *Carnobacterium* strains and MRS broth incubated at 37°C for *Pediococcus acidilactici* UL5. *P. acidilactici* UL5 and *C. divergens* were used as indicator strains for the detection of bacteriocin production by *C. maltaromaticum* CB1.

P. acidilactici was kindly provided by the Department of Food Science, Université Laval. *Carnobacterium divergens* LV13 was obtained from Dr. B.G. Shaw (Institute of Food Research, Langford, Bristol, UK; culture is available from National Collection of Food Bacteria as strain 2855) and incubated at 25 °C for 24 h in anaerobiosis as described for the presumptive LAB enumeration in section 2.6. Strains were subcultured (1%) daily for a minimum of two and a maximum of seven consecutive days.

To determine presence and prevalence of *C. maltaromaticum* CBI on thighs and in faeces, characteristic colonies from APT enumeration plates were subcultured in 1 ml of APT broth and incubated as described above. A 100 µl aliquot of each of those cultures were placed in U-bottom 96-well microtiter plates (Greiner bio-one CELLSTAR® 96 Well plate, VWR International, Alberta, CA). Using a 48-pin Microplate Replicator (2.54 cm Pin Length, V&P Scientific, San Diego, CA), aliquots were transferred onto APT plates and were let to dry under a biosafety cabinet. For early detection of bacteriocin production by *C. maltaromaticum*, a soft APT agar (7.5 ml and 7.5% agar) inoculated (1%) with the indicator organism was poured on those replicated plates (Ahn et Stiles, 1990). They were then incubated at 25 °C under anaerobiosis as described for the presumptive LAB enumeration. Cultures with zones of inhibition were further characterized for detection of the carnocyclin gene.

5.4.8.2. Molecular characterization of *C. maltaromaticum* CBI

For faeces and thighs, selected strains exhibiting zones of inhibition were grown in 10 ml of APT broth and incubated for 24 h at 25°C. Isolation of total DNA was performed from 2×10^9 CFU of bacterial culture. For ground meat, a 25 g sample of minced beef was placed in a sterile stomacher bag with a filter membrane and was then homogenized in 225 ml of peptone water as for cell enumeration described above. The liquid phase was transferred into four sterile tubes of 50 ml and placed at -20°C for 15 min to promote the separation of fat from the meat. Using a sterile swab, the floating fat was removed from the liquid surface. Tubes were centrifuged at 15 000 g for 10 min at 4°C. After discarding the supernatant, the pellets were stored at -20°C and gene detection was performed on a loopful of each re-suspended in 1 mL of APT.

DNA extraction was performed using Dneasy blood and tissue kit (#69504, Qiagen, Toronto, Ontario, Canada) by following the protocol for Gram-positive bacteria according to the manufacturer's instructions. DNA purity and quantity were verified by a Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, Wilmington, USA). The oligonucleotide primers used for the Polymerase Chain Reaction (PCR) were obtained from Integrated DNA Technologies (IDT, Iowa, USA, Table 5.2). Presence of *C. maltaromaticum* was determined by using three genes (Saucier et al., 2016). The *16S* DNA region, specific for *C. maltaromaticum* and *C. gallinarum*, was amplified with the primer set 27F and 16S-cpg. Interspacer region (ISR) primers are targeting a specific region of *C. maltaromaticum* located between the *16S* rDNA and *23S* rDNA. The amplification of Carnocyclin A, (CclA; circular bacteriocin produced by *C. maltaromaticum*) was performed using the primers CclA-F and CclA-R. All polymerase chain reactions were performed in 25 µL reaction using a maximum of 8 µL DNA samples; primers are described in Table 2. PCR products were analyzed for each experiment by electrophoresis in a 2% (wt/vol) agarose gel (Life Technologies, catalog #15510-027; Table 5.2).

Tableau 5.2. Primer sequences, directions, annealing temperature and size of the candidate products used to detect *Carnobacterium maltaromaticum* on thighs, faeces and ground rabbit meat by quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction.

PCR primers	Primers sequence (5' to 3') and position	Annealing temperature	Product size (bp)	References
16S-cpg	27F (Forward AGAGTTTGATCCTGGCTCAG)	60	197	Barakat et al., 2000
	16-cpg (Reverse GAATCATGCGATTCCTGAAAC)			
ISR	Cpis (Forward TTTATTTTAAATTAATACCC)	46	623	Rachman et al., 2004 Cailliez-Grimal et al., 2007
	23S-7 (Reverse GGTACTTAGATGTTTCAGTTC)			
CclA	CclA-F (Forward GCATATGGTATCGCACAAAGGTACAGC)	65	124	Socholotuk et al., 2012
	CclA-R (Reverse GCTGTGAAGACACCTGATAAACCG)			

5.4.9. Statistical analysis

To determine the effect of treatment, time, and their interactions on the microbiological aspect of the study, data were assessed by an analysis of the variance (ANOVA) using the MIXED procedure of SAS software. The linear and quadratic effects of time were determined by polynomial contrasts. With respect to data on ground meat, the temperature was added as

the third effect with treatment and time. For the inoculated ground meat, we have done statistical analysis at each sampling time. The two treatments were analyzed independently to determine the overall effect of supplementation with Micocin® versus the control one. For these analyzes, time of storage under aerobic conditions (0, 3, 6 and 8 d) and anaerobic conditions (0, 5, 10, 15 and 20 d) was taken into consideration (SAS Institute, Inc. 2002). Significant difference was declared at $P < 0.05$ and a tendency was declared at $P < 0.10$.

5.5. Results

5.5.1. Growth performance

Overall, there are no interaction and statistical differences on rabbit growth performances with respect to average daily weight gain, average daily feed intake and feed conversion ratio ($P > 0.05$; Table 5.3). However, the average daily feed intake was lower for the group supplemented with Micocin® compared to the control group on the third week of feeding ($P = 0.014$). Slaughter weight for the Micocin® group was 137 g heavier ($P = 0.0003$; data not shown) despite a lower initial weight (117 g) than the other group. Because the control group had to be slaughtered before to avoid cross contamination, heavier rabbits were assigned to that one in order to meet slaughter weight requirement. Therefore, body weight remained significantly higher for the control group during the 3-first feeding weeks ($P < 0.0001$). On average, both experimental groups met the 2.2 kg minimal weight requirement for commercialization.

5.5.2. Meat quality traits

Meat composition and quality parameters are presented in Table 5-4. Meat composition in terms of protein, lipid and moisture content was not influenced significantly by dietary treatment. In terms of muscle pH, it declined below 6 within 24 h after slaughter indicating limited incidence of DFD meat.

A significant difference was observed between the two experimental groups with reference to the pH in the LL muscle 1 h after slaughter ($P = 0.025$), but not in the BF muscle ($P > 0.05$). Furthermore, the pHu 24 h after slaughter was lower in BF from the control compared to the *C. maltaromaticum* CB1 supplemented one ($P = 0.004$), but no significant

difference was observed in regard to the LL muscle ($P > 0.05$). Average pH variations were small and below 0.2 unit between the two experimental groups.

Colour parameters of the BF muscle, namely L^* ($P = 0.034$), a^* ($P = 0.015$) and b^* ($P = 0.002$) were significantly higher in meat from the control group than with the Micocin® supplemented one. The meat from rabbit fed with Micocin® supplemented diet was darker, less red and less yellow than the control one. Colour parameters of the LL muscle were not affected by Micocin® supplementation.

In aerobic conditions, water loss for the Micocin® group was significantly smaller on day 3 and day 8 ($P = 0.021$, $P = 0.005$, respectively) and only on day 5 ($P = 0.003$) in anaerobic conditions, compared to the control (Table 5.4). Drip loss was not significantly different between the two experimental groups ($P > 0.05$) whereas cooking loss was greater with the Micocin® supplemented one by less than 5% ($P = 0.006$; Table 5.4). Supplementing the diet with *C. maltaromaticum* CB1 had no detrimental effect on total content in polyphenols and carbonyls, as well as on lipid oxidation in raw meat after slaughter ($P > 0.05$; Table 5.4).

Tableau 5.3. Growth performance of weaned rabbits fed either a control or a supplemented diet with Micocin®.

	Control	<i>C. maltaromaticum</i> CB1	SEM	<i>P</i> value
Initial body weight ^a , g	1109.78	992.51	12.96	<i>P</i> < 0.0001
Week 1				
ADG, g/j	57.37	56.13	0.92	NS
ADFI, g/j	139.75	136.43	2.94	NS
FCR	2.44	2.46	0.03	NS
Body weight, g	1568.77	1446.05	15.46	<i>P</i> < 0.0001
Week 2				
ADG, g/j	53.68	50.36	1.04	NS
ADFI, g/j	153.68	152.66	2.32	NS
FCR	2.88	3.08	0.12	NS
Body weight, g	1950.04	1815.78	17.13	<i>P</i> < 0.0001
Week 3				
ADG, g/j	47.11	48.05	1.1	NS
ADFI, g/j	172.45	161.35	2.34	0.014
FCR	3.69	3.42	0.11	NS
Body weight, g	2284.11	2166.47	17.54	<i>P</i> < 0.0001
Week 4				
ADG, g/j	-	34.74	1.71	-
ADFI, g/j	-	172.45	4.93	-
FCR	-	5.03	0.14	-

Body weight, g - 2421.49 28.05 -

^a Because the control group had to be slaughtered before the Micocin® one to avoid cross contamination, heavier rabbits were placed in the control. SEM: standard error of the mean; n=12 cages, a cage of six rabbits is the experimental unit. BW: body weight; ADG: average daily weight gain; ADFI: average daily feed intake; FCR: feed conversion ratio. NS: not significant. *P* value in bold is significant ($P < 0.05$), underlined values describe a tendency ($P < 0.10$).

Tableau 5.4. Effect of *Carnobacterium maltaromaticum* CB1 diet supplement on physicochemical analyses, meat quality parameters and antioxidant status of rabbit meat.

Quality parameters	Control	<i>C. maltaromaticum</i> CB1	SEM	<i>P</i> value
Proximate composition				
% Protein	18.03	17.90	0.28	NS
% Lipid	11.11	11.31	0.60	NS
% Moisture	70.44	69.88	0.47	NS
% Drip loss	1.01	1.06	0.16	NS
% Cooking loss	24.37	27.43	0.70	0.006
% Meat exudate loss aerobic 3-8 days				
D3	0.72	0.16	0.15	0.021
D6	1.14	0.90	0.27	NS
D8	1.35	0.51	0.19	0.005
% Meat exudate loss anaerobic 5-20 days				
D5	0.88	0.31	0.12	0.003
D10	0.38	0.60	0.28	NS
D15	0.82	1.09	0.38	NS
D20	0.16	1.50	0.54	<u>0.09</u>
pH of BF muscle				
1h	6.18	6.07	0.07	NS
24 h	5.42	5.62	0.04	0.004
pH of LL muscle				
1h	6.01	5.82	0.05	0.025
24 h	5.39	5.40	0.03	NS
Colour of BF muscle				
L*	51.89	49.67	0.69	0.034
a*	2.16	0.85	0.35	0.015
b*	2.39	1.66	0.14	0.002
Colour of LL muscle				
L*	53.34	52.16	0.73	NS
a*	2.29	2.17	0.36	NS
b*	2.95	2.70	0.22	NS
Total phenols (μg GAE/g)	9.62	9.59	0.06	NS
TBARS ^a (nmol/g MDA)	2.16	2.30	0.12	NS
Carbonyls (nmol/mg protein)	2.45	2.50	0.64	NS

Each value represents the mean of twelve samples with SEM: standard error of the mean; n= 12 cages, a cage of six rabbits is the experimental unit.

^aAll lipid oxidation data are presented as mean of Malondialdehyde (MDA) values from three analyses performed in triplicate. TBARS: thiobarbituric acid reactive substances, SEM: standard error of the mean, NS: not significant. GAE: gallic acid equivalent. *P* values in bold are significant ($P < 0.05$), underlined values describe a tendency ($P < 0.10$).

5.5.3. Microbial analysis of rabbit thighs stored under aerobic or anaerobic conditions

Microflora evolution on rabbit thighs from animals fed rations supplemented with or without *C. maltaromaticum* CB1 when packaged under aerobic and anaerobic conditions is presented in figures 5.1 and 5.2, respectively; tables 5-5 and 5-6 list *P* values associated with these results. Linear and quadratic interactions of treatment with time were observed; concentration reached at the end of the storage period varied with the microbial groups tested. Microbial analysis of refrigerated rabbit thighs reveals that for all tests, under both aerobic and anaerobic storage conditions, the cell counts increased significantly over time ($P = 0.001$), except for presumptive *S. aureus* which remained at the same level during the whole storage period ($P > 0.05$). The various microbial groups studied exhibited an exponential growth and even reached stationary phase in some cases. Throughout the experiment, all *E. coli* counts remained below the detection level (1.32 Log₁₀ CFU/10g) under aerobic and anaerobic storage (data not shown) indicating that appropriate hygienic food processing conditions were followed. At the end of the storage period, cell count variations between the two experimental groups were below 1 Log unit under aerobic conditions. Under anaerobic conditions, however, presumptive LAB enumerated on MRS were 1 Log higher with thighs from the Micocin® supplemented group while *Enterobacteriaceae* and coliform counts were 1 Log lower. Presumptive *Listeria* was almost one Log lower at 0.93 under the same conditions. Hence, a stronger and more positive microflora modulating effect of Micocin® was observed under anaerobic conditions at 4°C on the thighs.

5.5.3.1. Aerobic conditions

Under aerobic conditions, only presumptive *Pseudomonas* spp. ($P = 0.001$, presumptive LAB (on MRS and APT; $P = 0.001$) and *Listeria* spp. ($P = 0.01$) counts were significantly different amongst treatments during storage (control vs. Micocin® groups; Table 5.5). On day 0, the initial coliform, *Enterobacteriaceae* and presumptive *S. aureus* counts were below detection level (1.32 Log₁₀ CFU/10g) for both experimental groups; while presumptive *S. aureus* counts remained below 2 Log₁₀ CFU/10g for both as well, during the whole experiment.

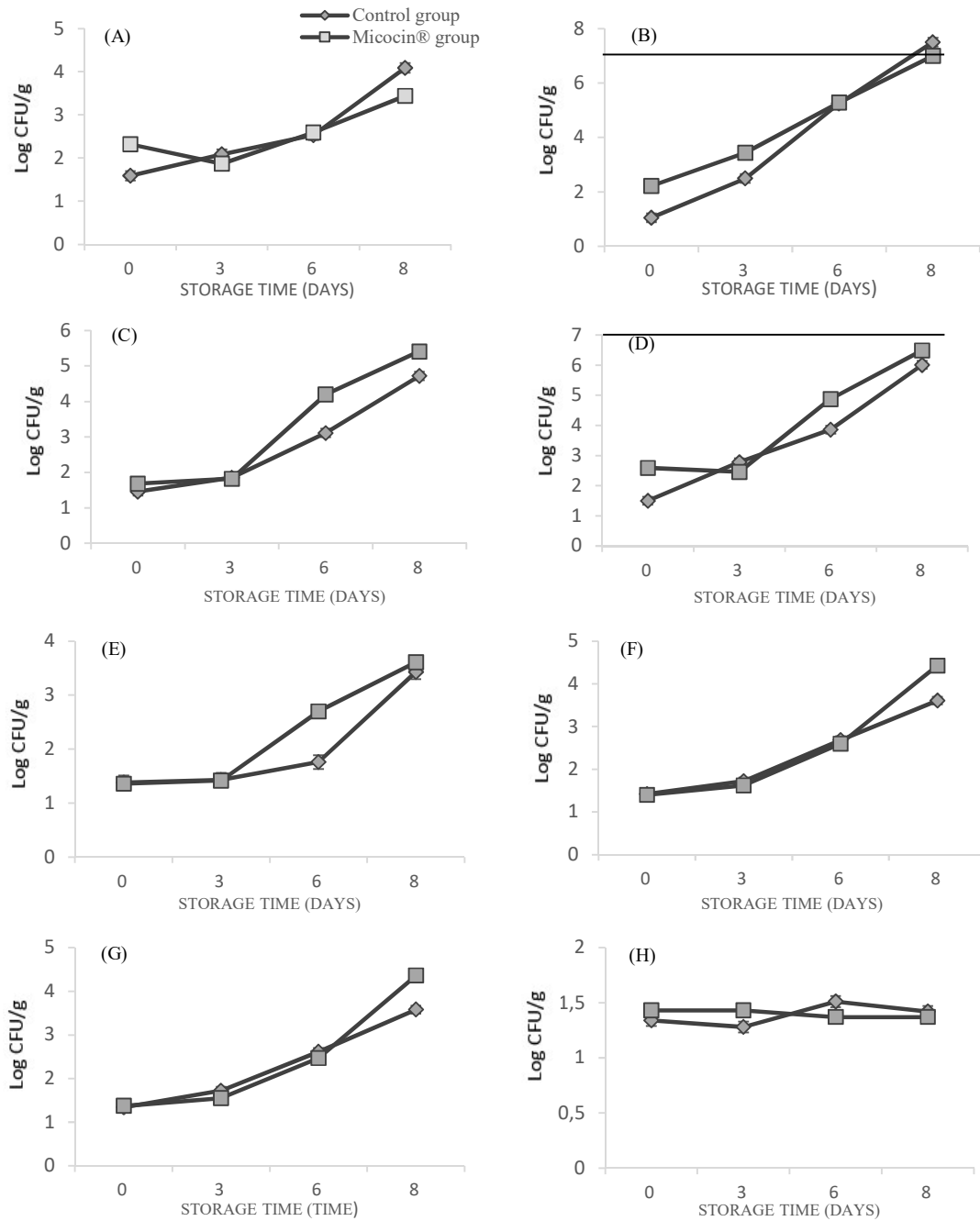


Figure 5.1. Total aerobic mesophilic (A), presumptive *Pseudomonas* (B), presumptive LAB on MRS (C), presumptive LAB on APT (D) and *Listeria* spp. (E) counts in Log₁₀ CFU/g, and *Enterobacteriaceae* (F), coliform (G) and presumptive *Staphylococcus aureus* (H) counts in Log₁₀ CFU/10g on rabbit thighs between 0 and 8 days of storage at 4°C under aerobic conditions. Bar represents standard error of the mean. Each point is a mean value of 12 cages with one thigh per cage analyzed at each sampling time. The cage of six rabbits is the experimental unit. Horizontal line indicates end of shelf life.

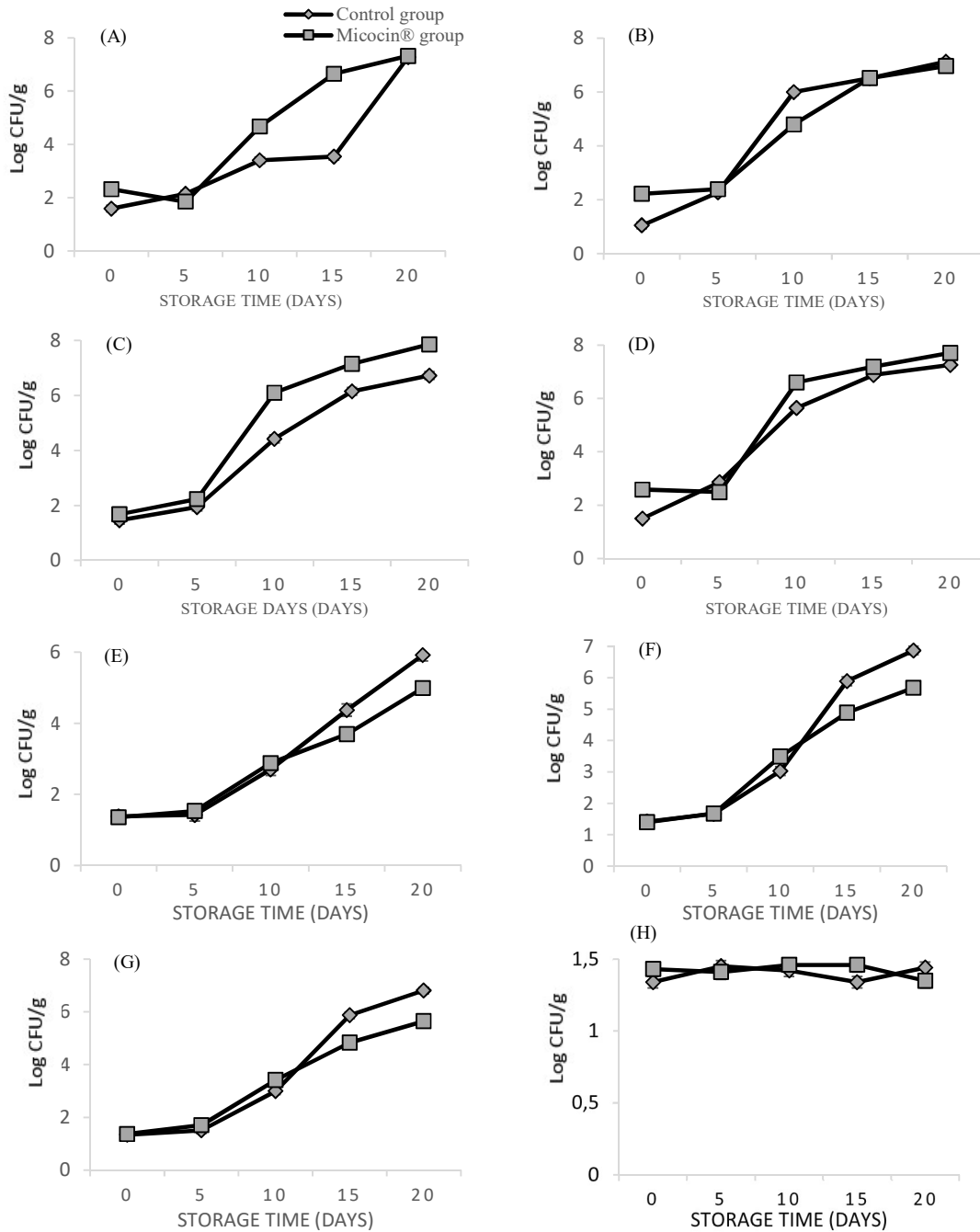


Figure 5.2. Total aerobic mesophilic (A), presumptive *Pseudomonas* (B), presumptive LAB on MRS (C), presumptive LAB on APT (D) and *Listeria* spp. (E) counts in Log₁₀ CFU/g, and *Enterobacteriaceae* (F), coliform (G) and presumptive *Staphylococcus aureus* (H) counts in Log₁₀ CFU/10g on rabbit thighs between 0 and 8 days of storage at 4°C under anaerobic conditions. Bar represents standard error of the mean. Each point is a mean value of 12 cages with one thigh per cage analyzed at each sampling

time. The cage of six rabbits is the experimental unit. Horizontal line indicates end of shelf life.

Tableau 5.5. Different *P* values of microbial counts on thigh samples stored at 4 °C in aerobic conditions.

	Treatment	Time		Treatment × time	
		Linear	Quadratic	Linear	Quadratic
TAM	NS	0.001	0.001	0.001	NS
Presumptive <i>Pseudomonas</i>	0.001	0.001	0.001	0.001	<u>0.09</u>
LAB on MRS	0.001	0.001	0.001	0.003	NS
LAB on APT	0.001	0.001	0.001	NS	0.01
<i>Listeria</i> spp	0.01	0.001	0.001	0.03	<u>0.07</u>
<i>Enterobacteriaceae</i>	<u>0.06</u>	0.001	0.001	0.002	0.002
Coliforms	NS	0.001	0.001	0.006	0.005
Presumptive <i>S. aureus</i>	NS	NS	NS	0.01	NS

TAM: Total aerobic mesophilic, LAB: Lactic acid bacteria.

NS: not significant. *P* values in bold are significant ($P < 0.05$), underlined values describe a tendency ($P < 0.10$).

Tableau 5.6. Different *P* values of microbial counts on thigh samples stored at 4 °C in anaerobic conditions.

	Treatment	Time		Treatment × time	
		Linear	Quadratic	Linear	Quadratic
TAM	0.001	0.001	0.001	0.003	0.001
Presumptive <i>Pseudomonas</i>	NS	0.001	0.001	0.001	0.001
LAB on MRS	0.001	0.001	0.001	0.003	0.007
LAB on APT	0.001	0.001	0.001	NS	0.02
<i>Listeria</i> spp	0.01	0.001	0.001	0.001	0.02
<i>Enterobacteriaceae</i>	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
Coliforms	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
Presumptive <i>S. aureus</i>	NS	NS	NS	NS	NS

TAM: Total aerobic mesophilic, LAB: Lactic acid bacteria.

NS: not significant. *P* values in bold are significant ($P < 0.05$), underlined values describe a tendency ($P < 0.10$).

The presumptive *Pseudomonas* spp. counts varied from 1.05 to 7.50 CFU/g during the storage period and remained the prevailing microflora. Considering that end of shelf life is reached when cell count is at 7 Log₁₀ CFU/g or higher, rabbit thighs reached that level after 8 days when stored under aerobic conditions. Interestingly, thighs from the Micocin® group had, on day 0, a presumptive *Pseudomonas* count of 1.17 Log above the control, but at the end of the storage period, it was 0.5 Log below (Fig. 1B). A similar pattern was also observed with TAM, but with a magnitude less than 1 Log unit (Fig. 1A). Under such conditions, the

various microbial counts performed were either similar or slightly above for the Micocin® group, but all below 1 Log unit difference.

5.5.3.2. Anaerobic conditions

Overall, a significant treatment effect ($P \leq 0.01$; Table 5.6) was observed for the dietary addition of *C. maltaromaticum* CB1, compared with the control diet when the thighs were placed under anaerobic conditions during a 20-day storage period for all microbial counts performed, except for the presumptive *Pseudomonas* spp. and *S. aureus* ($P > 0.05$). Total aerobic mesophilic, presumptive LAB (on MRS and APT) counts for the Micocin® supplemented group were above the control. As for *Listeria* spp., coliform and *Enterobacteriaceae* counts, they were below at the end of the storage period, with a Log difference reaching 0.93 to 1.19. As expected, the LAB constitutes the main microflora under anaerobic conditions for both experimental groups, and counts were higher ($P < 0.001$) for the *C. maltaromaticum* CB1 supplemented one.

5.5.4. Microbial analysis of rabbit ground meat stored under aerobic or anaerobic conditions at 4 or 10 °C

Modulation of the microflora by the presence of *C. maltaromaticum* CB1 in the ration was also investigated in ground meat stored at 4 and 10 °C during 0, 3, 6, 9, 12 and 15 days under aerobic (Fig. 5.3) and anaerobic (Fig. 5.4) conditions. Tables 5.7 and 5.8 list P values associated with these results and, linear and quadratic interactions of temperature with time were observed in ground meat except for presumptive *S. aureus*. Overall, microbial growth was favoured at 10 compared to 4 °C over the storage period and shelf life was reduced by at least three days (Fig. 5.3 and 5.4). Microbial tests reveal cell growth during the storage period including presumptive *S. aureus* this time in ground meat ($P = 0.001$); but for *E. coli* counts remained below detection level again (1.32 Log₁₀ CFU/10g). Contrary to what was observed with thighs, no significant effect of treatment was revealed for ground meat stored under aerobic or anaerobic conditions ($P > 0.05$).

5.5.4.1. Aerobic conditions

On average, end of shelf life was reached after 6 days for meat stored at 10 °C compared to 9 days when at 4 °C under aerobic conditions. At the end of storage, variation in microbial counts performed with ground meat were all below 1 Log unit except for TAM which was 1.45 Log unit above for the Micocin® group at 10 °C.

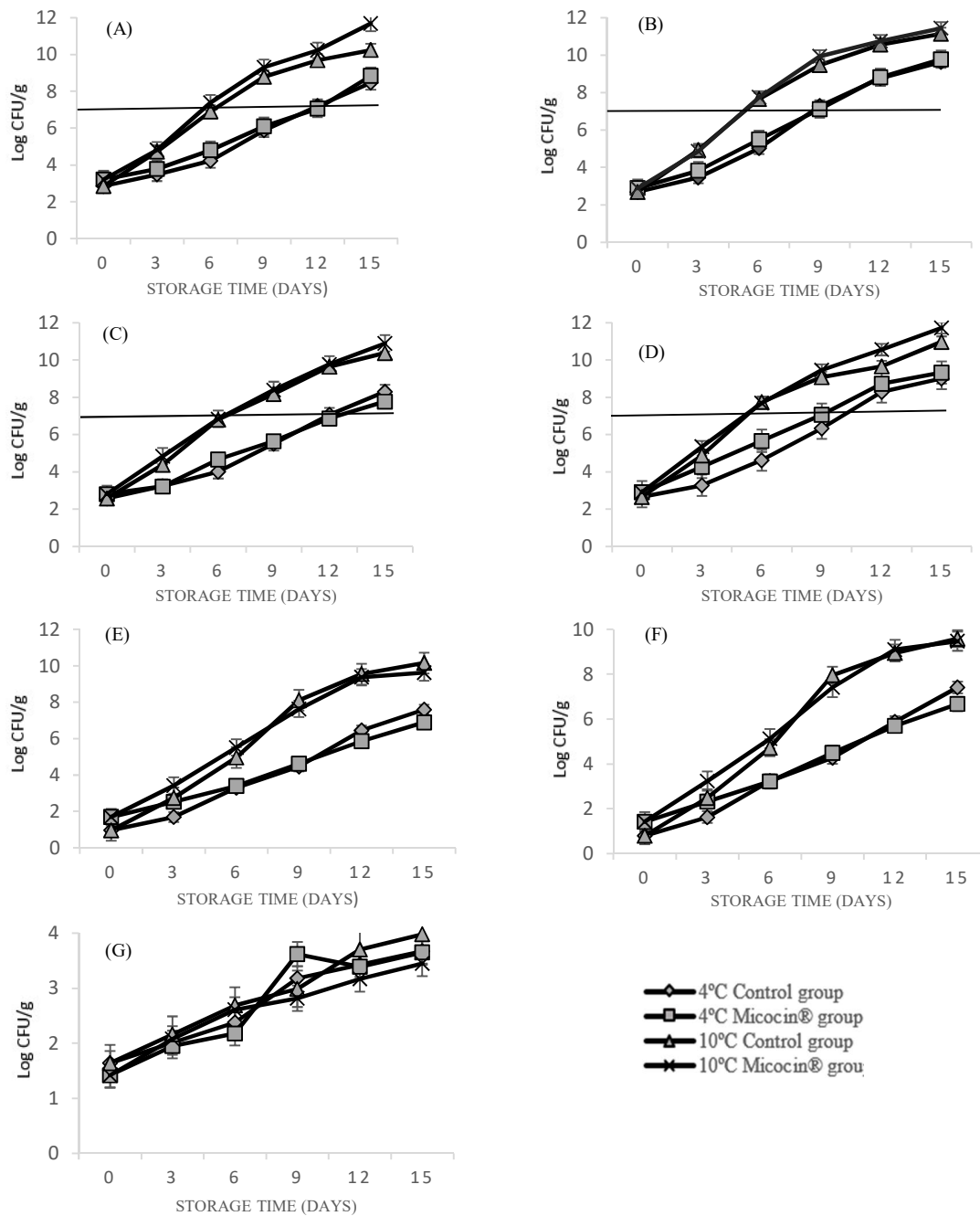


Figure 5.3. Total aerobic mesophilic (A), presumptive *Pseudomonas* (B), presumptive LAB on MRS (C), presumptive LAB on APT (D), *Enterobacteriaceae* (E), coliform (F), and presumptive *Staphylococcus aureus* (G) counts in Log₁₀ CFU/g on ground meat uninoculated rabbit between 0 and 15 days stored at 4 and 10°C in aerobic conditions. Bar represents standard error of the mean. Each point is a mean value of three repetitions. Horizontal line indicates end of shelf life.

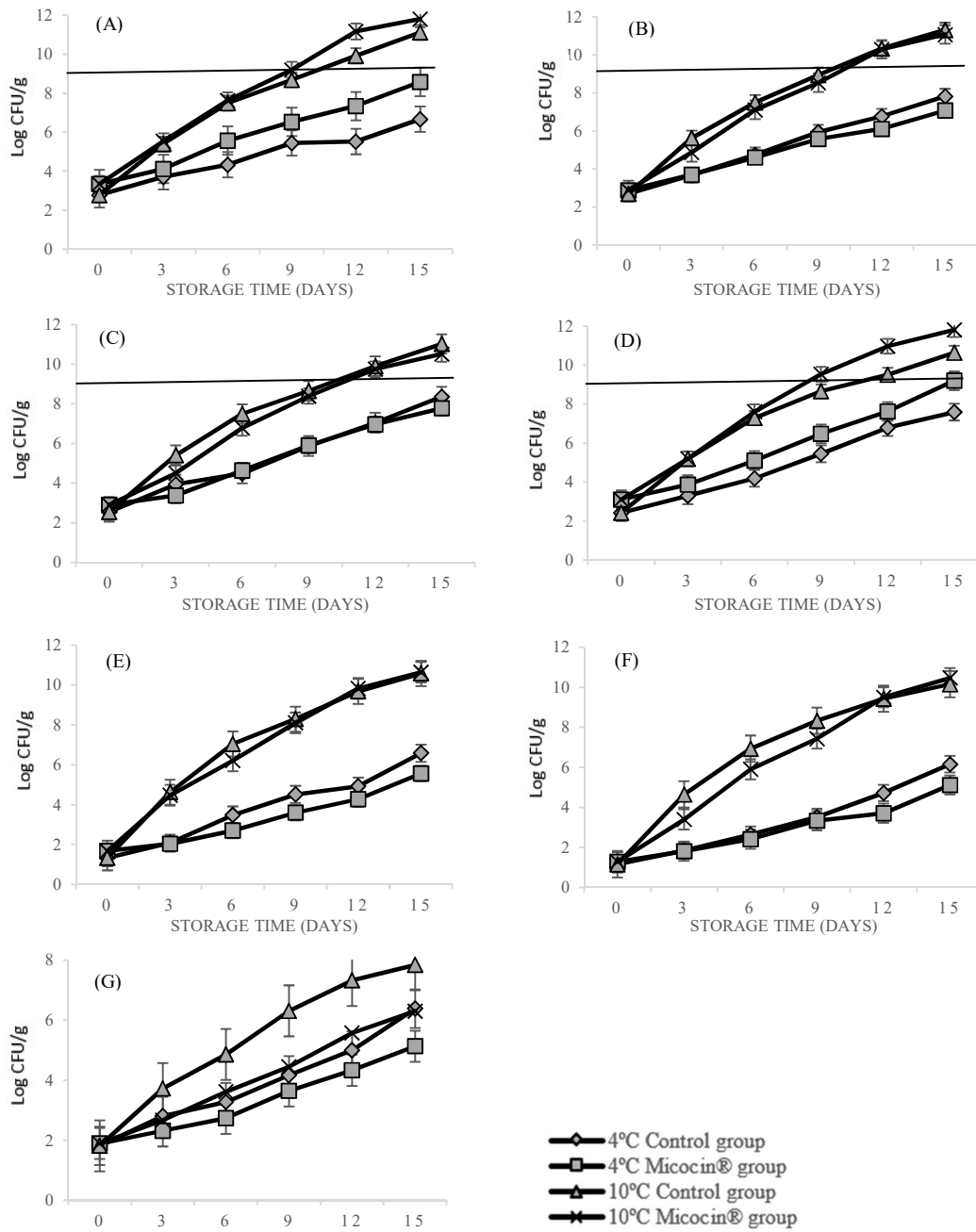


Figure 5.4. Total aerobic mesophilic (A), presumptive *Pseudomonas* (B), presumptive LAB on MRS (C), presumptive LAB on APT (D), *Enterobacteriaceae* (E), coliform (F), and presumptive *Staphylococcus aureus* (G) counts in Log₁₀ CFU/g on ground meat uninoculated rabbit between 0 and 15 days stored at 4 and 10°C in anaerobic conditions. Bar represents standard error of the mean. Each point is a mean value of three repetitions. Horizontal line indicates end of shelf life.

Tableau 5.7. Different *P* values of microbial counts on uninoculated ground meat samples stored at 4 and 10 °C in aerobic conditions.

	Temperature	Time		Temperature × time	
		Linear	Quadratic	Linear	Quadratic
TAM	0.001	0.001	NS	0.001	0.001
Presumptive <i>Pseudomonas</i>	0.001	0.001	NS	0.005	0.001
LAB on MRS	0.001	0.001	NS	0.001	0.006
LAB on APT	0.001	0.001	<u>0.074</u>	0.006	0.004
<i>Enterobacteriaceae</i>	0.004	0.001	NS	0.001	0.001
Coliforms	0.001	0.001	NS	0.001	0.001
Presumptive <i>S. aureus</i>	NS	0.001	NS	NS	NS

TAM: Total aerobic mesophilic, LAB: Lactic acid bacteria.

NS: not significant. Other interactions and the treatment effect are not significant ($P > 0.05$).

P values in bold are significant ($P < 0.05$), underlined values describe a tendency ($P < 0.10$).

Tableau 5.8. Different *P* values of microbial counts in uninoculated ground meat samples stored at 4 and 10 °C in anaerobic conditions.

	Temperature	Time		Temperature × time	
		Linear	Quadratic	Linear	Quadratic
TAM	0.008	0.001	0.007	0.001	0.006
Presumptive <i>Pseudomonas</i>	0.001	0.001	0.016	0.001	0.004
LAB on MRS	0.003	0.001	0.014	0.001	0.001
LAB on APT	0.001	0.001	<u>0.098</u>	0.001	0.001
<i>Enterobacteriaceae</i>	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001
Coliforms	0.001	0.001	0.029	0.001	0.001
Presumptive <i>S. aureus</i>	<u>0.078</u>	0.001	NS	<u>0.055</u>	<u>0.067</u>

TAM: Total aerobic mesophilic, LAB: Lactic acid bacteria.

NS: not significant. Other interactions and the treatment effect are not significant ($P > 0.05$).

P values in bold are significant ($P < 0.05$), underlined values describe a tendency ($P < 0.10$).

Presumptive LAB enumerated on APT with the Micocin® supplemented group were above the control and close to 1 Log unit (> 0.89) on day 3 and 6 at 4°C, and on day 12 at 10°C.

5.5.4.2. Anaerobic conditions

Anaerobic storage of ground meat from the Micocin® supplemented group increased shelf life between 12 to 15 days but remained at 6 days for controls (Fig. 5.4). *C. maltaromaticum* CB1 grow well in these conditions as indicated by TAM and presumptive LAB counts on APT plates that are well above the control by 1 Log unit at the end of the storage period (Fig. 5.4 A and D). This coincided with a cell concentration of *Enterobacteriaceae*, coliforms and presumptive *S. aureus* of 1 Log unit below for the

Micocin® supplemented group. In fact, Log difference greater than 1 Log unit (1.05-1.86) was observed throughout the anaerobic storage period at 10°C for counts of presumptive *S. aureus*.

After 15 days of storage at 4 °C under anaerobic conditions, cell counts in ground meat were above those obtained on thighs; Log difference was as low as 0.29 for coliforms and reached 5.04 in the case of presumptive *S. aureus*. Indeed, growth of presumptive *S. aureus* was favoured in ground meat, but to a lesser extent with the Micocin® supplemented group (Fig. 2H and 4G).

5.5.5. Ground meat experimentally inoculated with *L. monocytogenes* and stored under aerobic or anaerobic conditions at 4 or 10°C

Viable counts of *L. monocytogenes* inoculated (4 Log₁₀ CFU/g) on rabbit ground meat samples stored at 4 and 10°C during 0, 3, 6, 9, 12 and 15 days in aerobic and anaerobic conditions are presented in Fig. 5.5; Table 5.9 lists *P* values associated with these results. A linear treatment and time interaction was observed for the *L. monocytogenes* counts on inoculated ground meat stored under anaerobiosis (*P* = 0.002) whereas a temperature and time interaction (*P* = 0.001) was observed for both aerobic and anaerobic storage conditions. *L. monocytogenes*, being a well-recognized psychrotroph, grew to high numbers (6.74 to 10.05 CFU/g) in the inoculated control group at both temperatures and under aerobic as well as anaerobic conditions. The effect of treatment under anaerobiosis was significant (*P* = 0.025) for ground meat stored at 4 and 10 °C on day 15. But greatest control of *L. monocytogenes* was observed for ground meat from the Micocin® supplemented group stored at 4 °C under anaerobic conditions reaching a 2.1 Log unit difference compared to the control (Fig. 5.5).

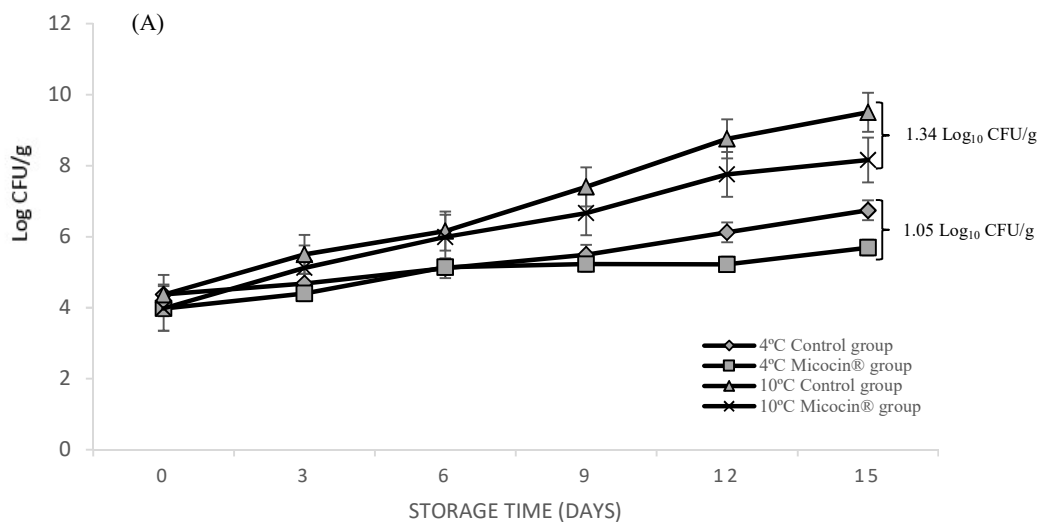
The effect of temperature and treatment on *L. monocytogenes* growth in ground meat was also revealed by its growth rate (Table 5.11). A temperature of 10 °C favours growth of *L. monocytogenes* under both aerobic and anaerobic conditions, whereas the effect of supplementing the ration with Micocin® led to a better control of this bacterium under anaerobic storage (*P* < 0.0001; Fig. 5.5B). The effect of treatment in aerobiosis was significant only on day 15 (*P* = 0.03; Fig. 5.5A) where the Micocin® supplemented group was 1.05 to 1.43 Log below the control group at 4 and 10 °C, respectively. But under

anaerobic conditions, *C. maltaromaticum* reduced significantly *L. monocytogenes* stored at 4 and 10 °C ($P = 0.0001$) with a reduction of more than 1.5 Log reaching 2.1 Log on day 15. To further that demonstration, we have done statistical analysis at each sampling time (Table 5.10) to improve Fig. 5.5. It is clear that Micocin®/*C. maltaromaticum* CB1 has a stronger and more rapid effect under anaerobic compared to aerobic conditions. In aerobic conditions, there was a reduction of *L. monocytogenes* to 15 days so a treatment effect with a difference of more than one log ($P = 0.03$) in microbiology despite the fact that the slopes were not significant. However, the addition of *C. maltaromaticum* CB1 to the feed significantly reduced *L. monocytogenes* and the effect is observed from day 6 ($P < 0.03$; Table 5.10).

Tableau 5.9. P values of microbial counts on inoculated ground meat samples with a cocktail of five strains of *Listeria monocytogenes* stored at 4 and 10 °C in aerobic and anaerobic conditions.

	Temperature	Treatment	Time		Temperature × time		Treatment × time	
			Linear	Quadratic	Linear	Quadratic	Linear	Quadratic
Aerobic conditions	0.005	NS	0.001	NS	0.001	NS	NS	NS
Anaerobic conditions	0.005	0.025	0.001	0.022	0.001	0.001	0.002	NS

NS: not significant. Other interactions under aerobic and anaerobic conditions are not significant ($P > 0.05$). P values in bold are significant ($P < 0.05$).



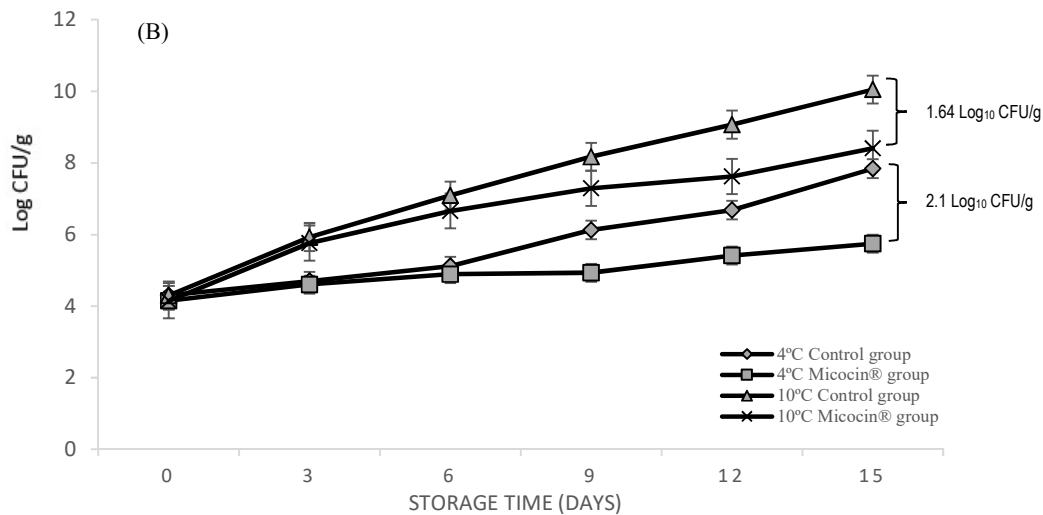


Figure 5.5. Growth of a cocktail of five *Listeria monocytogenes* strains inoculated at 4 Log₁₀ CFU/g on ground rabbit meat from animals fed a control diet or a diet supplemented with Micocin® containing *Carnobacterium maltaromaticum* CB1 at a level of 8 Log₁₀ CFU/kg of feed. Meat was stored under aerobic (A) or anaerobic (B) conditions at 4 or 10 °C. Each point represents the mean of three repetitions where, at each sampling time, one sample per cage was taken randomly and analysed in duplicate for a total of twelve cages per experimental group. Bar represents standard error of the mean.

Tableau 5.10. Different *P* value of treatment effect at each storage time on ground meat stored at 4 and 10 °C under aerobic and anaerobic conditions

Storage time (days)	D0	D3	D6	D9	D12	D15
Aerobic conditions (<i>P</i> value)	NS	NS	NS	NS	NS	0.03
Anaerobic conditions (<i>P</i> value)	NS	NS	0.03	0.001	0.0001	0.0001

NS: not significant; *P* values in bold are significant (*P* < 0.05). Fig. 5.5.

Tableau 5.11. Growth rate (CFU/g.day) of *Listeria monocytogenes* on inoculated ground meat samples with a cocktail of five strains of *Listeria monocytogenes* stored at 4 and 10 °C in aerobic and anaerobic conditions.

	Control	Micocin®	SEM	<i>P</i> value	
				Temperature	Treatment
Aerobic conditions					
4°C	0.16	0.10	0.02	0.001	NS
10°C	0.31	0.28	0.02		
Anaerobic conditions					
4°C	0.23	0.09	0.01	0.0001	0.0001
10°C	0.34	0.26	0.01		

NS: not significant. No significant interactions under aerobic and anaerobic conditions were observed ($P > 0.05$); P values in bold are significant ($P < 0.05$). Each value represents the mean of slopes from three repetitions (Fig. 5.5); best-fit curves were obtained using the Excel Software of Microsoft Office.

5.5.6. Presence of carnocyclin-A producing *C. maltaromaticum* in the faeces during the feeding period

Faeces microbial analysis during the feeding period is presented in Table 5.12. The female rabbit had just been weaned before their arrival (< 2 d). During the experiment, the difference between the two experimental groups was below 1 Log unit. After one week of feeding, all cell counts were fairly high (> 7.85 CFU/g). But, in weeks 2 and 3, *Enterobacteriaceae*, coliform and *E. coli* counts were below 4.70 CFU/g, whereas TAM and presumptive LAB on MRS and APT were above 5.62 CFU/g demonstrating a shift in the faecal microflora towards a more desirable profile. Using PCR analysis of three specific sequences, namely 16S-cpg, ISR, and CclA, the presence in the faeces of *C. maltaromaticum* producing carnocyclin A was followed. Its presence was revealed during the whole duration of the feeding period for the Micocin® supplemented group, but only for the first week for the control (Table 5.13).

Tableau 5.12. Microbial enumeration of TAM, presumptive LAB on MRS, presumptive LAB on APT, coliforms, *Enterobacteriaceae* and *Escherichia coli* in faeces during the feeding period.

	Week 1			Week 2			Week 3		
	Control	Miocin®	Reduction (Log unit)	Control	Miocin®	Reduction (Log unit)	Control	Miocin®	Reduction (Log unit)
TAM	9.44	9.03	0.41	6.64	7.18	-0.54	6.02	6.10	-0.08
LAB on MRS	8.45	8.64	-0.19	7.70	8.48	-0.78	5.62	5.96	-0.34
LAB on APT	8.81	9.12	-0.31	8.48	9.08	-0.60	6.58	6.95	-0.37
<i>Enterobacteriaceae</i>	8.44	8.29	0.15	3.08	3.20	-0.12	4.70	4.45	0.25
Coliforms	8.39	8.18	0.21	3.48	3.11	0.37	4.52	4.45	0.07
<i>E. coli</i>	8.35	7.85	0.50	3.15	2.60	0.55	4.34	3.90	0.44

TAM: Total aerobic mesophilic, LAB: Lactic acid bacteria.

Each value represents one fecal sample (500 g) collected from the pan underneath the cages and analyzed in duplicate.

5.5.7. Presence of carnocyclin-A producing *C. maltaromaticum* on thighs and in ground meat

Table 5.13 shows the presence/absence of *C. maltaromaticum* CB1 producing carnocyclin A on rabbit thighs stored at 4°C under aerobic and anaerobic conditions for 0, 3, 6 and 8 and

for 5, 10, 15 and 20 days, respectively. *C. maltaromaticum* CB1 producing carnocyclin A was detected in the Micocin® supplemented group after 0, 3 and 6 days of storage in aerobic conditions, but not on day 8. In the control group, under the same aerobic storage conditions, *C. maltaromaticum* CB1 was absent at all sampling time. Under anaerobic conditions, prevalence of *C. maltaromaticum* CB1 was noticeable after 5 days of storage, but not to the same extent than after 15 or 20 days.

Tableau 5.13. Presence of *Carnobacterium maltaromaticum* in faeces and rabbit thighs at 4 °C under aerobic and anaerobic conditions^a.

Days	Faeces (feeding weeks)				Thigh storage (days)						
	1	2	3	4	Aerobic				Anaerobic		
Control	1 ₍₂₀₎	0 ₍₃₀₎	0 ₍₂₁₎	-	0 ₍₂₄₎	0 ₍₁₁₎	0 ₍₃₄₎	0 ₍₂₄₎	1 ₍₃₄₎	0 ₍₂₃₎	1 ₍₂₄₎
Micocin®	1 ₍₂₀₎	1 ₍₁₇₎	2 ₍₂₂₎	1 ₍₁₀₎	4 ₍₂₀₎	4 ₍₂₀₎	1 ₍₂₅₎	0 ₍₂₄₎	8 ₍₂₄₎	1 ₍₂₄₎	1 ₍₂₄₎

^a Index number represents the number of colonies samples from APT plates for PCR analysis of three specific genes: 16S-cpg, ISR and CclA. Results are expressed as the number of colonies identified as *Carnobacterium maltaromaticum* by the PCR analysis.

In order to improve detection of *C. maltaromaticum* producing carnocyclin A in ground meat, PCR analysis was performed after total DNA extraction from the cell pellet obtained with a 25 g meat sample. Prevalence of *C. maltaromaticum* producing carnocyclin A was greater in ground meat coming from rabbits fed the ration supplemented with Micocin® and during storage under anaerobic conditions (Table 5.14). Indeed, it was absent on control ground meat incubated at 4°C under aerobic conditions (0/11). By feeding a ration supplemented with *C. maltaromaticum* CB1 (Micocin®), we were able to modulate its presence in the faeces, on the thighs and in ground meat.

Tableau 5.14. Presence of *Carnobacterium maltaromaticum* producing carnocyclin A in rabbit ground meat stored at 4 and 10 °C under aerobic and anaerobic conditions (0, 3, 6, 9, 12, 15 days) as determined by PCR analysis of three specific genes:16S-cpg, ISR and CclA^a.

Experimental groups	Temperature	Storage days	Aerobic			Anaerobic			
			16S-cpg	ISR	CclA	16S-cpg	ISR	CclA	
Control	4 °C	0	-	-	-	-	-	-	
		3	-	-	-	+	+	+	
		6	-	-	-	-	-	-	
		9	+	-	-	-	-	-	
		12	+	-	-	-	-	-	
		15	+	+	-	+	+	-	
	10 °C	3	-	-	-	-	-	-	
		6	+	-	-	+	-	-	
		9	+	-	-	+	+	-	
		12	+	+	-	+	-	-	
		15	+	+	-	+	-	-	
	Total positive			7	3	0	6	3	1
	Micocin®	4 °C	0	+	+	+	+	-	-
			3	+	+	+	+	+	+
			6	+	+	+	+	+	+
9			+	+	+	+	+	+	
12			+	+	-	+	+	+	
15			+	+	-	+	+	+	
10 °C		3	+	-	-	+	+	+	
		6	+	+	+	+	+	+	
		9	+	+	+	+	+	+	
		12	+	+	+	+	+	-	
		15	+	+	+	+	+	+	
Total positive			11	10	8	11	10	9	

^aNumber of positive gene identification out of 11 sample of ground meat for each storage conditions (n=11; one sample per temperature and storage time).

5.6. Discussion

5.6.1. Growth performance and meat quality

As expected, the effect on growth performance was limited when Micocin® was added to the feed and, on average, both experimental groups reached the minimal slaughter weight of 2.2 kg (Table 5.3). In order to follow the rabbit slaughter schedule at the abattoir and to avoid cross contamination between the two experimental groups, rabbits from the Micocin® supplemented group had to be slaughtered a week later. So, lighter rabbits were therefore placed in the Micocin® group and remained as such for the whole duration of the experiment except when slaughter weight was compared ($P = 0.0003$). However, study with balanced groups with respect to weight will have to be performed to confirm the beneficial effect on

growth performance from the supplementation. Amber et al. (2004) showed improved daily weight gain and performance index with rabbits fed diet containing dried *Lactobacillus acidophilus* (probiotics). Oso et al. (2013) reported a limited impact on the growth rate, but other studies report positive effects with Bioplus 2B and *Bacillus cereus* var *toyoi* on rabbits (Kritas et al., 2008; Trocino et al., 2005). Health status of the animals was followed on a daily basis, and no detrimental effect was associated with the supplementation whatsoever. Although the pHu after slaughter was lower in the BF, but not in the LL muscle from the control group ($P = 0.004$, Table 4), a variation of less than 0.2 pH unit is of little biological significance (Blasco and Piles, 1990). Similarly to pHu, colour, only for the BF, was affected by the supplementation with Micocin®; indeed, meat was darker, less red and less yellow than the control meat ($P < 0.05$, Table 4). According to Neffe-Skocińska et al. (2015), a decrease in the value of the yellow colour parameter b^* may be a result of the lactic acid bacteria growth during meat products ripening. Colour is generally accepted as one of the major attributes upon which consumers make purchasing decisions (Font-i-Furnols and Guerrero, 2014). Furthermore, the colour parameters of meat are related to pHu, which influences the oxidation of the heme pigments (Hulot and Ouhayoun, 1999). According to Fraysse and Darre (1989), low pH causes meat discolouration whereas high values give the meat a darker colour, but this variation depends on the type of muscle and the state of the myoglobin (reddish; Hulot and Ouhayoun, 1999). The colour of BF muscle is different from that of the LL muscle because of differences in metabolism and fibre type composition (Hulot and Ouhayoun, 1999). Also, the lightness index ($L^* = 51.89$ vs. 49.67) was significantly darker and the red lower than the control group ($a^* = 0.85$ vs. 2.16). For this parameter, our results are different from those found by Worobo (1997) who indicates that inoculated meat with *Leuconostoc gelidum* had a greater redness value compared with uninoculated one when stored aerobically at 2°C after vacuum storage at 4°C for 45 days. However, the studies of Dal Bosco (1997) demonstrated that discoloration of meat is the result of an increase in oxidation of myoglobin (red) to metmyoglobin (brown). Cooking loss of meat with Micocin® was significantly higher when compared to the control group (27.43 vs. 24.37, Table 5.4) and according to Hughes et al. (2014), the increase of the water loss during cooking is due to protein denaturation, but the influence of Micocin® on this process was not evaluated here.

Before firm conclusion can be made, more research should be done to confirm whether the addition of probiotic bacteria, or certain species, improves the stability of meat colour and cooking loss. Overall, the feed supplementation effect with Micocin® on meat quality parameters is limited and the small variations observed may be, at least in part, the results of rabbit individual variations.

5.6.2. Modulation of the microflora

Miocin® is a protective culture (*C. maltaromaticum* CB1) authorized in Canada, in the US and many other countries for applications in ready-to-eat meat products (Health Canada, 2010). It was used as a feed additive in this study, since it is easy to track with a set of three genes including the one for carnocyclin A. It was isolated originally from pork and has not been genetically modified according to the manufacturer's official information (FDA, 2009). Hence, it is most likely widely distributed in the meat production/processing environment (Health Canada, 2010). In addition, it may contribute, at least in part, to the sporadic detection of *C. maltaromaticum* producing carnocyclin A in the control group along with possible cross contamination despite strict biosecurity measures. Its absence on rabbit thighs stored at 4 °C under aerobic conditions for 8 days and under anaerobic conditions for 15 and 20 days may reflect a better ability of other indigenous microbes to prevail in such conditions. Furthermore, detection was done on single colonies isolated from the APT agar plate with the thighs where it was done on the whole cell pellet from the meat homogenate for ground meat in order to improve detection. *C. maltaromaticum*, a facultative anaerobe, is expected to exert a competitive exclusion effect that will vary according to the different strains constituting the indigenous microflora and this may explain the various differences observed on the thighs compared to ground meat. During storage, all microbial counts increased more rapidly at 10 than at 4 °C and the extent vary with the ability of microbial groups tested to grow at such temperature.

C. maltaromaticum producing carnocyclin A was detected in the faeces collected from the Micocin® supplemented group (Table 5.13) suggesting that the organism survived the GI passage. It is not known to be particularly resistant to low stomach pH, but being imbedded within the pellet, the feed matrix may have provided a protective effect. However, because the faeces were collected in the pan underneath the cages, part of the contamination may have

come from the feed falling onto them as well. Incidence of *C. maltaromaticum* producing carnocyclin A was definitely higher on thighs and in ground meat from the Micocin® supplemented group more so in anaerobic conditions (Saucier et al., 2016) confirming that microorganisms in the feed can end up on the meat either by contamination from the environment or the faeces (Huffman, 2002).

Pseudomonas is known to prevail on meat stored under aerobic storage conditions whereas LAB does under anaerobic ones (Dainty, & Mackey, 1992; Saucier, 1999). So, it was not surprising to see *C. maltaromaticum* producing carnocyclin A more predominantly under anaerobic conditions (Table 5.12). Colonies picked from APT plates obtained during microbial analysis of the thighs were used to determine the presence of *C. maltaromaticum* producing carnocyclin A; and reduction of their detection during storage suggests that other strains are better adapted to grow under the conditions used here. Nonetheless, supplementing the feed with Micocin® had a positive reduction effect on coliform, *Enterobacteriaceae* and *Listeria* spp. counts for thighs (Fig. 2, Table 5.6), as well as on presumptive *S. aureus* found in ground meat (Fig. 4, Table 5.8) stored under anaerobic conditions. *S. aureus* is not a good competitor, notably in fresh meat, where salt and other preservatives are not present (De Buyser et al., 2001). Microbial counts for TAM, as well as presumptive LAB either on MRS or APT, were higher in the Micocin® supplemented group under aerobic and anaerobic conditions, most likely resulting from *C. maltaromaticum* addition in feed.

5.6.3. Meat Safety

The most convincing evidence that the feeding strategy described here is a valuable and promising approach to better control microbial contamination and growth on meat comes from the 2.1 Log difference obtained in ground meat stored under anaerobic conditions à 4 °C and experimentally inoculated with a five strain cocktail of *L. monocytogenes* (Fig. 5.5, Table 5.9 and 5.10). The inhibition effect observed in ground meat from the Micocin® supplemented group directly supports our hypothesis that feeding desirable microorganisms to farm animals can lead to safer products, including meat. According to Ammor & Baltasar (2007), LAB are generally added to food in order to meet safety, shelf life, technological effectiveness and economic feasibility criteria. Many LAB associated with meat, including *C. maltaromaticum*, are known for their bactericidal or bacteriostatic activity against other

strains, species or genera of bacteria (Imazaki et al., 2015). Bacteriocins alone are usually ineffective against gram-negative bacteria because of the outer membrane that acts as a barrier to these inhibitory peptides (Vaara., 1992; Gänzle, Hertel, & Hammes, 1999). According to Martin-Visscher et al. (2008, 2011), even if carnobacteriocin BM1 and piscicolin 126 have a potent activity against *L. monocytogenes*, the antimicrobial effect is primarily due to carnocyclin A. These conclusions were also supported by those of Liu et al. (2014) who confirmed that carnocyclin A is the active compound in Micocin® with strong anti-listerial activity. However, Jack et al. (1996) has demonstrated that piscicolin 126 is effective against *L. monocytogenes* in a commercial ham for up to 14 days of storage at 10 °C. Although the CclA gene was used in this study to track the presence of *C. maltaromaticum* CB1 on meat, it also most probably, at least in part, contributes to the microbial inhibition and the competitive exclusion observed, along with the two other bacteriocins produced. Nevertheless, these antimicrobial peptides are ideal candidates for strategic use against *L. monocytogenes* and further research is necessary to find microorganisms with a broader and stronger antimicrobial activity, especially for meat stored under aerobic conditions where LAB do not prevail readily.

5.7. Conclusion

This study demonstrates that it is possible to positively modulate carcass and meat contamination by the introduction of a desirable microflora, here *C. maltaromaticum* CB1, into the feed of weaned rabbits until they reached slaughter weight. The results show that dietary supplementation with *C. maltaromaticum* CB1 increased its prevalence on meat, compared to the unsupplemented group, and led to a competitive exclusion towards undesirable organisms namely coliforms, *Enterobacteriaceae*, *Listeria* and presumptive *S. aureus*. The improvement of meat safety by such feeding strategy was demonstrated by the inhibition of a *L. monocytogenes* cocktail experimentally introduced into the ground meat from control compared to the Micocin® supplemented group, especially during storage under anaerobic and low temperature conditions (4 °C). *L. monocytogenes* numbers were lower by more than 1 Log₁₀ CFU/g and the anti-listerial effects of *C. maltaromaticum* CB1 may be attributed, at least in part, to the bacteriocins it can produce. Future experiments should examine the effect of Micocin® on *L. monocytogenes* when the latter is present in very low initial numbers (< 100 CFU/g). Now that the proof of concept has been established with

C. maltaromaticum CB1, it is important to continue exploring other microorganisms, or mix of them, with a broader and stronger antimicrobial activity, to be introduced into the feed to better control microbial contamination on meat especially under aerobic conditions and at higher temperatures (7-10 °C). Improving the transit of those organisms, notably through the acidic environment of the stomach, may require their encapsulation, although the present results suggest that they survived through the gastrointestinal tract when included in feed. Moreover, other experiments are also needed to establish if the desirable microorganisms must be introduced throughout the growing and finishing periods or if a shorter supplementation before slaughter would be sufficient.

5.8. Acknowledgements

This research was carried out with the financial support of the Programme de soutien à l'innovation en agroalimentaire, a program derived from the Growing Forward agreement between the Ministère de l'agriculture des pêcheries et de l'alimentation du Québec (MAPAQ) and Agriculture and Agri-Food Canada. The Syndicat des producteurs de lapins du Québec is also a partner in this project. The authors thank Mrs. M. Gill for her technical support.

Chapitre 6: Conclusions générales, implications et perspectives

6.1. Conclusion générale

L'objectif de la présente thèse était de répondre à la demande de la filière cunicole pour des stratégies alimentaires naturelles, simple et sans investissement majeur pour les producteurs. Les producteurs de lapins, comme l'ensemble du secteur agroalimentaire, sont sensibles aux demandes des consommateurs pour des produits « sains ». La production de lapin n'est pas sous gestion de l'offre et subit les aléas du marché où la concurrence est impitoyable et où la qualité globale de la viande est devenue un enjeu majeur afin de séduire le consommateur et de sécuriser ses parts de marchés pour les producteurs et les transformateurs. L'industrie cunicole québécoise ne peut certes pas se comparer aux autres grandes productions de masse canadiennes comme le porc, le bœuf ou la volaille, mais elle a des ambitions bien réalistes afin de se démarquer de la concurrence, et ce, en mettant en marché de la viande de lapin de qualité supérieure pour le secteur de la restauration notamment. L'industrie cunicole québécoise, voire canadienne, est également modeste comparativement à celle de la France ou de l'Italie quant aux volumes produits, aux coûts de production et aux ressources disponibles en recherche et développement. Elle a donc besoin de soutien afin de se développer et faire face à la concurrence, et ce, en mettant sur le marché de la viande de lapin de qualité supérieure qui offre une expérience gustative positive tant pour le restaurateur, le transformateur et ultimement le consommateur pour justifier son prix actuellement élevé. Normalement, les bons coups en restauration devraient se traduire par à des achats éventuels dans les commerces de détail pour les « foodies; (Fread, 2014) » qui recherche des expériences gustatives nouvelles et intéressantes. Différentes stratégies sont appliquées pour contrôler les agents pathogènes dans les viandes afin de réduire les risques d'éclosion de toxoinfections alimentaires et d'assurer la commercialisation de produits salubres. C'est donc dans le but d'optimiser la qualité de la viande de lapin du Québec en utilisant des alternatives naturelles aux additifs alimentaires de synthèse que le présent projet a été développé.

L'hypothèse initiale des expériences décrites dans cette thèse est que l'addition d'une alimentation riche en polyphénols que des extraits de végétaux et d'huiles essentielles peut moduler positivement le développement de la flore microbienne de la carcasse de lapin, mais

aussi la stabilité oxydative lors de l'entreposage de la viande de lapin. La stabilité oxydative a été traitée par un étudiant à la maîtrise (Mohamed Zied Abdelwahed) et a donné des résultats marquants qui ne sont pas traités ici. Au chapitre de la gestion de la microflore, les sources de polyphénols étudiées n'ont donné que des résultats limités et sporadiques. Par contre, l'étude avec la Micocin®, tout particulièrement les résultats avec la viande hachée inoculée avec *L. monocytogenes*, indique que l'ajout de culture protectrice dans la ration des animaux est meilleure approche.

Les travaux réalisés au cours du chapitre 3 ont porté sur l'addition d'extraits de plantes (l'oignon, la fraise et la canneberge) et d'huiles essentielles à la ration des lapins à des doses relativement faibles de 100 ppm soit 10 ppm de composés actifs correspondant à la dose d'huiles essentielles (Xtract, Pancosma) autorisée en France chez le lapin pour une bonne santé gastro-intestinale. Les résultats de cette étude ont démontré de faibles effets positifs et sporadiques sur la qualité microbiologique; les meilleurs résultats ont été obtenus surtout en conditions anaérobies et avec les huiles essentielles durant un entreposage réfrigéré (4°C).

Les réductions logarithmiques étant plutôt limitées (inférieur à 1 log) et sporadiques avec un ajout de 100 ppm d'extrait ou d'huiles, une dose de supplémentation plus élevée (1000 ppm) a été testée dans une seconde étude (chapitre 4). Dans celle-ci, des doses 5 à 10 fois plus élevées ont été utilisées pour les extraits d'oignon, d'oignon et de canneberge en combinaison ainsi que d'oignon et d'huiles essentielles. L'augmentation de la dose a permis d'atteindre les cibles de réduction logarithmique de certains microorganismes (supérieur à 1 log) en conditions aérobies et anaérobies dans la cuisse entreposée à 4°C, mais les résultats étaient toujours sporadiques. Ces différences de plus d'un log ont été notamment observées en conditions aérobies avec la combinaison d'extraits d'oignon et de canneberge et en conditions anaérobies pour toutes les combinaisons sauf le groupe supplémenté avec 500 ppm d'extrait d'oignon.

Contrairement à ce qui a été rapporté dans la littérature, aucune différence significative n'a été observée sur les performances zootechniques dans les deux études (chapitre 3 et 4). Ces résultats peuvent être expliqués par la faible pression d'infection découlant des conditions environnementales contrôlées et favorables à un état de santé élevé dans lesquelles nos expériences se sont déroulées. Des essais préliminaires en conditions commerciales avec

l'extrait d'oignon à haute dose (1000 ppm; données non présentées) n'ont pas révélés de différence significative au niveau des performances non plus.

En somme, ces deux études font ressortir qu'il n'y a qu'une amélioration marginale au niveau du contrôle microbien sur la carcasse et dans la viande, et cela ne justifie pas à la supplémentation de la ration (marc de canneberge : 9,90 \$/kg; extrait d'oignon à 10% de polyphénols : 27\$/kg selon Dianafood). Cependant, en ce qui concerne l'oxydation des lipides et des protéines, un effet significatif réel et marqué est observé lorsque la viande hachée, issues des mêmes lapins dont la ration a été supplémenteée avec les combinaisons d'extraits, a été entreposée à 4°C et analysée à différents jours d'entreposage (Mémoire de recherche d'un étudiant de Mohamed Zied). Les effets positifs des suppléments de polyphénols sur la qualité de la viande sont donc davantage au niveau des propriétés antioxydantes qu'antimicrobiennes.

À la lumière du chapitre 5, l'ajout de Micocin®, une préparation commerciale constituée d'une culture protectrice de *Carnobacterium maltaromaticum* CB1, dans l'alimentation des lapins a donné de bien meilleurs résultats au niveau du contrôle microbien que ceux obtenus avec l'ajout des sources de polyphénols. En effet, les résultats ont révélé que la culture protectrice de mieux contrôler de développement des *Enterobacteriaceae*, des coliformes et des *Staphylococcus aureus* présomptifs. Mais l'effet positif sur la gestion de la microflore le plus marquée a été observé dans l'expérience où *L. monocytogenes* a été inoculé dans la viande hachée puis entreposée en conditions anaérobies à 4°C; une réduction de 2 log a été observée après un entreposage de 15 jours. Cette expérience a démontré que l'on peut améliorer l'innocuité des produits de viande qui découlent des animaux d'élevage, ici le lapin, en introduisant dans leur alimentation une culture protectrice.

Soulignons que dans les trois études, aucun effet négatif à l'incorporation des sources de polyphénols ou de Micocin® dans la moulée des lapins n'a été observé. Les différentes stratégies alimentaires étudiées n'ont pas eu d'impacts, négatifs ou positifs, sur les performances zootechniques des animaux et sur la qualité de la viande en termes de perte à la cuisson, perte d'égouttage et d'entreposage, les teneurs en lipides et en protéines. Des trois études réalisées dans cette thèse, il en ressort que les extraits de végétaux riches en

polyphénols sont une meilleure stratégie pour contrôler l'oxydation alors que les cultures protectrices le sont pour la qualité microbiologique.

6.2. Implications et perspectives futures

6.2.1. Le pouvoir antioxydant des extraits de végétaux et des huiles essentielles dans la viande

Dans la programmation scientifique de notre équipe de recherche un étudiant à la maîtrise travaillait sur les propriétés antioxydantes et moi sur les propriétés antimicrobiennes. Cependant, j'ai participé à la mise au point du protocole sur la mesure de l'oxydation dans la viande. Comme les polyphénols se sont révélés de meilleurs antioxydants que d'antimicrobiens, d'autres études devront donc être réalisées afin de vérifier l'impact de la supplémentation sur les qualités organoleptiques de la viande (la texture, la couleur et le goût) et plus tard, sur la viande cuite, car les traitements thermiques accélèrent le phénomène d'oxydation. Au Québec, l'alimentation des porcs est enrichie en vitamine E pour améliorer la résistance de la viande à l'oxydation. L'idée ici est de trouver des alternatives moins coûteuses et plus performantes que la vitamine E dont le prix s'élève à 12\$/kg sur le marché de l'alimentation porcine.

D'autres analyses sont à envisager pour étudier la biodisponibilité des polyphénols dans la viande et déterminer les espèces moléculaires présentes. Cela permettrait de connaître le métabolisme microbien des polyphénols et de déterminer si les effets mesurés sont dérivés d'un effet prébiotique de ces composés chimiques ou de l'effet des métabolites.

6.2.2. Modulation de la microflore de la carcasse avec une culture protectrice commerciale Micocin®

Nos recherches ont permis de démontrer que la modulation positive de la microflore par l'incorporation de cultures protectrices dans les aliments du bétail est une avenue prometteuse et novatrice pour améliorer l'innocuité et la qualité microbiologique des viandes et des produits de viande. La preuve de concept a été faite en utilisant une préparation commerciale de *Carnobacterium maltaromaticum* CB1 dans l'alimentation des lapins, et un important industriel québécois nous a signalé son intérêt de valider la même approche dans le porc. En premier lieu, d'autres souches ou mélange de souches pourraient être testés afin

d'optimiser l'effet bénéfique observé, tel que *Carnobacterium divergens* pour son activité antimicrobienne démontrée dans la littérature et ayant une présomption d'innocuité reconnue par l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA). Ensuite, combiner ces souches aux extraits de végétaux (à cause de leur activité antioxydante excellente) pourrait conduire à une solution globale pour l'amélioration de la qualité. Subséquemment, une analyse des propriétés organoleptiques de la viande issues de ces stratégies est à envisager de même que pour les aspects technico-économiques, coûts/bénéfices inhérents à cette approche.

Carnobacterium maltaromaticum CB1 n'est pas particulièrement résistant aux pH acides comme ceux de l'estomac. Toutefois, comme il a été incorporé directement dans la moulée, une certaine protection a probablement été amenée par la matrice des granules de moulée. L'encapsulation des cultures pour une meilleure survie et une libération ciblée lors du transit gastro-intestinal pourrait sans doute augmenter l'efficacité du système (Atia et al., 2016). Il est clair qu'on ne peut éliminer tous les microorganismes de l'environnement ni produire la viande et les aliments dans des environnements stériles, cependant on peut avoir une nouvelle approche qui consiste à cibler et éliminer les plus dangereux et laisser la microflore neutre se développer. Nos résultats de recherches devront également être validés à grande échelle en conditions commerciales afin d'en faire l'analyse technico-économique.

Références bibliographiques

- AAFC. 2012. Agriculture and Agri-Food Canada. Rabbit supply Canada. *Available at:* http://www.agr.gc.ca/redmeat/documents/13tbl38a_eng.pdf. (Consulté Janvier 2014).
- ACIA. 2013. Agence canadienne d'inspection des aliments. http://www.inspection.gc.ca/food/meat-and-poultry/products/program_changes/pathogen-reduction/questions-and_answers/eng/1338823250306/133882339887 (Consulté Janvier 2016.)
- Ahn, C., et M. E. Stiles. 1990. Plasmid-associated bacteriocin production by a strain of *Carnobacterium piscicola* from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 2503-2510.
- Ahn, J., I.U. Grun, et A. Mustapha. 2004. Antimicrobial and antioxidant activities of natural extracts in vitro and in ground beef. *J. Food Prot.* 67: 48-55.
- Ahn, J., I. U. Grün, et A. Mustapha. 2007. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiol.* 24:7-14.
- Alasnier, C., H. Réminon, et G. Getemer. 1996. Lipid characteristics associated with oxidative and glycolytic fibers in rabbit muscles. *Meat Sci.* 43:213-224.
- Allen, C. D., S. M. Russell, et D. L. Fletcher. 1997. The relationship of broiler breast meat color and shelf-life and odor development. *Poultry Sci.* 76: 1042-1046.
- Allen, K., et D. Cornforth. 2010. Comparison of spice-derived antioxidants and metal chelators on fresh beef color stability. *Meat Sci.* 85: 613-619.
- Alma, A. D., E. Peña-Gonzalez, H. Janacua-Vidales, V. Santana, et J. A. Ortega. 2013. Meat quality and lipid oxidation of pork after dietary supplementation with oregano essential oil. *World Appl. Sci. J.* 21: 665-673.
- Amber, K. H., H. M. Yakout, et R. S. Hamed. 2004. Effect of feeding diets containing yucca extract or probiotic on growth, digestibility, nitrogen balance and caecal microbial activity of growing New Zealand white rabbits, In: *Proceedings of the 8th World Rabbit Congress*, 737-745.
- Ammor, M. S., et B. Mayo. 2007. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat sci.* 76: 138-146.
- An, B. K., J. Y. Kim, S. T. Oh, C. W. Kang, S. Cho, et S. K. Kim. 2015. Effects of Onion Extracts on Growth Performance, Carcass Characteristics and Blood Profiles of White Mini Broilers. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 28: 247-251.

- Anhê, F. F., Y. Desjardins, G. Pilon, S. Dudonné, M. I. Genovese, F. M. Lajolo, et A. Marette. 2013. Polyphenols and type 2 diabetes: a prospective review. *PharmaNutrition*.1 :105-114.
- Anhê, F. F., D. Roy, G. Pilon, S. Dudonné, S. Matamoros, T. V. Varin, C. Garofalo, Q. Moine, Y. Desjardins, E. Levy, et A. Marette. 2014. A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased *Akkermansia* spp. population in the gut microbiota of mice. *Gut*. 64 : 872-883.
- AOAC. 1995. Official methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th Ed. AOAC, Arlington, VA. USA.
- Apata E. S., T. S. Koleosho, C. O. Apata, et A. O. Okubanjo. 2012. Influence of sex and processing methods on physicochemical and organoleptic quality of rabbit meat. *Afr. J. Food Sci.* 6: 407-411.
- Apostolidis, E., Y. I. Kwon, et K. Shetty. 2008. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by oregano, cranberry and sodium lactate combination in broth and cooked ground beef systems and likely mode of action through proline metabolism. *Int. J. Food Microbiol.* 128: 317-324.
- ASPC. 2013. Agence de la santé publique du Canada. Modalités canadiennes d'intervention lors de toxi-infection d'origine alimentaire (MITIOA) 2010 en cas d'éclosion multijuridictionnelle. http://www.phac-aspc.gc.ca/zoono/fiorp-mitioa/index-fra.php#tdm6_2_1 (Consulté Avril 2013.)
- ASPQ. 2015. Association pour la santé publique du Québec, Journée mondiale de la santé. Aujourd'hui, 7 avril 2015, c'est la journée mondiale de la santé! Comment allons-nous? http://www.aspq.org/documents/file/journee-mondiale-de-la-sante-7-avril-2015_final.pdf (Consulté 20 Février 2016.)
- Atia, A., A. Gomaa, I. Fliss, E. Beyssac, G. Garrat, et M. Subirade. 2016. A prebiotic matrix for encapsulation of probiotics: physicochemical and microbiological study. *J. Microencapsul.* 33 : 89-101.
- Aubert, C., B. Greffard, G. Amand, et P. Ponchant. 2009. Élevage cunicole et environnement. 13^èm^e Journée de la recherche cunicole, 17-18 Novembre, LeMans, France.

- Barakat, R. K., M. W. Griffiths, et L. J. Harris. 2000. Isolation and characterization of *Carnobacterium*, *Lactococcus*, and *Enterococcus* spp. from cooked, modified atmosphere packaged, refrigerated, poultry meat. *Inter. J. Food Microbiol.* 62: 83-94.
- Barbosa, L.N., V.L.M. Rall, A.A.H. Fernandes, P.I. Ushimaru, I.S. Probst, et A. Fernandes. 2009. Essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria in minced meat. *Foodborne Pathog. Dis.* 6: 725-728.
- Bassolé, I. H., H.R. Juliani. 2012. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules* 17: 3989-4006.
- Basuny, A., S. Arafat, et S. Kamel. 2013. Polyphenolic compounds of eggplant peel juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during deep-fat frying. *Curr. Res. Microbiol. Biotechnol.* 1: 1-8.
- BDC. 2013. Banque de développement du Canada. Planifier votre croissance : cinq tendances de consommation qui changent la donne. https://www.bdc.ca/Resources%20Manager/study_2013/etude_BDC_tendances_consommation.pdf (Consulté Avril 2013.)
- Bélanger, P., F. Tanguay, M. Hamel, et M. Phypers. 2015. Outbreak Report: an overview of foodborne outbreaks in Canada reported through Outbreak Summaries: 2008-2014. *Canada Communicable Disease Report CCDR*, vol. 41–11. Disponible sur: <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/15vol41/dr-rm41-11/ar-01-eng.php>.
- Bergaoui, R., S. Kennou-Sebeï, et S. Fekih. 2010. Petits projets Cunicoles et développement rural en Tunisie : Possibilités et limites. *World Rabbit Sci.* 9: 175-179.
- Berger, R. G. 2007. *Flavours and fragrance: chemistry, bioprocessing and sustainability* Berlin: Springer-Verlag, 439-455.
- Bianchi, M., M. Petracci, L. Venturi, M. A. Cremonini, et C. Cavani. 2008. Influence of preslaughter fasting on live weight loss, carcass yield and meat quality in rabbits. In: *Proc. 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy*, 1313–1318.
- Biedrzycka, E., et R. Amarowicz. 2008. Diet and health: Apple polyphenols as antioxidants. *Food. Res. Int.* 24: 235-251.
- Bízková Z., Tůmová E. 2010. Physical characteristics of rabbit meat: a review. *Scienta Agriculturae Bohemica.*, 4: 236-246.

- Blasco, A., et J. Ouhayoun. 1996. Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research. Revised proposal. *World Rabbit Sci.*, 4: 93-99.
- Blasco, A., et M. Piles. 1990. Muscular pH of the rabbit. *Ann. Zootech.*, 30: 133-136.
- Bobbitt, J. 2002. Shelf life and microbiological safety of selected new and emerging meats. Rural Industries Research and Development Corporation RIRDC, 8. file:///C:/Users/Utilisateur/Downloads/02-038.pdf (Consulté Janvier 2015.)
- Bornert, G. 2000. Importance des bactéries psychotrophes en hygiène des denrées alimentaires. *Revue Méd. Vét.* 151 : 1003-1010.
- Botsoglou, N. A., E. Christaki, D. J. Fletouris, P. Florou-Paneri, et A.B. Spais. 2002. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Sci.* 62: 259-265.
- Botsoglou N.A., A. Govaris, E.N. Botsoglou, S.H. Grigoropoulou, et G. Papageorgiou. 2003. Antioxidant activity of dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate supplementation in long-term frozen stored turkey meat. *J. Agric. Food Chem.*, 51: 2930-2936.
- Botsoglou N.A., P. Florou-Paneri, E. Christaki, I. Giannenas, et A.B. Spais. 2004. Performance of rabbits and oxidative stability of muscle tissue as affected by dietary supplementation with oregano essential oil. *Archives Anim, Nutr.*, 58: 209-218.
- Bouvard, V., D. Loomis, K.Z. Guyton, Y. Grosse, F. El Ghissassi, L. Benbrahim-Tallaa, N. Guha, H. Mattock, et K. Straif. 2015. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *Lancet Oncol.* 16: 1599-1600.
- Brenes, A., Viveros, A., Chamorro, S., & Atija., I. 2015. Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. A review. *Anim. Feed Scie.Techn.*, 211: 1-17.
- Brewer, M. S., S. G. Zhu, B. Bidner, D. J. Meisinger, et F. K. MCKeith. 2001. Measuring pork color: effects of bloom time, muscle, pH and relationship to instrumental parameters. *Meat Sci.* 57: 169-176.
- Brichta-Harhay, D.M., T.M. Arthur, J.M. Bosilevac, M.N. Guerini, N. Kalchayanand, et M. Koohmaraie. 2007. Enumeration of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef, cattle carcass, hide and fecal samples using direct plating methods. *J. Appl. Microbiol.*, 103:1657-1668.

- Buchanan, R., et R. Oni. 2012. Use of Microbiological Indicators for Assessing Hygiene Controls for the Manufacture of Powdered Infant Formula. *J. Food Protect.*,75: 989-997.
- Brul, S., et P. Coote. 1999. Preservative agents in foods. Mode of action and microbial resistance mechanisms. *Int. J. Food. Microbiol.* 50: 1-17.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 94: 223-253.
- Byrne, D.V., W.L.P. Bredie, L.S. Bak, G. Bertelsen, H. Martens, et M. Martens. 2001. Sensory and chemical analysis of cooked porcine meat patties in relation to warmed-over flavour and pre-slaughter stress. *Meat Sci.* 59: 229-249.
- CAC. 2005. Codex Alimentarius Commission. Code of Hygienic practices for meat. www.fao.org/input/download/standards/10196/CXP_058e.pdf (Consulté Décembre 2016.)
- Cailliez-Grimal, C., H. C. Edima, H. M. Revol-Junelles, et J. B. Millière. 2007. *Carnobacterium maltaromaticum*: the only *Carnobacterium* species in french ripened soft cheeses as revealed by polymerase chain reaction detection. *J. Dairy Sci.* 90: 1133-1138.
- Cannata, S., S. Ratti, K. Meteau, J. Mourot, P. Baldini, et C. Corino. 2010. Evaluation of different types of dry-cured ham by Italian and French consumers. *Meat Sci.*84: 601-606.
- Caplice, E., et G. F. Fitzgerald. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *Int J Food Microbiol.* 50: 131-149.
- Cardinali, R., A. Dal Bosco, C., Mugnai, S. Mattioli, S. Ruggeri, A. Dalle Zotte, A. Sartori, M. Cullere, et C. Castellini. 2012. Effect of different dietary aromatic essences on meat quality of rabbit. In *Proc.: 10th World Rabbit Congress, 3-6 September, 2012, Sharm El-Sheikh, Egypt.* 6: 925- 929.
- Cardinali, R., B. Cullere, A. Dal Bosco, C. Mugnai, S. Ruggeri, S. Mattioli, C. Castellini, M. Trabalza Marinucci, Et A. Dalle Zotte. 2015. Oregano, rosemary and vitamin E dietary supplementation in growing rabbits: Effect on growth performance, carcass traits, bone development and meat chemical composition. *Livest. Sci.*, 175: 83-89.

- Casaburi, A., A. Nasi, I. Ferrocino, R. Di Monaco, G. Mauriello, F. Villani, et D. An Ercolini. 2011. Spoilage-Related Activity of *Carnobacterium maltaromaticum* Strains in Air-Stored and Vacuum-Packed Meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 7382-7393.
- CCAC. 2009. The care and use of farm animals in research, teaching and testing. Ottawa, ON. Canadian Council on Animal Care. Disponible sur: http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Farm_Animals.pdf (Consulté Mai 2014.)
- Ceylan, E., et D. Y. C. Fung. 2004. Antimicrobial activity of spices. *J. Rapid. Meth. Aut. Mic.*, 12: 1-55.
- CFIA, Canadian Food Inspection Agency. 2013. http://www.phac.aspc.gc.ca/about_apropos/evaluation/reports-rapports/2011-2012/fei_pdra-pdimeoa/findings-resultats-eng.php. (Consulté Mai 2015.)
- Chenoll, E., M.C. Macian, P. Elizaquível, et R. Aznar. 2007. Lactic acid bacteria associated with vacuum-packed cooked meat product spoilage: population analysis by rDNA-based methods. *J. Appl. Microbiol.* 102:498-508.
- Chouliara, E., A. Karatapanis, I.N. Savvaidis, et M.G. Kontominas. 2007. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 degrees C. *Food Microbiol.* 24: 607-17.
- Chi-Tang, H., et M. Wang. 2013. Dietary Phenolics as Reactive Carbonyl Scavengers: Potential Impact on Human Health and Mechanism of Action. *J. Tradit. Complement Med.* 139-141.
- Chu, Y. H., C.L. Chang, et H.F. Hsu. 2000. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J. Sci. Food. Agric.* 80:561-566.
- CIE, International Commission on Illumination. 1976. Colorimetry, Publication 15, Bureau Central de la CIE, Vienna, Austria. <http://www.cie.co.at/>.
- CIE. 2004. International Commission on Illumination. Colorimetry. Publication 15. 3rd edition, Bureau Central de la CIE.
- Cillard, J., et P. Cillard. 2006. Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *OCL* 13: 24-29.
- Cliche, R., 2010. Monographie de l'industrie cunicole au Québec - MAPAQ. Available at: http://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/publications/Monographie_cunicole_br.pdf. (Consulté Mars 2013.)

- Cliche, R. 2015. Monographie de l'industrie cunicole au Québec - MAPAQ. http://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/publications/Monographie_cunicole_br.pdf (Consulté Mars 2016.)
- CMC. 2012. Canada Meat Council. Statistiques de l'industrie. <http://www.cmc-cvc.com/fr/%C3%A0-propos-de-nous/statistiques-de-l%E2%80%99-industrie/statistiques-de-lindustrie> (Consultée janvier 2016.)
- CMC. 2016. Canada Meat Council. La viande...Bonne pour vous. Bonne pour le Canada. <http://www.cmc-cvc.com/fr/node/16> (Consulté Décembre 2016.)
- Collin, S., et J. Crouzet. 2011. Polyphénols et procédés. Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agroalimentaire. Directeur de Collection : Agence Universitaire de la Francophonie. Eds. Lavoisier.
- Collins, M. D., et G. R. Gibson. 1999. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* 69: 1042S–1057S.
- Combes, S. 2004. Valeur nutritive de la viande de lapin. *INRA. Prod. Anim.* 17: 373-383.
- Combes, S., et A. Dalle Zotte. 2005. La viande de lapin : valeur nutritionnelle et particularités technologiques. 11èmes Journées Rech. Cunicole 167-180.
- Copeland, R. D., M. R. McVay, S. M. Dassinger, R. J. Jackson, et D.S. Smith. 2009. Probiotic fortified diet reduces bacterial colonization and translocation in a long-term neonatal rabbit model. *J. Pediatr. Surg.* 44:1061-1064.
- Cross, D. E., R. M. McDevitt, K. Hillman, et T. Acamovic. 2007. The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. *Brit. Poultry Sci.*, 48: 496-506.
- Dabbou, S., L. Gasco, F. Gai, I. Zoccarato, L. Rotolo, S. Dabbou Fekih, A. Brugiapaglia, A.N. Helal, et P.G. Peiretti. 2014. Dried artichoke bracts in rabbits nutrition: effects on the carcass characteristics, meat quality and fatty-acid composition. *Animal.*, 8: 1547-1553.
- Daglia, M. 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 23: 174-181.
- Dainty, R. H., et B.M. Mackey. 1992. The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *Soc. Appl. Bacteriol. Symp. Ser.* 21: 103S-14S.

- Dal Bosco, A., C. Castellini, et M. Bernardini. 1997. Effect of transportation and stunning method on some characteristics of rabbit carcasses and meat. *World Rabbit Sci.* 5: 115-119.
- Dalle-Donne, I., R. Rossi, R. Colombo, D. Giustarini, et A. Milzani. 2006. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin. Chem.* 52: 601-623.
- Dalle Zotte, A. 2000. Propriétés spécifiques de la viande de Lapin. *Jornadas internacionais de cuniculture, Vila Real (Portugal)*.
- Dalle Zotte, A. 2002. Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Livest. Prod. Sci.* 75: 11-32.
- Dalle-Zotte, A. 2004. Le lapin doit apprivoiser le consommateur. *Viandes et Produits Carnes* 23 : 161-167.
- Dalle Zotte A., M. Cullere, A. Sartori, A. Dal Bosco, Zs. Gerencsér, Zs. Matics, M. Kovács, et Zs. Szendrő. 2014. Effect of dietary supplementation of spirulina (*Arthrospira platensis*) and thyme (*Thymus vulgaris*) on carcass composition, meat physical traits, and vitamin B₁₂ content on growing rabbits. *World Rabbit Sci.*, 22: 11-19.
- Dalle **Zotte, A.**, C. Celia, et Zs. Szendrő. 2016. Herbs and spices inclusion as feedstuff or additive in growing rabbit diets and as additive in rabbit meat: a review. *Livest. Sci.*, 189: 82-90.
- Dalle Zotte, A., et Z. Szendrő. 2011. The role of rabbit meat as functional food. *Meat Sci.* 88: 319-331.
- Dalloul, R. A., H.S. Lillehoj, T.A. Shellem, et J.A. Doerr. 2003. Enhanced mucosal immunity against *Eimeria acervulina* in broilers fed a Lactobacillus based probiotic. *Poult. Sci.* 82: 62-66.
- Danielski, G. M., H. I. Pedro, G. Daube, R. E. Freitas de Macedo, et A. Clinquart. 2017. in vitro evaluation of the competing effect of *Carnobacterium maltaromaticum* isolated from vacuum packed meat against food pathogens. *IcoMST 2017*. <http://orbi.ulg.ac.be/handle/2268/214473>
- D'Archivio, M., C. Filesi, R. Vari, B. Scazzocchio, et R. Masella. 2010. Bioavailability of the Polyphenols: Status and Controversies. *Int. J. Mol. Sci.* 11: 1321-1342.
- Dave, D., et A. E. Ghaly. 2011. Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: a critical review. *Am. J. Agri. & Biol. Sci.* 6: 486-510.

- Dawn-Linsley, M., F. J. Ekinici, D. Ortiz, E. Rogers, et T.B. Shea. 2005. Monitoring thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) as an assay for oxidative damage in neuronal cultures and central nervous system. *J. Neurosci. Methods* 141: 219-222.
- De Buyser, M. L., B. Dufour, M. Maire, et V. Lafarge. 2001. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *Int. J. Food Microbiol.* 67: 1-17.
- DeWall, C. S., et N. Robert. 2005. Global and Local: Food Safety Around the World. <https://www.cspinet.org/new/pdf/global.pdf>.
- DGSAIA, Direction générale de la santé animale et de l'inspection des aliments du MAPAQ. 2011. Manuel des méthodes d'inspection des abattoirs. http://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/Manueldesmethodes_inspectionabattoirs.pdf.
- DGSAIA, Direction générale de la santé animale et de l'inspection des aliments du MAPAQ. 2012. Bilan annuel toxi-infections alimentaires. Direction générale de la santé animale et de l'inspection des aliments – Direction du soutien à l'inspection. Disponible sur: http://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/Bilan_toxi-infections20112012.pdf. (Consulté Mars 2013.)
- Dibner, J. J., et J. D. Richards. 2005. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry Sci.* 84: 634-643
- Dickens, J. A., M. E. Berrang, et N. A. Cox. 2000. Efficacy of an herbal extract on the microbiological quality of broiler carcasses during a simulated chill. *Poultry Sci.* 79: 1200-1203.
- Dinesh, D. J., et J. Cheorun. 2013. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science & Technology* 34: 96-108.
- Dressman, J. B., R. R. Berardi, L. C. Dermentzoglou, T. L. Russell, S. P. Schmaltz, J. L. Barnett, et K. M. Jarvenpaa. 1990. Upper gastrointestinal (GI) pH in young, healthy men and women. *Pharm.Res.* 7: 756-761.
- Dudonné, S., P. Dubé, G. Pilon, A. Murette, H. Jacques, J. Weisnagel, et Y. Desjardins. 2014. Modulation of Strawberry/Cranberry Phenolic Compounds Glucuronidation by Co-Supplementation with Onion: 99 Characterization of Phenolic Metabolites in Rat

- Plasma Using an Optimized μ SPE-UHPLC-MS/MS Method. *J. Agric. Food Chem.* 62: 3244-3256.
- Dudonné, S., P. Dubé, F. F. Anhê, G. Pilon, A. Marette, M. Lemire, C. Harris, E. Dewailly, et Y. Desjardins. 2015. Comprehensive analysis of phenolic compounds and abscisic acid profiles of twelve native Canadian berries. *J. Food Compos. Anal.*, 44: 214-224.
- Duthie, G. G., S. J. Duthie, et J. A. M. Kyle. 2000. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutr. Res. Rev.*13: 79-106.
- Džinić, N., N. Puvača, T. Tasić, P. Ikonić, et D. Okanović. 2015. How meat quality and sensory perception is influenced by feeding poultry plant extracts. 2015. *World's Poult. Sci. J.* 71 :673-682.
- Dzudie, T., C. P. Kouebou, J. J. Essia-Ngang, et C. M. F. Mbofung. 2004. Lipid sources and essential oils effects on quality and stability of beef patties. *J. Food Eng.* 65: 67-72.
- Egan, K., D. Field, M.C. Rea, R. P. Ross, C. Hill, et P.D. Cotter. 2016. Bacteriocins: Novel Solutions to Age Old Spore-Related Problems? *Front. Microbiol.*7: 1-21.
- Elgayyar, M., F. A. Draughon, D. A. Golden, et J. R. Mount. Antimicrobial Activity of Essential Oils from Plants against Selected Pathogenic and Saprophytic Microorganisms. 2001. *J. Food. Prot.* 64 :1019-1024.
- Erdman, J. W., D. Balentine, L. Arab, G. Beecher, J.T. Dwyer, J. Folts, J. Harnly, P. Hollman, C.L. Keen, G. Mazza, M. Messina, A. Scalbert, J. Vita, G. Williamson, et J. Burrowes. 2007. Flavonoids et heart health: proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, Washington, DC. *J. Nutr.* 137: 718S-737S.
- Ermis, B., A. Yildirim, R. Örs, A. Tastekin, B. Ozkan, et F. Akcay. 2005. Influence of smoking on serum and milk malondialdehyde, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and antioxidant potential levels in mothers at the postpartum seventh day. *Biol. Trace Elem. Res.* 105: 27-36.
- Eskin, N.A.M. 1990. Biochemical changes in raw foods: meat and fish. In *Biochemistry of foods*, 2nd Edn. Academic press, San Diego, 3-68.
- Estévez, M. 2011. Protein carbonyls in meat system: A review. *Meat Sci.* 89: 259-279.
- Ezema, C., et C. Eze. 2012. Determination of the effect of probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth performance and hematological parameters of rabbits. *Comp. Clin. Path.* 21: 73-76.

- FDA, Food and Drug Administration. 2009. *Carnobacterium maltaromaticum* CB 1 GRAS Notification. <http://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackaging/Labeling/GRAS/NoticeInventory/ucm269418.pdf>.
- Fan, X., D. Sell, J. Zhang, I. Nemet, M. Theves, J. Lu, C. Strauch, M. Halushka, et V. Monnier. 2010. Anaerobic vs aerobic pathways of carbonyl and oxidant stress in human lens and skin during aging and in diabetes: A comparative analysis. *Free. Radic. Biol. Med.* 49: 847-856.
- FAO. 1996. Le lapin : Élevage et pathologie. <http://www.fao.org/docrep/014/t1690f/t1690f.pdf> (Consulté Août 2017).
- FAO. 2010. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Élevage du lapin et développement rural. <http://www.fao.org/docrep/014/t1690f/t1690f09.pdf> (Consulté Janvier 2015.)
- FAO. 2015. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. L'état de l'insécurité alimentaire dans le monde. <http://www.fao.org/3/a-i4646f.pdf> (Consulté Avril 2016.)
- FAO. 2016. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. <http://www.fao.org/news/story/fr/item/168526/icode/> (Consulté Décembre 2016.)
- FAO. 2017. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Guidelines for slaughtering meat cutting and further processing: General hygiene principles for meat handling. <http://www.fao.org/docrep/004/T0279E/T0279E03.htm> (Consulté Novembre 2016.)
- FAO et OMS. 2002. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture et Organisation Mondiale de la Santé. Statistiques sur les maladies d'origine alimentaire en Europe - Risques microbiologiques et chimiques. <http://www.fao.org/3/a-x6865f.pdf> (Consulté Novembre 2015.)
- FAO et OMS. 2001. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture et Organisation Mondiale de la Santé. Health and nutrition properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. <http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf> (Consulté Décembre 2016.)
- Faucitano, L., et N. A. Geverink. 2008. Effects of preslaughter handling on stress response and meat quality in pigs. In: L. Faucitano, and A. L. Schaefer (eds.) *Welfare of Pigs:*

- from Birth to Slaughter, Wageningen Academic Publ., Wageningen, The Netherlands. p. 197-215.
- Faucitano, L., P. Chevillon, et M. Ellis. 2010. Effects of feed withdrawal prior to slaughter and nutrition on stomach weight, and carcass and meat quality in pigs. *Livest Sci.* 127: 110-114
- Faucitano, L., M. C. Ielo, C. Ster, D. P. Lo Fiego, S. Methot, et L. Saucier. 2010. Shelf life of pork from five different quality classes. *Meat Sci.*, 84: 466-469.
- Fedrigo, M. A., D. Pivato, et P. Traldi. 1999. Qualitative and quantitative analysis of lipid extracts from rabbit meat by gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 13: 2216-2222.
- Fei, L., L. Hao, Y. Qipeng, et L. Chunfang. 2011. Effets antimicrobiens in vitro et mécanisme d'action des combinaisons d'huiles essentielles végétales sélectionnées contre quatre microorganismes d'origine alimentaire. *Rés. Alimentaire Int.* 44 : 3057-3064.
- Feingold, B. F. 1982. The role of diet in behaviour. *Ecol. Dis.* 1: 153-165.
- Fernandez, X. et E. Tornberg. 1991. A review of the causes of variation in muscle glycogen content and ultimate pH in pigs. *J. Muscle Foods* 2: 209-235.
- Field, D., P. D. Cotter, R. P. Ross, et C. Hill. 2015. Bioengineering of the model lantibiotic nisin. *Bioengineered* 6: 187-192.
- Filgueras, R., P. Gatellier, L. Aubry, A. Thomas, D. Bauchart, D. Duret, R. Zambiasi, et V. Santé-Lhoutellier. 2010. Colour, lipid and protein stability of *Rhea americana* meat during air - et vacuum-packaged storage: Influence of muscle on oxidative processes. *Meat Sci.* 86: 665-673.
- Font-i-Furnols, M., et L. Guerrero. 2014. Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. *Meat Sci.* 98: 361-371.
- Fortier, M. P., L. Saucier, et F. Guay. 2012. Effects on microbial quality of fresh pork loin during storage from oregano oil and cranberry pulp diet supplementation in pigs. *Can. J. Anim. Sci* 92: 465-471.
- Fратиanni F., L. De Martino, A. Melone, V. De Feo, R. Coppola, et F. Nazzaro. 2010. Preservation of chicken breast meat treated with thyme and balm essential oils. *J. Food Sci.* 75: 528-535.

- Frayse, J. L., et Darre, A. 1989. Production des viandes. Sur quelles bases économiques? Collections Agriculture d'aujourd'hui, Sciences, techniques, applications, Vol. I. (Eds.), *Technique et documentation*, Lavoisier, Paris (pp. 374.).
- Fread, G. (2014). Strategic planning analysis – Part III. Food in Canada. <http://www.foodincanada.com/opinions/strategic-planning-analysis-part-iii/>.
- Fread, G. 2015. Market trends that will drive our national food strategy. Food in Canada. <http://www.foodincanada.com/opinions/market-trends-that-will-drive-our-national-food-strategy/>
- Fu, M., K. Wellsknecht, J. Blackledge, T. Lyons, S. Thorpe, et J. Baynes. 1994. Glycation, glycoxidation, and cross-linking of collagen by glucose - kinetics, mechanisms, and inhibition of late stages of the maillard reaction. *Diabetes* 43: 676-683.
- Galv ez, A., H. Abriouel, R. Lucas López, et N. Ben Omar. 2007. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.*120: 51-70.
- Galvez, A., R. L. Lopez, H. Abriouel, E. Valdivia, et N. B. Omar. 2008. Application of bacteriocins in the control of food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *Crit. Rev. Biotechnol.* 28: 125-152.
- Gänzle, M. G., C. Hertel, et W. P. Hammes. 1999. Resistance of *Escherichia coli* and *Salmonella* against nisin and curvacin A. *Int. J. Food Microbiol.* 48: 37-50.
- Gandemer, G., 1998. Lipids and meat quality, lipolysis, oxidation and flavour. Proc. 44th International Congress of Meat Science and Technology (IcoMST), Spain, 106-119.
- Gandemer, G., V. Scislawski, C. Duchêne, et A. Kondjoyan. 2013. Cooking losses of juice, heme iron, B3 and B6 vitamins in beef meat as related to cooking practices – consequences on nutritional value of meat. 59th International Congress of Meat Science and Technology, 18-23rd August, Izmir, Turkey.
- Gatellier, P., T. Sayd, A. Promeprat, M. Gobert, C. Chambon, et V. Santé-Lhoutellier. 2014. Identification de marqueurs prot omiques pr dictifs de l'oxydation des viandes. La revue scientifique Viandes & Produits Carnés, 1-5.
- Gerencs r, Zs., Zs. Szendro, Zs. Matics, I. Radnai, M. Kovács, I. Nagy, A. Dal Bosco, et A. Dalle Zotte. 2012. Dietary supplementation of Spirulina (*Arthrospira platensis*) and Thyme (*Thymus vulgaris* L.) – Part 1: effect on productive performance of growing rabbits, in: 10th World Rabbit Congress, Sharm El-Sheikh, Egypt, 657-666.

- Giannenas, I., P. Florou-Paneri, M. Papazahariadou, E. Christaki, N. A. Botsoglou, et A. B. Spais. 2003. Dietary oregano essential oil supplementation on performance of broilers challenged with *Eimeria tenella*. Arch. Anim. Nutr. 57: 99-106.
- Gidenne, T. 2006. La filière cunicole française-Avicampus, Institut National de la Recherche Agronomique, <http://www.avicampus.fr/PDF/PDFlapin/filierecunicole.PDF>. (Consulté Décembre 2016.)
- Gill, C. O. 1983. Meat spoilage and evaluation of the potential storage life of fresh meat. J. Food. Prot. 46: 444-452.
- Gill, C. O. 1976. Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces. J. Appl. Bacteriol. 41: 401-410.
- Gill, C. O., et G. G. Greer. 1993. Enumeration and identification of meat spoilage bacteria. Technical bulletin 1993-8E, Research Branch, Minister of Supply and Services Canada.
- Gill, C. O., et K. G. Newton. 1978. The oncology of bacterial spoilage of fresh meat at chill temperatures. Meat Sci. 2: 207-217.
- Gill, C.O., et M. P. Reichel. 1989. Growth of the cold tolerant pathogens *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* on high-pH beef packaged under vacuum or carbon dioxide. Food Microbiol.6: 223-230.
- Gill, C. O., et N. Penney. 1986. Packaging conditions for extended storage of chilled dark, firm, dry beef. Meat Sci. 18: 41-53.
- Gill, C. O. 2000. HACCP in primary processing: red meat. Pages 81-122 In: HACCP in the meat industry. Martyn Brown (ed.). CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 81-122.
- Gladine, C., C. Morand, E. Rock, D. Gruffat, D. Bauchart, et D. Durand. 2007. The antioxidative effect of plant extracts rich in polyphenols differs between liver and muscle tissues in rats fed n-3 PUFA rich diets. Anim. Feed Sci. Tech. 139: 257-272.
- Gobert, M., B. Martin, A. Ferlay, Y. Chilliard, P. Graulet, D. PraDuradet, D. Bauchart, et D. Durand. 2008. Plant extracts rich in polyphenols and vitamin E protect cows fed an n-3 PUFA-rich diet against lipoperoxidation. Proc. Nutr. Soc. In press.
- Godard, G., et A-S. Reynders. 2014. Journal Terre n°147 - L'économie sociale ne badine pas avec la nourriture. <http://fr.calameo.com/books/00034261212597fece9c7> (Consulté Novembre 2016.)

- Goetz, P., et K. Ghédira. 2012. Phytothérapie anti-infectieuse. Collection Phytothérapie pratique.
- Goktepe, I. 2006. Probiotics as biopreservatives for enhancing food safety. In I. Goktepe, V. K. Juneja, & M. Ahmedna (Eds.), *Probiotics in food safety and human health* (pp. 285-307). CRC, Taylor & Francis group.
- González, H. M., W. Yien, V. A. Castrillon, et P. A. Ortega. 2013. Adición de *Carnobacterium maltaromaticum* CB1 en chorizo y morcilla empacados al vacío, para inhibir el crecimiento de *Listeria monocytogenes*. *Vitae*, 20: 23-29.
- Govaris, A., E. Botsoglou, P. Florou-Paneri, A. Moulas, et G. Papageorgiou. 2005. Dietary supplementation of oregano essential oil and α -tocopheryl acetate on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during storage. *Int. J. Poult. Sci.* 4: 969-975.
- Greer, G. G., 1989. Red meat, poultry, and fish. In: McKellar R.C. (ed). *Enzymes of psychrotrophs in raw food*. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, USA, 267-292.
- Griffiths, G., L. Trueman, T. Crowther, T. Brian, et S. Brian. 2002. Onions-a global benefit to health. *Phytother. Res.* 16:603-615.
- Gurrero-Legarreta, I., R. Mendiola, et E. Ponce. 1995. Inoculation of lactic acid bacteria on meat surfaces as a means of decontamination in semitropical conditions. *Meat Sci.* 40: 397-411.
- Gutierrez, J., C. Barry-Ryan, et P. Bourke. 2008. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *Int. J. Food Microbiol.* 124:91-97.
- Hammes, W., et C. Hertel. 2003. The general *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In: M. Dworkin, (Eds.), *The Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community* (pp. 320–403). New York: Springer-Verlag.
- Haleng, J., J. Pincemail, J.O. Defraigne, C. Charlier, et J. Chapelle. 2007. Le stress oxydant. *Rev. Med. Liege* 62: 628-328.
- Harrington, R. 2011. Company eyes European approval for ‘revolutionary’ anti-listerial ingredient. *FoodProductiondaily.com*: <http://www.foodproductiondaily.com/Quality-Safety/Company-eyes-European-approval-for-revolutionary-anti-listerial-ingredient>. (Consulté Novembre 2016.)

- Health Canada. 2001. Determination of the aerobic colony count of foods, MFHPB-18. The compendium of analytical methods (Vol. 2). Disponible sur: <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume2-eng.php>. (Consulté Janvier 2014.)
- Health Canada. 2004. Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Foods and Environmental Samples Using 3M™ Petrifilm™ Staph Express Count (STX) Plates, MFLP-21. The compendium of analytical methods (Vol. 3). Disponible sur: <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume3-eng.php>. (Consulté Janvier 2014.)
- Health Canada. 2007. Enumeration of *Enterobacteriaceae* species in Food and Environmental Samples Using 3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plates, MFLP-09. The compendium of analytical methods (Vol. 3). Disponible sur: <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume3-eng.php>. (Consulté Janvier 2014.)
- Health Canada. 2010. Information Document on Health Canada's Proposal to Amend the Food et Drug Regulations to permit the use of a microbiological preparation of *Carnobacterium maltaromaticum* strain CB1 in certain ready-to-eat meat et poultry products. Disponible sur: http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/consult/_carnobacterium_maltaromaticum/summary-sommaire-eng.php. (Consulté Janvier 2014.)
- Health Canada. 2011. Isolation of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. from foods and environmental samples, MFHPB-30. The compendium of analytical methods (Vol. 2). Disponible sur: <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume2-eng.php> (Consulté Janvier 2014.)
- Health Canada. 2013. Enumeration of *Escherichia coli* and Coliforms in Food Products and Food Ingredients Using 3M™ Petrifilm™ *E. coli* Count Plates (volume 2), MFHPB-34. The compendium of analytical methods (Vol. 2). Disponible sur: <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume2-eng.php>. (Consulté Janvier 2014.)

- Henning, C., P. Vijayakumar, R. Adhikari, B. Jagannathan, D. Gautam, et P. M. Muriana. 2015. Isolation and Taxonomic Identity of Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria from Retail Foods and Animal Sources. *Microorganisms* 3: 80-93.
- Hernández, P., et F. Gondret. 2006. Rabbit Meat Quality. In: Maertens L., Coudert P. (Eds.), *Recent Advances in Rabbit Sciences*, ILVO, Merelbeke, Belgium, 269-290.
- Hocquette, J. F., I. Ortigues-Marty, M. Damon, P. Herpin, et Y. Geay. 2000. Métabolisme énergétique des muscles squelettiques chez les animaux producteurs de viande. *INRA Prod. Anim.*, 13: 185-200.
- Hoffman, K. 1994. What is quality? Definition, measurement and evaluation of meat quality. *Meat Focus Int.*, 3: 73-82
- Hollman, P. C., A. Cassidy, B. Comte, M. Heinonen, M. Richelle, E. Richling, M. Serafini, A. Scalbert, H. Sies, et S. Vidry. 2011. The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols for cardiovascular health in humans is not established. *J. Nutr.* 141:989S-1009S.
- Holmer, S. F., R. O. McKeith, D. D. Boler, A. C. Dilger, J. M. Eggert, D. B. Petry, F. K. McKeith, K. L. Jones, et J. Killefer. 2009. The effect of pH on shelf-life of pork during aging and simulated retail display. *Meat Sci.*, 82: 86–93.
- Hu, F. B., et W.C. Willett. 2002. Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *JAMA*. 288: 2569-2578.
- Huffman, R. D. 2002. Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. *Meat Sci.* 62: 285-294.
- Hughes, J. M., S. K. Oiseth, P. P. Purslow, et R. D. Warner. 2014. A structural approach to understanding the interactions between colour, water-holding capacity and tenderness. *Meat sci.* 98: 520-532.
- Hulot, F., et J. Ouhayoun. 1999. Muscular pH and related traits in rabbits: a review. *World Rabbit Sci.* 7: 15-36.
- Hunt, M. C. 1991. American meat science association committee on guidelines for meat color evaluation. *Proc. Recip. Meth. Conf.* 44: 1-14.
- ICMSF, International Commission on Microbiological Specification for Foods. 1986. *Microorganisms in foods. Sampling for microbiological analysis: principles and*

- specific applications, 2nd Ed. International Commission on Microbiological Specifications for Foods.
- Imazaki, P. H., C. Jacques-Houssa, G. Kergourlay, G. Daube, et A. Clinquart. 2015. Sensory quality of beef patties inoculated with strains of *Carnobacterium maltaromaticum* with potential as biopreservatives. 61st International Congress of meat sci. technol. Clermont-Ferrand, France.
- Insausti, K., M. J. Beriain, A. Purroy, P. Alberti, C. Gorraiz, et M. J. Alzueta. 2001. Shelf life of beef from local Spanish cattle breeds stored under modified atmosphere. *Meat Sci.* 57: 273-281.
- Interbev. 2006. Le point sur la couleur de la viande bovine. http://www.agrireseau.qc.ca/bovinsboucherie/documents/couleur_viande_bovine1.pdf (Consulté septembre 2014.)
- Irkin, R., et M. Arslan. 2010. Effect of onion (*Allium cepa L.*) extract on microbiological quality of refrigerated beef meat. *J. Muscle Foods.*, 21: 308-316.
- Jack, R.W., J. Wan, J. Gordon, K. Harmark, B. E. Davidson, A. J. Hillier, R. E. H. Wettenhall, M. W. Hickey, et M. J. Coventry. 1996. Characterization of the Chemical and Antimicrobial Properties of Piscicolin 126, a Bacteriocin Produced by *Carnobacterium piscicola* JG126. *Appl. Env. Microbiol.* 62: 2897-2903.
- James, S. J., et C. James. 2002. Meat refrigeration. Cambridge, England: Woodhead Pub.
- Jang, X. D., M. H. Liu, B. D. Shin, S. K. Lee, J. H. Lee, et C. J. Lee. 2008. Antioxidative potential of raw breast meat from broiler chicks fed a dietary medicinal herb extract mix. *Poultry Sci.*, 87: 2382-2389.
- Jayasena, D. D., et C. Jo. 2013. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends Food Sci. Tech.* 34 :96-108
- Jolley, P. D. 1990. Rabbit transport and its effects on meat quality. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 28:119-134.
- Jones, R. J. 2004. Observations on the succession dynamics of lactic acid bacteria populations in chill-stored vacuum-packaged beef. *Int. J. Food. Microbiol.* 90:273-282.
- Kähkönen, M. P., A. I. Hopia, et M. Heinonen. 2001. Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4076-4082.

- Kandler, O., et N. Weiss. 1986. Microbiology of Mesu, a Traditional Fermented Bamboo Shoot Product. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. In: Sneath, P. H. A., N. S. Mair, M. E. Sharpe and J. G. Holt (Eds.), Baltimore: Williams and Wilkins 2, 1209-1234.
- Kanner, J. 1994. Oxidative processes in meat and meat products: Quality implications, *Meat Sci.* 36: 169-189.
- Kerry, J. P., J. F. Kerry, et D. Ledward. 2002. *Meat Processing: Improving Quality*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Édition Elsevier.
- King, J. C., R. E. Black, M. P. Doyle, K. L. Fritsche, B. H. Halbrook, O. A. Levander, S. N. Meydani, W. A. Walker, et C. E. Woteki. 2000. Foodborne illnesses and nutritional status: a statement from an american society for nutritional sciences working group. *J. Nutr.*, 130: 2613-2617.
- Kone, A. P., D. Cinq-Mars, Y. Desjardins, F. Guay, A. Gosselin, et L. Saucier. 2016. Effects of plant extracts and essential oils as feed supplements on quality and microbial traits of rabbit meat. *World Rabbit Sci.*, 24 : 107-119.
- Kone, A. P., J. M. Velez Zea, D. Gagné, D. Cinq-Mars, F. Guay, et L. Saucier. 2017. Application of *Carnobacterium maltaromaticum* as a feed additive for weaned rabbits to improve meat microbial quality and safety. *Meat Sci.*, 135: 174-188.
- Korkeala, H., O. Mäki-Petäys, T. Alanko, et O. Sorvettula. 1986. Determination of pH in meat. *Meat Sci.* 18: 121-132.
- Krause, B. L., J. G. Sebranek, R. E. Rust, et A. Mendonca. 2011. Incubation of curing brines for the production of ready-to-eat, uncured, no-nitrite-or-nitrate-added, ground, cooked and sliced ham. *Meat Sci.*, 89: 507-513.
- krishnan, R. K., S. Babuskin, S. B. P. Azhagu, M. Sasikala, K. Sabina, G. Archana, M. Sivarajan, et M. Sukumar. 2014. Antimicrobial and antioxidant effects of spice extracts on the shelf life extension of raw chicken meat. *Int. J. Food Microbiol.* 171:32-40.
- Kritas, S. K., E. Petridou, P. Fortomaris, E. Tzika, G. Arsenos, et G. Koptopoulos. 2008. Effect of inclusion of probiotics on micro-organisms content, health and performance of fattening rabbits: 1. Study in a commercial farm with intermediate health status. 9th World Rabbit Congress – Verona – Italy, (717-721).

- Lahucky, R., K. Nuernberg, L. Kovac, O. Bucko, et G. Nuernberg. 2010. Assessment of the antioxidant potential of selected plant extracts - *in vitro* and *in vivo* experiments on pork. *Meat Sci.* 85: 779-784.
- Lambert, A. D., J.P. Smith, et K.L. Dodds. 1991. Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat - A review. *Food Microbiol.* 8: 267-297.
- Lalancette, R. 2016. L'industrie cunicole au Québec: une demande en croissance. *BioClips* 24: N° 13.
- Laursen, B. G., L. Bay, I. Cleenwerck, M. Vancanneyt, J. Columpios, P. Dalgaard, et J. J. Leisner. 2005. *Divergens Carnobacterium* y *Carnobacterium maltaromaticum* como spoilers o cultivos protectores en carnes y mariscos: caracterización fenotípica y genotípica. *Syst. Appl. Microbiol.* 28: 151-164.
- Lebas, F., P. Coudert, H. Rochambeau, et R. G. Thébault. 1984. Le lapin : élevage et pathologie, Édition FAO.
- Lebret, B., L. Lefaucheur, J. Mourot, et M. Bonneau. 1996. Influence des facteurs d'élevage sur la qualité de la viande de porc. *Journées Rech. Porcine en France* 28 : 137-156.
- Lee, C. H., J. D. Reed, et M. P. Richards. 2006. Ability of various polyphenolic classes from cranberry to inhibit lipid oxidation in mechanically separated turkey and cooked ground pork. *J. Muscles Foods* 17: 248-266.
- Leroy, F., et L. Li. 2004. Functional lactic acid bacteria starter cultures for the food fermentation industry. *Trends. Food. Sci. Tech.* 15: 67-78.
- Leusink, G., H. Rempel, B. Skura, M. Berkyto, W. White, Y. Yang, J. Y. Rhee, S. Y. Xuan, S. Chiu, F. Silversides, S. Fitzpatrick, et M. S. Diarra. 2010. Growth performance, meat quality, and gut microflora of broiler chickens fed with cranberry extract. *Poultry Sci.*, 89:1514-1523.
- Li, An-Na., L. Sha, Z. Yu-Jie, X. Xiang-Rong, C. Yu-Ming, et L. Hua-Bin. 2014. Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols. *Nutrients.*, 6: 6020-6047.
- Liu, Q., M. C. Lanari, et D. M. Schaefer. 1995. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *J. Anim. Sci.* 73:3131-3140.
- Liu, R. H. 2013. Dietary bioactive compounds and their health implications. *J. Food Sci.* 78: A18-25.

- Liu, X., U. Basu, P. Miller, et L. M. McMullen. 2014. Stress Response and Adaptation of *Listeria monocytogenes* 08-5923 Exposed to a Sublethal Dose of Carnocyclin A. *Appl. Environ. Microbiol.* 80: 3835-3841.
- Lo, C. Y., S. Li, D. Tan, M. Pan, S. Sang, et C. Ho. 2006. Trapping reactions of reactive carbonyl species with tea polyphenols in simulated physiological conditions. *Mol. Nutr. Food Res.* 50: 1118-1128.
- Losa, R. 2001. The use of essential oils in animal nutrition. *Cahiers Options Méditerranéennes* 54: 39-44.
- Lucera, A., C. Costa, A. Conte, et M.A. Del Nobile. 2012. Food applications of natural antimicrobial compounds. *Front Microbiol.* 3: 287.
- Luna, A., M. C. Lâbaque, J. A. Zygodlo, et R. H. Marin. 2010. Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. *Poultry Sci.* 89: 366-370.
- Lund, M., N. Heinonen, M.C.P. Baron, et M. Estevez. 2011. Protein oxidation in muscle food: A review. *Mol. Nutr. Food Res.* 55: 83-95.
- Magdelaine, P. 2003. Économie et avenir des filières avicoles et cunicoles. *INRA Prod. Anim.*, 16: 349-356.
- Makoi, J., et P. Ndakidemi. 2010. Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes. *Afr. J. Biotechnol.* 12: 1358-1368.
- Manach, C., A. Scalbert, C. Morand, C. Rémésy, et L. Jiménez. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79: 727-747.
- Manach, C., G. Williamson, C. Morand, A. Scalbert et C. Remesy. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 81: 230S-242S.
- Mangena, T., et N. Y. O. Muyima. 1999. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosemarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Lett. Appl. Microbiol.* 28: 291-296.
- Marc, F., A. Davin, L. Deglene-Benbrahim, C. Ferrand, M. Baccaud, et P. Fritsch. 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecines sci.* 20: 458-463.

- Marino, M., C. Bersani, et G. Comi. 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiacea and Compositae. *Int. J. Food Microbiol.* 67:187-195.
- Marketwire. 2011. Revolutionary New Food Ingredient, Micocin®, Fights Listeria, <http://www.marketwired.com/press-release/revolutionary-new-food-ingredient-micocin-fights-listeria-1391478.htm>.
- Martin. A. 2001. The “apports nutritionnels conseillés (ANC)” for the French population. *Reprod. Nutr. Dev.* 41: 119-128.
- Martin-Visscher, L. A., M. J. van Belkum, S. Garneau-Tsodikova, R. M. Whittal, J. Zheng, L. M. McMullen, et J. C. Vederas. 2008. Isolation and characterization of carnocyclin A, a novel circular bacteriocin produced by *Carnobacterium maltaromaticum* UAL307. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 4756-4763.
- Martin-Visscher, L. A., S. Yoganathan, Cs. Sit, C.T. Lohans et J. C. Vederas. 2011. The activity of bacteriocins from *Carnobacterium maltaromaticum* UAL307 against Gram-negative bacteria in combination with EDTA treatment. *FEMS Microbiol. Lett.* 317: 152-159.
- McMullen, L.M., et M.E. Stiles. 1993. Microbial ecology of fresh pork stored under modified atmosphere at -1, 4.4 and 10 degrees. *Int. J. Food Microbiol.* 18:1-14.
- Mead, G. C., et B. W. Adams. 1977. A selective medium for the rapid isolation of pseudomonads associated with poultry meat spoilage. *Br. Poult. Sci.*, 18: 661-670.
- Melody, J. L., S. M. Lonergan, L. J. Rowe, T. W. Huiatt, M. S. Mayes, et E. Huff-Lonergan. 2004. Early post mortem biochemical factors influence tenderness and water holding capacity of three porcine muscles. *J. Anim. Sci.* 82: 1195-1205.
- Michel, F., D. Bonnefont-Rousselot, E. Mas, J. Drai, et P. Thérond. 2008. Biomarkers of lipid peroxidation: analytical aspects. *Ann. Biol. Clin.* 66: 605-620.
- Min, B., et D.U. Ahn. 2005. Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products - A review. *Food Sci. Biotechnol.* 14: 152-163.
- Min, B., R. Nam, K. Cordray, C. Joseph, et D.U. Ahn. 2008. Factors Affecting Oxidative Stability of Pork, Beef, and Chicken Meat. *Animal Industry Report: AS 654, ASL R2257*.

- Mitsumoto, M., R.N. Arnold, D.M. Schaefer, et R.G. Cassens. 1993. Dietary versus post-mortem supplementation of vitamin E pigment and lipid stability in ground beef. *J. Anim. Sci.* 71: 1812-1816.
- Morales, M.T., G. Luna, et R. Aparicio. 2006. Changes Induced by UV Radiation during Virgin Olive Oil Storage. *J. Agric. Food Chem.* 54:4790- 4794.
- Morrissey, P. A., D. J. Buckley, P.J.A. Sheehy, et F. J. Monahan. 1994. Vitamin E and meat quality. *Proc. Nutr. Soc.* 53:289-295
- Morrissey, P. A., P. Sheehy, K. Galvin, J. Kerry, et D. Buckley. 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Sci.* 49: S73-S86.
- Mourot, J., M. Arturo-schaan, K. Bebin, et C. Briens. 2011. Effet de l'apport d'antioxydants végétaux dans l'aliment sur la peroxydation des lipides de la viande de lapin. 14èmes *J. Rech. Cunicole* 93-96.
- Monahan, F. J. 2000. Oxidation of lipid in muscle foods: fundamental and applied concerns, in Decker, E., Faustman, C., Lopez-Bote, C. J. *Antioxidants in muscle foods. Nutritional strategies to improve quality*, New York, Wiley-interscience: 3-23.
- Musella, M., S. Cannata, R. Rossi, J. Mourot, P. Baldini, et C. Corino. 2009. Influence of n-3 PUFA from extruded linseed on fresh and dry- cured ham quality of slaughtered pigs at 160 kg liveweight: n-3 PUFA from extruded linseed influences fatty acid composition and sensory characteristics of dry-cured ham from heavy pigs. *J. Anim. Sci.* 87: 3578-3588.
- Mytle, N., G. L. Anderson, M. P. Doyle, et M. A. Smith. 2006. Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. *Food control.* 17: 102-107.
- Nakyinsige, K., A. B. Fatimah, Z. A. Aghwan, I. Zulkifli, Y. M. Goh, et A. Q. Sazili. 2014. Bleeding efficiency and meat oxidative stability and microbiological quality of New Zealand White rabbits subjected to halal slaughter without stunning and gas stunning. *AJAS.* 27: 406-413.
- Nakyinsige, K., A. Q. Sazili, Z. A. Aghwan, I. Zulkifli, Y. M. Goh, F. Abu Bakar, et S. A. Sarah. Development of microbial spoilage and lipid and protein oxidation in rabbit meat. 2015. *Meat Sci.* 108: 125-131.

- Nattress, F. M., C. K. Yost, et L. P. Baker. 2001. Evaluation of the ability of lysozyme and nisin to control meat spoilage bacteria. *Inter. J. Food Microbiol.*70: 111-119.
- Naveena, M., A. R. Sen, S. Vaithyanathan, Y. Babji, et N. Kondaiah. 2008. Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. *Meat Sci.* 80: 1304-1308.
- Nazzaro, F., F. Fratianni, L. De Martino, R. Coppola, et V. De Feo. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals (Basel)* 6: 1451-1474.
- Neffe-Skocińska, K., D. Jaworska, D. Kołożyn-Krajewska, Z. Dolatowski, et L. Jachacz-Jówko. 2015. The effect of LAB as probiotic starter culture and green tea extract addition on dry fermented pork loins quality. *BioMed. Res. Inter.* Article ID 452757.
- Negi, P. S. 2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *Int. J. Food Microbiol.*156: 7-17.
- Newell, D. G., M. Koopmans, L. Verhoef, E. Duizer, A. Aidara-Kane, H. Sprong, M. Opsteegh, M. Langelaar, J. Threlfall, F. Scheutz, J. Giessen, et H. Kruse. 2010. Foodborne diseases — The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *Inter. J. Food Microbiol.* 139: S3-S15.
- Newton, K. G., et C. O. Gill. 1981. The microbiology of DFD fresh meats: A review. *Meat Sci.*, 5: 223-232.
- Nilsson, L., L. Gram, et H. H. Huss. 1999. Growth control of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon using a competitive lactic acid bacteria flora. *J. Food Prot.* 62 : 336-342.
- Nistor, E., V. A. Bampidis, N. Păcală, M. Pentea, J. Tozer, et H. Prundeanu. 2013. Content of Rabbit Meat as Compared to Chicken, Beef and Pork Meat. *J. Anim. Prod. Adv.* 3:172-176.
- Nychas, G. J. E., P. N. Skandamis, C. C. Tassou, et K. P. Koutsoumanis. 2008. La détérioration de la viande pendant la distribution. *Science de la viande.*78 : 77 - 89.
- Nyachua, D. G. 2010. Foodborne illness: is it on the rise? *Nutr. Rev.* 68: 257-269.
- Obrenovich, M., N. Nair, A. Beyaz, G. Aliev, et V. Reddy. 2010. The Role of Polyphenolic Antioxidants in Health, Disease, and Aging. *Rejuvenation Res.* 13: 631-643.

- OECD. 2015. Organisation for Economic Co-operation and Development, Meat consumption, <https://data.oecd.org/agrooutput/meat-consumption.htm> (Consulté Décembre 2016.)
- Offer, G., et Cousins, T. 1992. The mechanism of drip production: Formation of two compartments of extracellular space in muscle Post mortem. *J. Sci. Food Agric.* 58: 107-116.
- Olaoye, O. A., et I. G. Ntuen. 2011. Spoilage and preservation of meat: a general appraisal and potential of lactic acid bacteria as biological preservatives. *Inter. Research J. Biotech.* 2: 033-046.
- OMS. 2015. Organisation Mondiale de la Santé. Sécurité sanitaire des aliments. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/fr/> (Consulté Novembre 2016.)
- OMS. 2016. Organisation Mondiale de la Santé. Maladies d'origine alimentaire: près d'un tiers des décès surviennent chez les enfants de moins de 5 ans. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/foodborne-disease-estimates/fr/> (Consulté Novembre 2016.)
- Oso, A. O., O. M. O. Idowu, A. S. Haastrup, A. J. Ajibade, K. O. Olowonefa, A. O. Aluko, L. M. Ogunade, S. O. Osho, et A. M. Barnghose. 2013. Growth performance, apparent nutrient digestibility, caecal fermentation, ileal morphology and caecal microflora of growing rabbits fed diets containing probiotics and prebiotics. *Livest. Sci.* 157:184-190.
- O'Sullivan, L., R. P. Ross, et C. Hill. 2002. Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie* 84: 593-604.
- Ouhayoun, J., et A. Dalle Zotte. 1993. Muscular energy metabolism and related traits in rabbits. A review. *World Rabbit Sci.*, 3: 97-108.
- Ouhayoun, J., et D. Delmas. 1988. Meat Quality of Rabbit. Differences between Muscles in Post-Mortem pH. 4th World Rabbit Congress 2: 412-418.
- Oussalah, M., S. Caillet, L. Saucier, L., et Lacroix, M. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control.* 18: 414-420.

- Palazzo, M., F. Vizzarri, M. Nardoia, S. Ratti, G. Pastorelli, et D. Casamassima. 2015. Dietary *Lippia citriodora* extract in rabbit feeding: effects on quality of carcass and meat. *Arch. Anim. Breed.*, 58: 355-364.
- Papageorgiou, G., N. Botsoglou, A. Govaris, I. Giannenas, S. Iliadis., et E. Botsoglou. 2003. Effect of dietary oregano oil and α -tocopheryl acetate supplementation on iron induced lipid oxidation of turkey breast, thigh, liver and heart tissue. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 87: 324-335.
- Panisset, J. C., É. Dewailly, et H. Doucet-Leduc. 2003. Contamination alimentaire. Environnement et Santé Publique : fondements et pratiques. Éditions TEC & DOC. Edisen.
- Patel. S., et S. Ahmed. 2015. Emerging field of metabolomics: Big promise for cancer biomarker identification and drug discovery. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 107:63-74.
- Parigi Bini, R., G. Xiccato, M. Cinetto, et A. Dalle Zotte. 1992. Effect of slaughter age, slaughter weight and sex on carcass and meat quality in rabbit. 2. Chemical composition and meat quality. *Zoot. Nutr. Anim.* 18: 173-190.
- Park, S. Y., S. S. Yoo, J. H. Shim, et K. B. Chin. 2008. Physicochemical properties, and antioxidant and antimicrobial effects of garlic and onion powder in fresh pork belly and loin during refrigerated storage. *J. Food Sci.* 73: C577-84.
- Peiretti, P. G., et G. Meineri. 2008. Effects on growth performance, carcass characteristics, and the fat and meat fatty acid profile of rabbits fed diets with chia (*Salvia hispanica* L.) seed supplements. *Meat Sci.*, 80: 1116-1121.
- Peiretti, P. G., et G. Meineri. 2011. Effects of diets with increasing levels of *Spirulina platensis* on the carcass characteristics, meat quality and fatty acid composition of growing rabbits. *Livest. Sci.*, 140: 218-224.
- Peiretti, P. G., F. Gai, L. Rotolo, A. Brugiapaglia, et L. Gasco. 2013. Effects of tomato pomace supplementation on carcass characteristics and meat quality of fattening rabbits. *Meat Sci.*, 95: 345-51.
- Pereira, M., et Malfeito-Ferreira, M. 2013. A simple method to evaluate the shelf life of refrigerated rabbit meat. *Food Control* 49: 70-74.

- Peres, L. E. P. 2007. Metabolismo secundário. Disponible sur: <http://www.ciagri.usp.br/~lazaropp/FisioVegGradBio/MetSec.pdf>.
- Perricone, M., E. Arace, M. R. Corbo, M. Sinigaglia, et A. Bevilacqua. 2015. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Front. Microbiol.* 6: 1-7.
- Pison, G. 2015. Populations & sociétés. Tous les pays du monde. Numéro 525. *Population & Sociétés* bulletin mensuel d'information de l'Institut national d'études démographiques, 1-8.
- Pla, M. 1999. Carcass and meat quality of growing rabbits under high ambient temperature using high fat diets. In: Testik A., Baselga M. (ed). 2nd International Conference on rabbit production in hot climates. Ciheam-Iamz Adana (Turquía). *Cahiers Options Méditerranéennes.*, 41: 93-98.
- Poirier, L. et J. Painchaud. 2015. La canneberge au Québec et au Centre-du-Québec un modèle de développement durable, à la conquête de nouveaux marchés. <https://www.mapaq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/Regions/CentreduQuebec/Profilcanneberge.pdf> (consulté Janvier 2016.)
- Porter, C., D. Choi, B. Cash, M. Pimentel, J. Murray, L. May, et M. Riddle. 2013. Pathogen - specific risk of chronic gastrointestinal disorders following bacterial causes of foodborne illness. *BMC Gastroenterology* 13: 46.
- Public Health Agency of Canada. 2014. Estimates of Food-borne Illness in Canada. <http://www.phac-aspc.gc.ca/efwd-emoaha/efbi-emoa-eng.php>.
- Rachman, C., P. Kabadjova, S. Valcheva, H. Prévost, et X. Dousset. 2004. Identification of *Carnobacterium* Species by Restriction Fragment Length Polymorphism of the 16S-23S rRNA Gene Intergenic Spacer Region and Species-Specific PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 4468-4477.
- Raghavan, S., et M. P. Richards. 2006. Partitioning and inhibition of lipid oxidation in mechanically separated turkey by components of cranberry press cake. *J. Agric. Food Chem.* 54: 6403-6408.
- Ramírez, J. A., I. Díaz, M. Pla, M. Gil, A. Blasco, et M. À. Oliver. 2005. Fatty acid composition of leg meat and perirenal fat of rabbits selected by growth rate. *Food Chem.* 90: 251-256

- Rapport Brundtland ou notre avenir à tous.1987.
http://www.diplomatie.gouv.fr/fr/sites/odyssee-developpement-durable/files/5/rapport_brundtland.pdf (Consulté Décembre 2015.)
- Rasmussen, A. J., et M. Andersson. 1996. New method for determination of drip loss in pork muscles. In Proc.: 42nd International Congress of Meat Science and Technology, 1-6 September, 1996. Lillehammer, Norway. 286-287.
- Renner, M., et R. Labas. 1987. Biochemical factors influencing metmyoglobin formation in beef muscles. *Meat Sci.* 19: 151-165.
- Reyhan, I., et A. Mikail. 2010. Effect of onion (*allium cepa* L.) extract on microbiological quality of refrigerated beef meat. *J. Muscle Foods* 21: 308-316.
- Richard, A., G. Rémois, et P. Lafargue-Hauret. 2000. Effect of zinc bacitracin on epizootic rabbit enterocolitis. In Proc.: 7th World Rabbit Congress, 4-7 July, Valencia, Spain. 345-349. Disponible sur: <http://world-rabbit-science.com/WRSA-Proceedings/Congress-2000-Valencia/Papers/Pathology/P23-Richard.pdf>. (Consulté Janvier 2015.)
- Ricke, S. C. 2003. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry Sci.* 82: 632-663.
- Rodríguez-Calleja, J. M., J.A. Santos, A. Otero, et M.L. García-López. 2004. Microbiological quality of rabbit meat. *J. Food Prot.* 67: 966-971.
- Romans, J. R., W. J. Costello, C.W. Carlson, M. L. Greaser, et K.W. Jones. 1994. *The meat we eat*. 13th edn. Danville, Illinois: Interstate Publishers, INC.
- Rose, N. L., P. Sporns, M. E. Stiles, et L. M. McMullen. 1999. Inactivation of nisin by glutathione in fresh meat. *J. Food Sci.* 64: 759-762.
- Rotolo, L., F. Gai, S. Nicola, I. Zoccarato, A. Brugiapaglia, et L. Gasco. 2013. Dietary supplementation of oregano and sage dried leaves on performances and meat quality of rabbits. *J. Integr. Agric.* 12: 1937-1945.
- Rowe, L. J., K.R. Maddock, S.M. Lonergan, E. Huff-Lonergan. 2004. Influence of early postmortem protein oxidation on beef quality. *J. Anim. Sci.* 82:785-93
- Sakala, R. M., H. Hayashidani, Y. Kato, T. Hirata, Y. Makino, A. Fukushima, T. Yamada, C. Kaneuchi, et M. Ogawa. 2002. Change in the composition of the microflora on vacuum-packaged beef during chiller storage. *Int. J. Food Microbiol.* 74: 87-99.

- Salvini, S., M. Parpinel, P. Gnagnarella, P. Maisonneuve, et A. Turrini. 1998. Banca dati di composizione degli alimenti per studi epidemiologici in Italia. Ed. Istituto Superiore di Oncologia.
- Santé Canada. 2010. Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à manger. <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/aliments-nutrition/participation-public-partenariats/listeria-monocytogenes-aliments-prets-manger-2010/document.html?=&wbdisable=true> (Consulté septembre 2017).
- Santé-Lhoutellier, V., T. Astruc, P. Marinova, E. Grève, et P. Gatellier. 2008. Effect of meat cooking on physicochemical state and in vitro digestibility of myofibrillar proteins. *J. Agric. Food Chem.* 56: 1488-1494.
- Sarni-Manchado, P., et V. Cheynier. 2006. Les polyphénols en agroalimentaires, Éditions Tec & Doc: 398pp.
- SAS. 2002. SAS/STAT User's Guide (Release 9.1). SAS Institute, Inc., Cary NC, USA.
- Sato, K., et G. R. Hegarty. 1971. Warmed-over flavor in cooked meats. *J. Food Sci.*36: 1098-1102.
- Saucier, L. 1999. Meat safety: challenges for the future. *Outlook on Agriculture* 28: 77-82.
- Saucier, L., C. Gendron, et C. Gariépy. 2000. Shelf life of ground poultry meat stored under modified atmosphere. *Poultry Sci.* 79: 1851-1856.
- Saucier, L., et C. P. Champagne. 2006. Applications of Cell Immobilisation Biotechnology. In *Applications of Cell Immobilisation Biotechnology*. Springer Science & Business Media. 8B of the series Focus on Biotechnology, 337-353.
- Saucier, L. 2016. Microbial spoilage, quality and safety within the context of meat sustainability. *Meat Sci.*120: 78-84.
- Saucier, L., A. P. Koné, D. Gagné, D. Cinq-Mars, et F. Guay. 2016. Positive modulation of meat microbial ecology by feeding strategies. In: *Proc. 62nd Inter.Congress Meat Sci. Techn. (ICoMST)*, Bangkok, Thailand.
- Scalbert, A., et G. Williamson. 2000. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *J. Nutr.*130: 2073S-2085S.

- Sebranek, J. G., V. J. H. Sewalt, K. L. Robbins, et T. A. Houser. 2005. Comparaison d'un extrait de romarin naturel et BHA / BHT pour l'efficacité antioxydante relative dans la saucisse de porc. *Meat Sci.* 69: 289-296.
- Seyidoglu, N., et S. Peker. 2015. Effects of different doses of probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* on the duodenal mucosa in rabbits. *Indian. J. Anim. Res.* 49: 4602-4606.
- Shoji, T., Y. Akazome, T. Kanda, et M. Ikeda. 2004. The toxicology and safety of apple polyphenol extract. *Food Chem. Toxicol.* 42: 959-967.
- Simitzis, P. E., G. K. Symeon, M. A. Charismiadou, J. A. Bizelis, et S. G. Deligeorgis. 2010. The effects of dietary oregano oil supplementation on pig meat characteristics. *Meat Sci.* 84: 670-676.
- Simon, O., W. Vahjen, et L. Scharek. 2003. Microorganisms as feed additives-probiotics. In *Proceedings 9th International Symposium on Digestive Physiology in Pigs*, May 14th-17th, Banff, Alberta, Canada.
- Simopoulos, A. P. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacother.* 56: 365-379.
- Skandamis, P., E. Tsigarida, et G.J.E. Nychas. 2002. The effect of oregano essential oil on survival/death of *Salmonella typhimurium* in meat stored at 5 °C under aerobic, VP/MAP conditions. *Food Microbiol.* 19: 97-103.
- Skandamis, P. N., et G. J. Nychas. 2001. Effect of oregano essential oil on microbiological and physicochemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *J. Appl. Microbiol.* 91: 1011-1022.
- Smet, K., K. Raes, G. Huyghebaert, L. Haak, S. Arnouts, et S. De Smet. 2008. Lipid and protein oxidation of broiler meat as influenced by dietary natural antioxidant supplementation. *Poultry Sci.* 87: 1682-1688.
- Snannon, S., et A. Schaefer. 1999. Effet du transport sur le bien-être des animaux et la qualité des viandes. *Cahiers Agriculture* 8:451-459.
- Socholotuik, M. R. 2012. Control of *Listeria monocytogenes* and Heat-Resistant *Escherichia coli* on Vacuum-Packaged Beef. Thesis Food Science and Technology, University Alberta. <https://era.library.ualberta.ca/files/kh04dq96d#.WIrZDPnhA2w>.
- Sofos, J. N., et I. Geornaras. 2010. Overview of current meat hygiene and safety risks and summary of recent studies on biofilms, and control of *Escherichia coli* O157:H7 in

- non-intact, and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat, meat products. *Meat Sci.*, 86: 2-14.
- Solomakos, N., A. Govaris, P. Koidis, et N. Botsoglou. 2008. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef during refrigerated storage. *Meat Sci.* 80: 159-166.
- Solórzano-Santos, F., et M. Miranda-Novales. 2012. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Curr. Opin. Biotechnol.* 23: 136-141.
- Soultos, N., Z. Tzikas, E. Christaki, K. Papageorgiou, et V. Steris. 2009. The effect of dietary oregano essential oil on microbial growth of rabbit carcasses during refrigerated storage. *Meat Sci.* 81:474-478.
- Speranza, B., et M.R. Corbo. 2010. Essential oils for preserving perishable foods: possibilities and limitations, in *Application of Alternative Food Preservation Technologies to Enhance Food Safety and Stability*, eds A. Bevilacqua, M. R. Corbo, et M. Sinigaglia (Sharjah: Bentham Publisher), 35-57.
- Steiner, T. 2009. Probiotics in Poultry and Pig Nutrition: Basics and Benefits. The poultry site. <http://www.thepoultrysite.com/articles/1564/probiotics-in-poultry-and-pig-nutrition-basics-and-benefits/> (Consulté Décembre 2016.)
- Stewart, M.R., B.K. Hutchins, M.W. Zipser, et B.M. Watts. 1965. Enzymatic reduction of metmyoglobin by ground beef. *J. Food Sci.* 30: 487-491.
- Stiles, M.E. 1996. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 70: 331-345.
- Subramanian, K. N., G. Padmanaban, et P. S. Sarma. 1965. Folin-Ciocalteu reagent for the estimation of siderochromes. *Anal. Biochem.*, 12: 106-112.
- Swetwiwathana, A., et W. Visessanguan. 2015. Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for safety improvements of traditional Thai fermented meat and human health. *Meat Sci.* 109: 101-105.
- Tang, X., et D.A. Cronin. 2007. The effects of brined onion extract on lipid oxidation and sensory quality in refrigerated cooked turkey breast rolls during storage. *Food Chem.* 7: 12-18.
- Tajkarimi, M. M., S. I. Ibrahim, et D. O. Cliver. 2010. Review - Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control* 21: 1199-1218.

- The Weatherill report. 2009. the Report of the Independent Investigator into the 2008 Listeriosis Outbreak. http://epe.lac-bac.gc.ca/100/206/301/aafc-aac/listeriosis_review/2012-06_28/ www. inspection. gc.ca/English /fssa/transp /prog /finale.shtml (Consulté septembre 2017).
- Thomas, M. K., S. E. Majowicz, F. Pollari, et P. N. Sockett. 2008. Burden of acute gastrointestinal illness in Canada, 1999-2007: Interim summary of NSAGI activities. *Canada Communicable Disease Report*, 34: 8-13.
- Thomas, M. K., R. Murray, L. Flockhart, K. Pintar, F. Pollari, A. Fazil, A. Nesbitt, et B. Marshall. 2013. Estimates of the Burden of Foodborne Illness in Canada for 30 Specified Pathogens and Unspecified Agents, Circa 2006, *Foodborne Pathog. Dis.* 10: 639-648.
- Todd, E. C. D. 2003. Microbiological safety standards and public health goals to reduce foodborne disease. *Meat Sci.* 66: 33-43.
- Trocino, A., G. Xiccato, L. Carraro, et G. Jimenez. 2005. Effect of diet supplementation with Toyocerin (*Bacillus cereus* var *toyoi*) on performance and health of growing rabbits. *World Rabbit Sci.* 13: 17-28.
- Tsao, R. 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients* 2 : 1231-1246.
- Tsigarida, E., P. Skandamis, et G. J. E. Nychas. 2000. Behaviour of *Listeria monocytogenes* and autochthonous flora on meat stored under aerobic, vacuum and modified atmosphere packaging conditions with or without the presence of oregano essential oil at 5°C. *J. Appl. Microbiol.* 89: 901-909.
- Vaara, M. 1992. Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol. Rev.* 56:395-411.
- Valerga, J., R. Shorthose, et M. Lanari. 2013. Antioxidant activity of yerba mate extracts: Interactions between the individual polyphenols. *Eur. J. Lipid Sci. Techn.* 115: 513-525.
- Vamanu, E., et A. Vamanu. 2010. Viability of the *Lactobacillus rhamnosus* IL1 strain in simulated gastrointestinal conditions. *J. Pharmacol.* 6:732-737.
- Van De Venter. T. 2000. Emerging food-borne diseases: a global responsibility. <http://www.fao.org/3/a-x7133m/x7133m01.pdf> (Consulté Novembre 2016.)

- Vanier, P. 2007. Poulet. https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=poulet_nu (Consulté Novembre 2017).
- Velasco, V., et P. Williams. 2011. Improving meat quality through natural antioxidant. *Chil. J. Agr. Res.* 71: 313-322.
- Vendreuve, J.L. 2006. Pévention de la formation de composés neoformes dans la viande cuite et les produits à base de viande en fonction de leur mode de préparation ou de fabrication. 11èmes JSMTV : 61-74.
- Vergara, H., M. I. Berruga, et M. B. Linares. 2005. Effect of gas composition on rabbit meat quality in modified atmosphere packaging. *J. Sci. Food Agric.*, 85: 1981-1986.
- Vermeiren, L., F. Devlieghere , et J. Debevere. 2004. Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *Int. J. Food Microbiol.* 96:149-164.
- Viuda-Martos, M., Y. Ruiz-Navajas, J. Fernandez-Lopez, et J. A. PerezAlvarez. 2010. Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf-life of mortadella. *Meat Sci.*, 85: 568-576.
- Waterhouse, A. L. 2003. Determination of Total Phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. I: I1: I1.1.
- WHO. 2015. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases. http://www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/ferg/en/ (Consulté Décembre 2016.)
- Williams, P. 2007. Nutritional composition of red meat. *Nutr. Diet.* 64: S113-S119.
- Wood, J. D., R.I. Richardson, G.R. Nute, A.V. Fisher, M.M. Campo, E. Kasapidou, P.R. Sheard, et M. Enser. 2004. Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.* 66: 21-32.
- Worobo, R. J. 1997. Ground beef quality and extended storage life. A thesis submitted to the faculty of graduate studies and research in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Food Microbiology, Edmonton, University Alberta. http://www.collectionscanada.gc.ca/obj/s4/f2/dsk2/ftp04/mq21_225.pdf

- Xiaolu, L., H. Yan, L. Lv, Q. Xu, C. Yin, K. Zhang, P. Wang, et J. Hu. 2012. Growth Performance and Meat Quality of Broiler Chickens Supplemented with *Bacillus licheniformis* in Drinking Water. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 25: 682-689.
- Xiong, Y. L. 2000. Protein oxidation and implications for muscle food quality. In E. A. Decker, C. Faustman, & C. J. Lopez-Bote (Eds.), *Antioxidants in muscle foods* (pp. 85-111). New York: Wiley.
- Xu, J., F. Zhou, B.P. Ji, R.S. Pei, et N. Xu. 2008. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. *Lett. Appl. Microbiol.* 47:174-179.
- Yang, J., K. J. Meyers, J. Van Der Heid, et R.H. Liu. 2004. Varietal differences in phenolic content and antioxidant and antiproliferative activities of onions. *J. Agric. Food. Chem.* 52: 6787-93.
- Yirga, H. 2015. The Use of Probiotics in Animal Nutrition. *J. Prob. Health* 3:132.
- Zaika, L. L. 1998. Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination. *J. Food Saf.* 9: 97-118.
- Zhang, H., J. Wu, et X. Guo. 2016. Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw. *Food Sci. Hum. Well.* 5: 39-48.
- Zheng, W., et S.Y. Wang. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.* 49: 5165-70.

Annexe

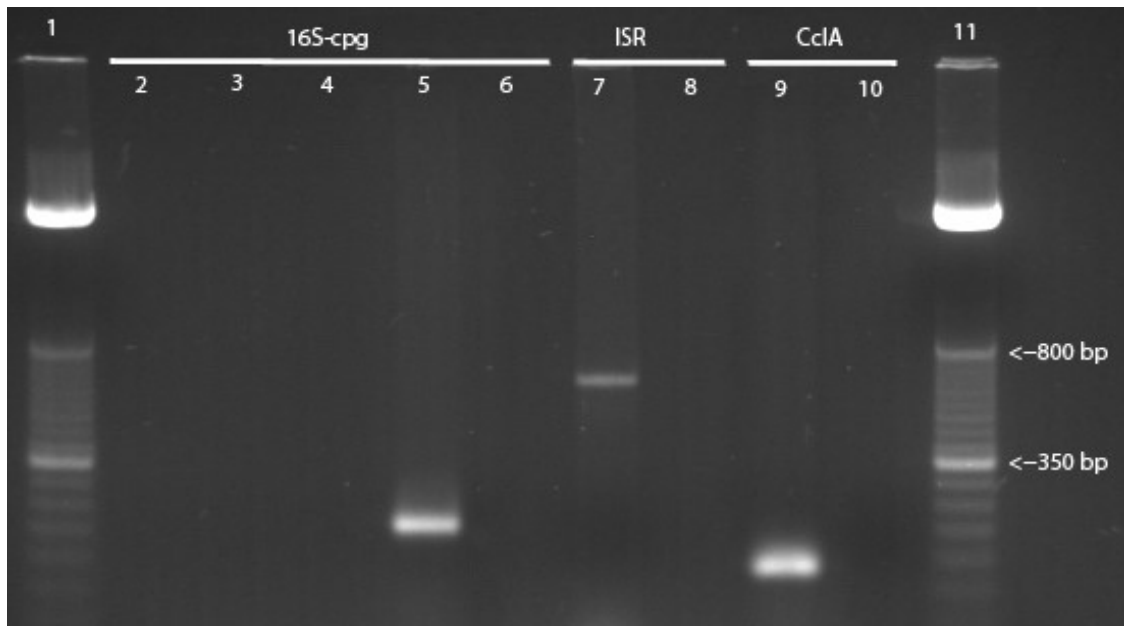


Figure A-0.1. Detection of *C. maltaromaticum* producing carnocyclin A using PCR analysis of three specific genes, namely 16S, ISR and carnocyclin A. Lane 1 et 11 molecular weight markers; lane 2, 3 and 4 negative controls, *L. innocua*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, respectively; lane 6, 8 and 10 no DNA with each primer, respectively; lane 5 *C. maltaromaticum* CB1/UAL307 with 16S, lane 7 with ISR and lane 9 with carnocyclin A.