

Maîtriser les micro-organismes dans la filière viande :

Approche technologique et méthodes d'évaluation

Georges DAUBE et Antoine CLINQUART

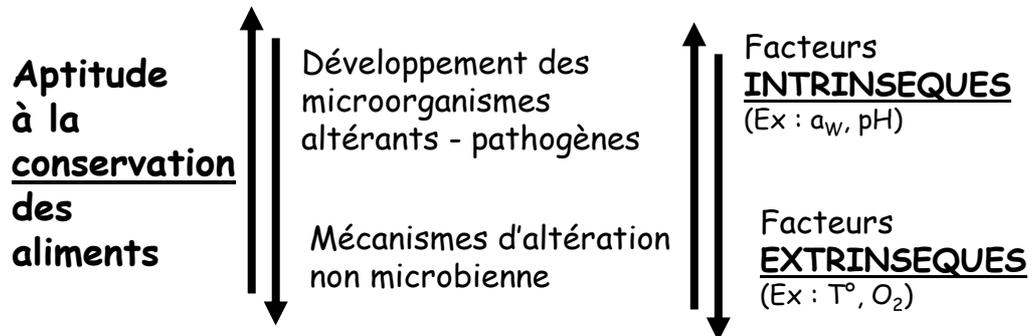


Université de Liège
Faculté de Médecine Vétérinaire
Dépt Sciences des Denrées Alimentaires
(sections Microbiologie et Technologie)

Plan de l'exposé

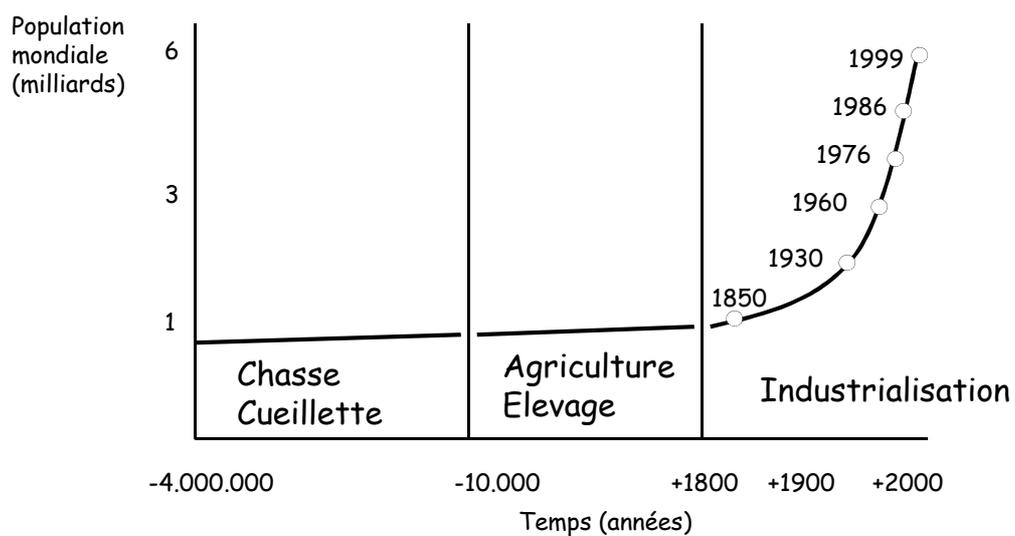
- Introduction
- Technologies de conservation
- Conception de technologies de conservation (microbiologie prédictive)
- Méthodes de validation et d'évaluation des risques
- Conclusions

Introduction



ULg-FMV-DAOA

Introduction



D'après C.J.K. Henry (1997)

ULg-FMV-DAOA

Demande actuelle :

*« produits frais ou peu modifiés
par le processus de traitement
et de transformation »*

=> développement des
traitements non thermiques

ULg-FMV-DAOA

Technologies de conservation

1. ' Anciennes '
2. ' Modernes '
3. ' Futures '

ULg-FMV-DAOA

1. Techniques 'Anciennes'

Séchage	soleil, four, séchoir
Fumaison	à froid, à chaud
Cuisson	sèche, humide, gras
Salage	sauvage, à sec
Acidification	marinade, fermentation
(Froid)	froid positif, froid négatif

ULg-FMV-DAOA

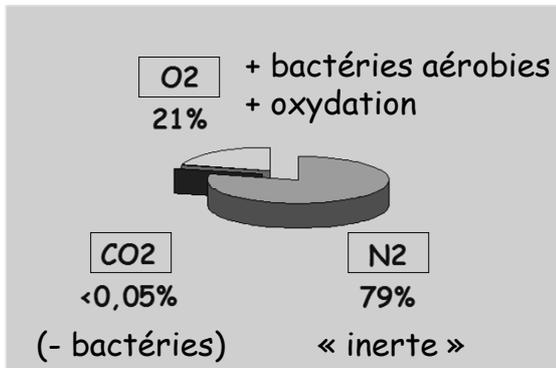
2. Techniques 'Modernes' + futures (à court terme)

Combinaisons	
Froid	réfrigération, congélation, surgélation
Chaleur	pasteurisation, stérilisation, UHT, cuisson sous vide, M.O.
Dessiccation	séchage, sel, sucre
Gaz	sous vide sous atmosphère modifiée
Rad. ionisantes	rayons γ , rayons X, électrons

ULg-FMV-DAOA

Modification de l'environnement gazeux

Air atmosphérique



Sous vide

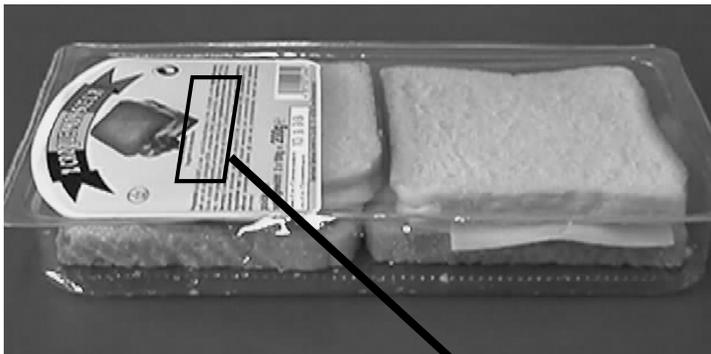
Évacuation
des gaz

Sous atmosphère modifiée

Évacuation
Réinjection
de gaz

ULg-FMV-DAOA

Conditionnement sous ATMOSPHERE MODIFIEE



Source: TDA

entatie
ésentation

Croque Monsieur ± 3 min - à la poêle ± 4 min. **Ingrédients**
ervateur (E250), stabilisant (E450c). **Ingrédients fromage:**
nitrate de sodium. **Ingrédients pain de froment:** farine de
, émulsifiant. Conditionné sous atmosphère protectrice.

ULg-FMV-DAOA

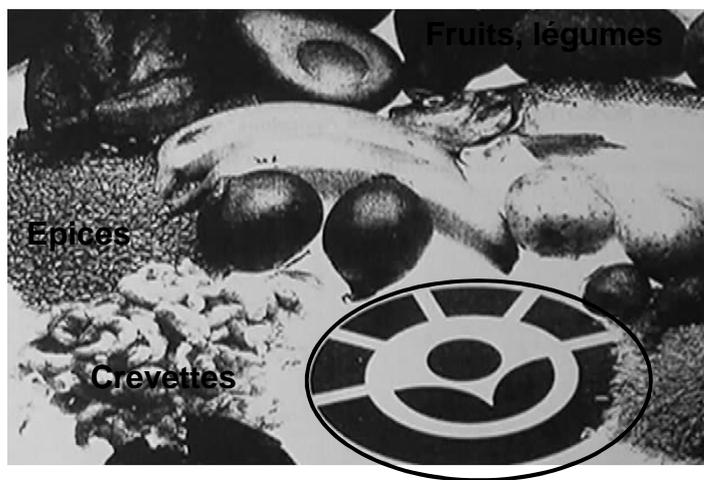


Source: ATCO

Absorbeurs d'oxygène

ULg-FMV-DAOA

Radiations ionisantes : rayons γ



ULg-FMV-DAOA

3. Techniques 'Futures' (à long terme)

Quelques pistes :

Champs électriques pulsés

Ultra hautes pressions

Propriétés antimicrobiennes ou antioxydantes

* ???

ULg-FMV-DAOA

Effets des ultra hautes pressions

(1.000 à 10.000 bars)

- Altération de la structure des membranes
- Altération de la structure du noyau
- Inactivation des systèmes enzymatiques
- ...

Influence de la température ...

ULg-FMV-DAOA

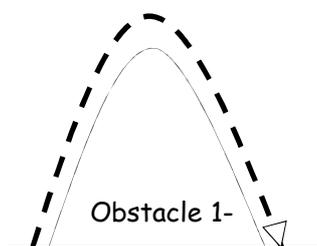
Composés présentant des propriétés antimicrobiennes ou antioxydatives

Quelques exemples :

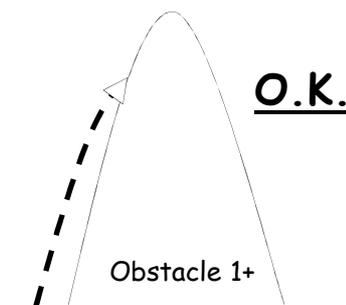
- Additifs (vit. E, ...)
- Enzymes (lactoperoxydase, lysozyme, ...)
- Bactériocines (nisine, ...)
- Microorganismes = cultures protectives

ULg-FMV-DAOA

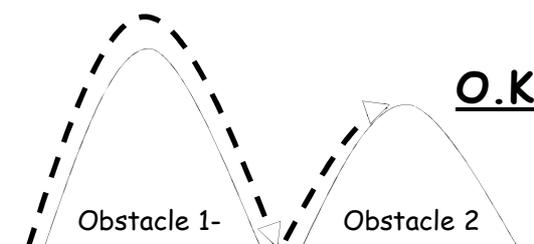
Concept des
« **OBSTACLES** »
(« Hurdle technology » concept)



Danger !



O.K.



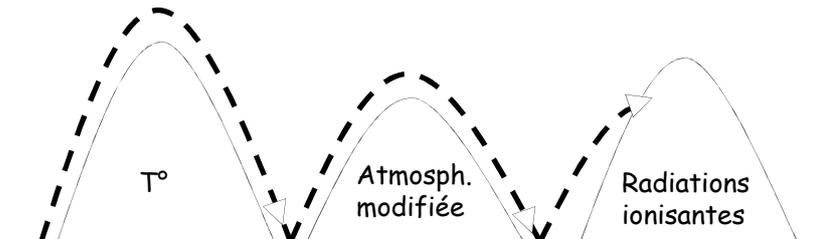
O.K.

D'après L. Leistner (1995)

ULg-FMV-DAOA

Technologie des « obstacles »

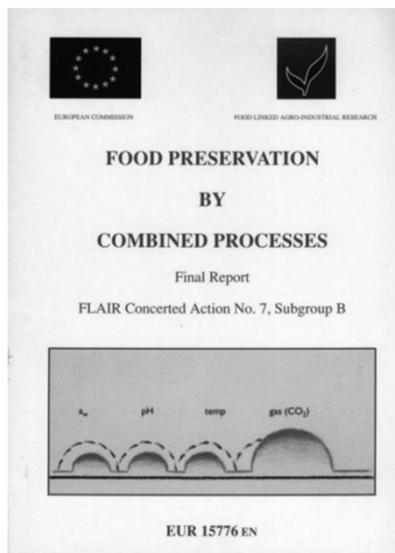
Exemple :



ULg-FMV-DAOA

Références

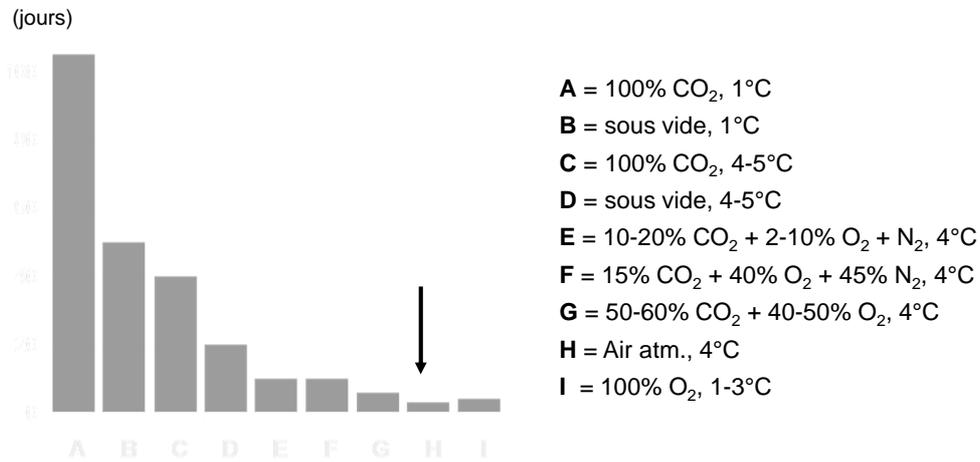
- Combined processes (FLAIR 1990-1994)



- Minimally processed foods (FAIR 1996-1999)

ULg-FMV-DAOA

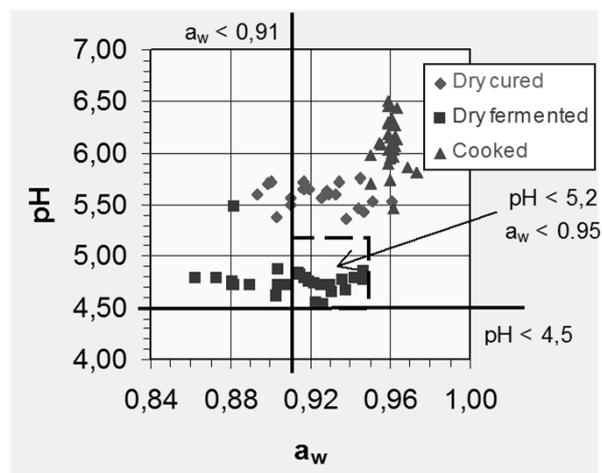
Exemple 1. Durée de conservation de viandes de bœuf
 sous différentes compositions de gaz et différents niveaux de températures



U. Röner (1995)

ULg-FMV-DAOA

Exemple 2. Effets de caractéristiques physico-chimiques intrinsèques
 (a_w , pH) sur la conservation de produits à base de viande



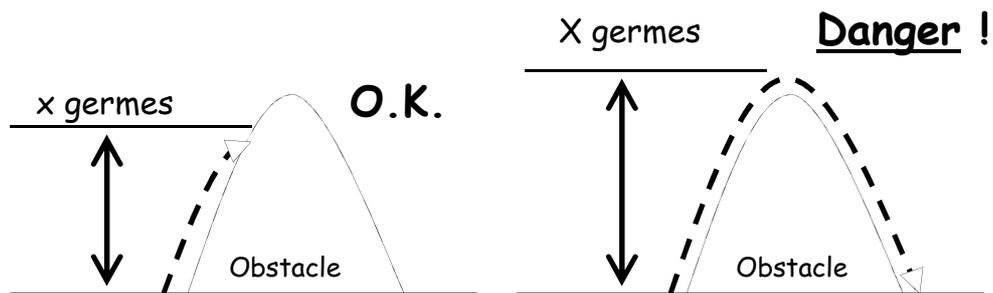
A. Clinquant et al. (1998)

ULg-FMV-DAOA

Attention !

l'amélioration de la conservation des aliments
ne repose pas que sur les techniques de conservation

Ex. : le nombre initial de microorganismes



ULg-FMV-DAOA

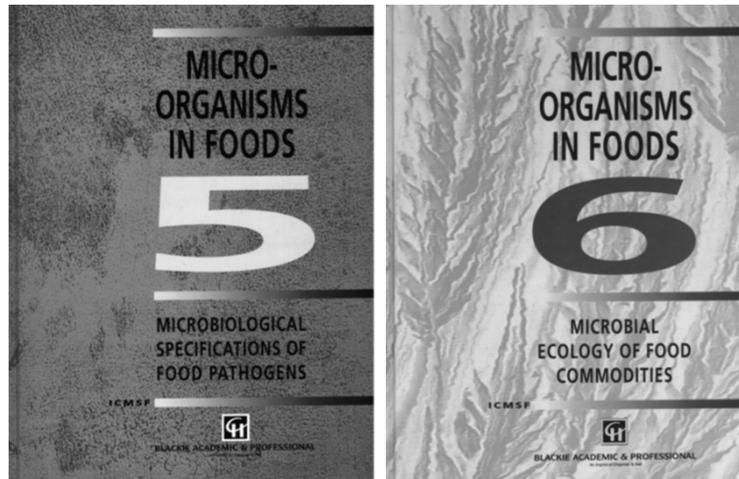
Conception de technologies de conservation

- Approche empirique basée sur l'expérience avec « essais et erreurs »
- Approche moderne, scientifique
 - Littérature scientifique (ICMSF 5 et 6)
 - Microbiologie prédictive (Food MicroModel, Pathogen Modeling Program)
 - Adaptations et mesures des paramètres chimiques et physico-chimiques

ULg-FMV-DAOA

Conception de technologies de conservation

- ICMSF



ULg-FMV-DAOA

Conception de technologies de conservation

- Food MicroModel
- USDA Pathogen Modeling Program (PMP)

Individual Growth Parameters

File Microorganism Help

Microorganism: *Listeria monocytogenes*

Culture Conditions

Aerobic Anaerobic

Temperature (deg. C): 28,0
Min = 4,0 Max = 37,0

pH: 6,5
Min = 4,5 Max = 7,5

Water Activity: 0,997
Min = 0,928 Max = 0,997

Sodium Nitrite (mg/kg): 0
Min = 0 Max = 150

Growth Parameters

	Hours	Days
Lag Phase Duration	2,8	0,12
Lower Confidence Limit :	2,5	0,10
Upper Confidence Limit :	3,1	0,13
Generation Time	0,5	0,02
Lower Confidence Limit :	0,4	0,02
Upper Confidence Limit :	0,5	0,02
Time to Level of Concern	7,4	0,31
Lower Confidence Limit :	6,8	0,28
Upper Confidence Limit :	8,1	0,34

Population (log(CFU/gm))

Initial Level : 3,0 Level of Concern : 6,0

deg. F 82,4

Time Scale

Hours Days

www.arserrc.gov/mfs/pathogen.htm

ULg-FMV-DAOA

Approche empirique basée sur l'expérience avec « essais et erreurs »

- **Adaptation du procédé**
 - Recette
 - Conditionnement
 - Conditions de conservation (temps, température)
- **Essais organoleptiques**

ULg-FMV-DAOA

Approche moderne, scientifique

- **1. Connaissance du produit fini**
 - Composition (analyses, tables)
 - Flores altérante, pathogène ou technologique attendues (analyses, ICMSF 6)
 - Paramètres physico-chimiques (analyses, mesures)
- **Tenir compte de l'hétérogénéité des produits, de l'utilisation attendue, de la maîtrise attendue de la chaîne du froid**

ULg-FMV-DAOA

Approche moderne, scientifique

- 2. Estimer les évolutions microbiologiques potentielles en fonction des alternatives de conservation
 - Germes altérants
 - Germes pathogènes (ICMSF 5, Microbiologie prédictive)
- 3. Choisir les conditions les plus adaptées aux impératifs commerciaux donnant des garanties suffisantes (marges de sécurité)

ULg-FMV-DAOA

Approche moderne, scientifique

- Exemple 3: Conservation à température ambiante d'un produit cuit séché (Lard braisé)
 - Caractéristiques: $a_w = 0,948$, pH 5,9, nitrites 150 mg/kg
 - Fabrication: cuisson 78°C 30 minutes à coeur, refroidissement à 8°C en 30 minutes, conditionnement sous vide
- Analyses JO : GT 6300 - Lact. 6300 - Entéro. <100 - Lev.Mois. <100
- Analyses J21: GT 10⁶ - Lact. 10⁶ - Entéro. <100 - Lev.Mois. <100
- Problèmes potentiels: sporulés ou recontamination post cuisson
- USDA PMP: pas de croissance possible de *Clostridium* ou *Salmonella*
 - *Listeria monocytogenes*: de 1 à 100 cfu en 4 jours
 - *Staphylococcus aureus*: de 10² à 10⁵ cfu en 3 jours
- Conclusion : Produit non stable à température ambiante et influence de la flore de compétition à évaluer par un « challenge-test »

ULg-FMV-DAOA

Validation microbiologique

- Études de validation de la Date Limite de Consommation et des conditions de conservation
 - Norme AFNOR XP V 01-003
- Évaluation des risques potentiels
 - Épreuve d'étuvage
 - « Challenge-test » pour les pathogènes

ULg-FMV-DAOA

Validation microbiologique



- Exemple 4 : Évaluation de la DLC d'un plat préparé (XP V 01-003)
 - **Caractéristiques**: Plat préparé exotique à base de viande de poulet
 - **Fabrication**: cuisson séparées des ingrédients, assemblage vers 60°C, fermeture des barquettes par film imperméable aux gaz avec absorbeur d'oxygène, DLC souhaitée 21 jours, T° de conservation 0-4°C
- **Conservation**: 7 jours à 4°C et 14 jours à 8°C
- **Analyses (cfu/g)** :

	GT aérobies	GT anaérobies	Entérobactéries
- J0 :	20	30	< 10
- J7:	30	50	< 10
- J14:	1,5 10 ⁴	3 10 ³	< 10
- J21:	1,5 10 ⁷	3 10 ⁷	3 10 ⁴

 - + *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* (sous le seuil de détection)

ULg-FMV-DAOA

Validation microbiologique



- Exemple 4 : Évaluation de la DLC d'un plat préparé (XP V 01-003)
- Étuvage: 18 heures à 37°C
- Analyses (cfu/g) :

<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Bacillus cereus</i>	Entérobactéries
• 7 10 ⁷	4 10 ⁵	3 10 ⁴
- Conclusion :
 - non maîtrise de la recette
 - DLC non adaptée

ULg-FMV-DAOA

Validation microbiologique



- Exemple 4 : Évaluation de la DLC d'un plat préparé (XP V 01-003)
 - Modification: assemblage à 65°C, modification de la recette (champignons chinois, pH de la sauce)
- Conservation: 7 jours à 4°C et 14 jours à 8°C
- Analyses (cfu/g) :

	GT aérobies	GT anaérobies	Entérobactéries
- J0 :	< 10	< 10	< 10
- J7:	< 10	< 10	< 10
- J14:	20	30	< 10
- J21:	3 10 ³	1,5 10 ²	< 10

 - + *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* (sous le seuil de détection)

ULg-FMV-DAOA

Validation microbiologique



- Exemple 4 : Évaluation de la DLC d'un plat préparé (XP V 01-003)
- Étuvage: 18 heures à 37°C
- Analyses (cfu/g) :

	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Bacillus cereus</i>	Entérobactéries
•	< 100	< 100	< 100
- Conclusion :
 - Risques maîtrisés
 - DLC adaptée
 - Suivi de tous les lots de fabrication par analyse pour s'assurer de la maîtrise (GT aérobies, GT anaérobies, Entérobactéries)

ULg-FMV-DAOA

Validation microbiologique

- Exemple 5 : Évaluation du risque de *Listeria monocytogenes* dans un saucisson sec
 - Caractéristiques: Préparation d'une mûlée à partir de viande de porc contaminée par 100 cfu de *Listeria monocytogenes* par gramme dans les conditions habituelles de fabrication et conservation aux conditions préconisées par le fabricant (3 mois 0-8°C)
 - Étude: suivi de l'évolution du nombre de *Listeria monocytogenes* au cours du temps à 2°C et à 8°C ± 2°C
 - Analyses (cfu/g) :

	Dénombr.		Rech./25g		Rech./1g	
	2°C	8°C	2°C	8°C	2°C	8°C
- J0 :	200	200	+	+	+	+
- J30:	160	50	+	+	+	+
- J60:	< 10	< 10	+	+	+	-
- J90:	< 10	< 10	+	-	-	-

ULg-FMV-DAOA

Validation microbiologique

- Exemple 5 : Évaluation du risque de *Listeria monocytogenes* dans un saucisson sec

Analyses (cfu/g) 2°C:	Dénombr.	Rech./25g	Rech./1g
- J0 :	200	+	+
- J30:	160	+	+
- J60:	< 10	+	+
- J90:	< 10	+	-

- Conclusion :

- Bonne maîtrise des *Listeria monocytogenes* par la fermentation
- Contrôle constant des matières premières, de l'hygiène et du procédé
- Contrôle du niveau de contamination en sortie de production
 - (critère « absence de *Listeria monocytogenes* par gramme »)

ULg-FMV-DAOA

Validation microbiologique

- Projet de règlement européen concernant la maîtrise de *Listeria monocytogenes* dans certains produits prêts à la consommation
 - (SANCO/594/2000 Rev. 2)
- « catégorie critique de denrées alimentaires : les denrées alimentaires prêtes à consommer ... à l'exception des produits dont il peut être démontré par l'exploitant qu'ils ne favorisent pas le développement de *Listeria monocytogenes* pendant la période de durabilité minimale ... et ayant une durée de conservation minimale de plus d'une semaine»
- « les exploitants ... procèdent à l'évaluation du développement de *Listeria monocytogenes* ... afin de vérifier que la concentration n'excède pas 100 ufc par gramme au terme de la période de durabilité minimale »
- « La procédure d'évaluation est tenue à disposition de l'autorité compétente »
- « si présence dans des produits (dans 25 grammes) ... retire du marché ... à moins qu'il ne puisse démontrer ... que la concentration n'excédera pas 100 ufc par gramme au terme de la période de durabilité minimale»

ULg-FMV-DAOA

Conclusions

- De plus en plus d'outils sont à notre disposition pour concevoir des modes de conservation innovants
- Besoin d'une validation microbiologique préalable dans tous les cas
- Besoin de standardisation des méthodologies de validation avant d'inclure ces paramètres dans la législation
- Besoin d'un dialogue constant entre les microbiologistes et les technologistes
- Maîtrise et constance des procédés validée par des plans de surveillance impliquant des mesures physico-chimiques et microbiologiques (BPF, HACCP)