

# Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires

G. BORNERT

Service Central d'Études et de Réalisations du Commissariat de l'Armée de Terre, B.P. 309, 00447 Armées

## RÉSUMÉ

Les bactéries psychrotrophes sont définies par leur aptitude à se développer à des températures inférieures à +7°C. Agents de toxi-infections alimentaires ou d'altération de la qualité marchande des denrées, elles constituent un facteur limitant la conservation des produits réfrigérés. La maîtrise de ce type de flore passe principalement par une amélioration des performances des moyens frigorifiques, permettant de garantir une réfrigération des denrées entre 0°C et +2°C, ainsi que par une validation de la durée de vie des produits alimentaires sur la base d'études scientifiques adaptées.

**MOTS-CLÉS :** microbiologie - psychrotrophe - réfrigération - listériose.

## SUMMARY

**Importance of psychrotrophic bacteria in food hygiene. By G. BORNERT.**

Psychrotrophic bacteria are defined as able to grow when the temperature is lower than +7°C. Involved in food poisonings and responsible for alterations of the commercial quality of food-stuff, they make it necessary to limit the shelf life of chilled products. The control of this bacterial flora is possible by improving the efficiency of chilling equipments, in order to store food products at a temperature between 0°C and +2°C, and by a validation of shelf-life resulting from scientific experiments.

**KEY-WORDS :** microbiology - psychrotrophic - chilling - listeriosis.

## Introduction

La conservation des denrées alimentaires par l'emploi de la technique de la réfrigération connaît un important essor, notamment dans le domaine des plats cuisinés, au détriment des procédés de congélation et surtout d'appertisation. L'intérêt de la réfrigération est de ne pas induire de modification organoleptique des produits alimentaires, alors que les autres procédés physiques ne conservent pas toujours aux denrées un aspect de produits frais.

L'amélioration constante des performances techniques des moyens frigorifiques de transport et d'entreposage, ainsi que la mise au point de techniques nouvelles d'élaboration et de conditionnement des produits ont favorisé la commercialisation de produits réfrigérés dont la durée de conservation peut atteindre plusieurs semaines voire plusieurs mois.

Cette évolution technologique fait actuellement l'objet d'une large remise en cause. La recherche d'une conservation très prolongée des produits contribue à réaliser la sélection de flores microbiennes spécifiques, qualifiées de psychrotrophes, dont la plus médiatisée, *Listeria monocytogenes*, est au centre des préoccupations des responsables de la santé publique.

## 1. Définition, caractéristiques et classification des bactéries psychrotrophes

Les bactéries psychrotrophes sont définies sur la base de leurs caractéristiques spécifiques en matière de thermosensibilité.

## A) DÉFINITION DES BACTÉRIES PSYCHROTROPES

L'activité bactérienne obéit aux lois de la thermodynamique, en particulier pour ce qui concerne la cinétique des réactions enzymatiques. Chaque souche bactérienne est structurellement adaptée à une gamme de températures donnée : ces températures sont qualifiées d'eugénésiques.

La relation entre la température et la vitesse de croissance d'une souche bactérienne peut être décrite par l'équation d'Arrhénius ou celle de Ratkowsky, largement utilisées dans le domaine de la microbiologie prévisionnelle [17]. La vitesse de croissance est maximale pour une valeur de la température qualifiée de température optimale de croissance. De part et d'autre de cet optimum, l'activité métabolique ralentit, jusqu'à être totalement inhibée au delà des températures minimale et maximale de croissance.

Il est possible de classer les bactéries en différents groupes, selon la valeur de la température optimale de croissance. On distingue ainsi les bactéries thermophiles, mésophiles et psychrophiles. Cette classification fait cependant l'objet de controverses et les valeurs présentées au tableau I diffèrent selon les auteurs [1, 5, 9, 14].

	Thermophiles	Mésophiles	Psychrophiles
Valeurs entre lesquelles se situe la température optimale de croissance du micro-organisme considéré	+40°C et +55°C	+20°C et +40°C	+5°C et +20°C

TABLEAU I. — Classification des micro-organismes selon leur température optimale de croissance [1, 5, 9, 14].

Indépendamment de ces considérations relatives à la température optimale de croissance, il est d'usage de qualifier de psychrotrophes les micro-organismes qui conservent une activité notable à des températures inférieures ou égales à +7°C [5, 20].

Selon cette définition, les bactéries psychrophiles appartiennent aussi au groupe des psychrotrophes, mais en pratique les principales bactéries psychrotrophes d'intérêt alimentaire sont mésophiles.

Il faut noter que le monde des micro-organismes psychrotrophes ne se limite pas aux seules bactéries. On rencontre aussi un nombre très important d'espèces de micromycètes, agents de l'altération au froid des denrées alimentaires.

## B) BASES MÉTABOLIQUES

A des températures proches de 0°C, les micro-organismes subissent des désordres métaboliques et des lésions cellulaires pouvant être importants. Cet état physiologique de "stress froid" [8] est principalement la conséquence d'une fra-

gilisation des liaisons hydrophobes, induite par la réfrigération. Il en résulte une perte de fonctionnalité des protéines enzymatiques, par modification de leur conformation dans l'espace. La structure quaternaire est profondément modifiée, avec une dissociation des complexes polymériques. L'assemblage des ribosomes est inhibé, ce qui provoque une diminution des synthèses protéiques. La fluidité des membranes est réduite et l'ensemble des fonctions membranaires telles que le transport des ions ou des nutriments s'en trouve affecté [12].

Les bactéries psychrotrophes possèdent une relative capacité de résistance au «stress froid», mettant en jeu des mécanismes dont les principaux sont la synthèse d'enzymes adaptées à fonctionner à basse température, l'adaptation de la composition des membranes en acides gras insaturés et la synthèse de protéines «de choc thermique» [7, 12].

Chez *Escherichia coli*, les deux représentants principaux de la famille des protéines «de choc thermique» sont GroEL et DnaK, très proches des protéines HSP 60 et HSP 70 des cellules eucaryotes [12]. Leur synthèse est fortement stimulée lors de stress thermique : la teneur en protéines de choc thermique peut représenter 10 % du total des protéines dans une cellule stressée. Le principal rôle connu de ces molécules est celui de «chaperon» : elles se fixent sur les protéines dénaturées, protégeant les sites hydrophobes, et les aident à retrouver une structure tertiaire normale. Certaines ont aussi une activité protéasique.

## C) PRINCIPALES BACTÉRIES PSYCHROTROPES

Il est possible de classer les bactéries psychrotrophes en deux groupes, en fonction de leurs effets : les agents de toxico-infections alimentaires et les agents d'altérations des aliments.

### a) Agents de toxico-infections alimentaires

En se basant sur les statistiques actuellement disponibles concernant la fréquence de la contamination des produits alimentaires [16] et compte-tenu de l'actualité récente [6], il faut retenir la place prépondérante de *Listeria monocytogenes* en tant que bactérie psychrotrophe pathogène pour l'homme.

Les espèces *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus* et *Clostridium botulinum* de type E sont impliquées de façon beaucoup plus rare, en Europe, dans des accidents d'origine alimentaire.

D'autres bactéries présentent un intérêt pratique mineur, en particulier *Aeromonas hydrophila* et *Plesiomonas shigelloides*. Enfin, il faut noter que certaines souches de *Salmonella* et de *Escherichia coli* sont susceptibles de se développer entre +5°C et +7°C, mais que ces souches restent atypiques de sorte que ces micro-organismes ne sont pas considérés parmi les psychrotrophes [5].

### b) Agents d'altérations des aliments

Les bactéries psychrotrophes agents d'altérations des aliments sont beaucoup plus nombreuses et variées, mais la famille des *Pseudomonadaceae* est souvent la plus représentée. Elle regroupe des bacilles à Gram négatif, droits ou incurvés, mobiles par ciliature polaire et aérobies stricts [2]. Le genre *Pseudomonas* possède la meilleure capacité de

développement au froid et présente une activité significative jusqu'à une température de +2°C [11]. Les genres *Shewanella*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Alteromonas* et *Flavobacterium* sont aussi fréquemment rencontrés dans les denrées alimentaires.

Les entérobactéries psychrotrophes appartiennent principalement aux genres *Enterobacter*, *Serratia* et *Hafnia*. Ce sont des bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs. On peut citer les espèces *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens* et *Hafnia alvei*. Certaines souches présentent une température minimale de croissance inférieure à 0°C [5].

Les bactéries lactiques sont largement représentées au sein du groupe des psychrotrophes. Ce sont des bacilles ou des cocci à Gram positif, non sporulés, dépourvus de catalase, produisant de l'acide lactique selon un métabolisme homo- ou hétéro-fermentaire. Les lactobacilles présentent une activité jusqu'à une température de +2°C. On rencontre aussi des bactéries des genres *Carnobacterium*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* et *Pediococcus* [10].

Parmi les autres bactéries psychrotrophes d'intérêt dans le domaine alimentaire, il faut citer les genres *Micrococcus* et *Staphylococcus*, certains *Bacillus* et *Clostridium* ainsi que les bactéries corynéformes, en particulier l'espèce *Brochothrix thermosphacta*.

## D) CARACTÉRISTIQUES PHYSIOLOGIQUES DES BACTÉRIES PSYCHROTROPES

### a) Courbe de croissance

Les bactéries mésophiles psychrotrophes présentent, aux températures de réfrigération, une courbe de croissance caractérisée par une phase de latence longue, pouvant durer plusieurs jours, et par une pente très faible au cours de la phase de croissance exponentielle, témoignant d'un allongement important du temps de génération. Plus la température est proche de la température limite inférieure de croissance et plus la multiplication est lente.

Des écarts très faibles de température peuvent avoir une incidence notable sur l'activité de la flore psychrotrophe. Ainsi, si une température de +2°C exerce un effet inhibiteur très net, une activité bactérienne très significative peut être constatée dès +4°C. Il faut aussi noter que les différentes capacités métaboliques ne subissent pas toutes une inhibition identique. Ainsi, à +4°C, les *Pseudomonas* ont une croissance lente mais présentent une importante activité de synthèse d'enzymes qui réalisent l'hydrolyse du substrat alimentaire [4].

### b) Sensibilité à la chaleur

Les bactéries psychrotrophes présentent une sensibilité particulière au stress «chaud», caractérisée en particulier par une température maximale de croissance inférieure à +45°C et une température létale inférieure à +50°C. On peut ainsi citer les températures limites de croissance suivantes : +35°C pour *Acinetobacter*, +40°C pour *Alcaligenes*, +43°C pour *Pseudomonas* et +45°C pour *Listeria monocytogenes* [13].

### c) Autres caractéristiques importantes

En ce qui concerne l'influence du pH, il faut noter que la plupart des bactéries psychrotrophes sont neutrophiles. Seules font exception à cette règle les bactéries lactiques et *Listeria monocytogenes* qui tolèrent des pH acides jusqu'à une valeur limite de 5 [13].

Le genre *Pseudomonas* est très exigeant en eau libre et ne se développe bien que pour des valeurs d'activité de l'eau (Aw) supérieures à 0,98 [4]. Au contraire, *Listeria monocytogenes* résiste à des conditions hostiles. Elle tolère jusqu'à 10 % de chlorure de sodium [13] et son Aw limite de croissance est de 0,86.

Il faut enfin retenir la forte production de bactériocines par les lactobacilles, qui intervient dans les phénomènes de compétitions bactériennes.

## 2. Importance pratique des bactéries psychrotrophes

### A) LES BACTÉRIES PSYCHROTROPES AGENTS DE TOXI-INFECTIIONS ALIMENTAIRES

Parmi les maladies d'origine alimentaire dues à des bactéries psychrotrophes, la listériose constitue actuellement la principale menace pour la santé publique.

#### a) La listériose

Si *Listeria seeligeri* et *Listeria ivanovii* ont été incriminées de façon exceptionnelle dans des cas d'infection humaine, c'est l'espèce *Listeria monocytogenes* qui présente un pouvoir pathogène significatif chez l'homme et l'animal.

La listériose est une infection atypique, que l'homme contracte principalement par voie alimentaire. C'est une maladie rare, dont on décrit environ 300 cas chaque année en France [6], mais grave puisque la létalité peut atteindre jusqu'à 30 %. Elle évolue généralement sous forme de cas sporadiques mais plusieurs épidémies ont été décrites [13, 18].

Les formes cliniques de listériose sont observées dans 80 % des cas chez des individus présentant une déficience de l'immunité à médiation cellulaire : nouveau-né, vieillard, femme enceinte ou personnes atteintes de maladies immunosuppressives.

Bactérie pathogène opportuniste, *Listeria monocytogenes* est l'agent, chez ces personnes «à risque», de septicémies, méningites, encéphalites et endocardites. Des séquelles neurologiques sont possibles. Chez la femme enceinte, l'avortement est fréquent.

*Listeria monocytogenes* est présente dans l'environnement. On considère que son biotope naturel est le sol, où elle se développe en saprophyte sur des végétaux en décomposition. Elle est principalement rencontrée dans les aliments végétaux crus et les produits à base de lait cru, mais tous les types de denrées peuvent être contaminés comme en témoignent les épidémies récentes dues à des produits de charcuterie.

### b) Les toxi-infections alimentaires dues à *Yersinia enterocolitica*

Les toxi-infections alimentaires dues à *Yersinia enterocolitica* sont rares en France, mais sont décrites de façon beaucoup plus fréquente dans certains pays d'Europe du Nord.

*Yersinia enterocolitica* est une bactérie à pouvoir entéro-invasif, agent de gastro-entérites fébriles. Les principales souches pathogènes appartiennent aux biotypes 2, séro-groupe 0:9, et 4, séro-groupe 0:3 [4].

Si la présence de *Yersinia enterocolitica* est fréquemment détectée sur de nombreux produits alimentaires, en particulier les végétaux, les souches présentant des attributs de pathogénicité sont essentiellement rencontrées chez le porc, au niveau du tube digestif et de certains tissus tels que les amygdales. Les principaux aliments incriminés lors de toxi-infection sont, de ce fait, les viandes de porc lorsqu'elles sont consommées crues ou peu cuites. Les produits laitiers ont aussi été mis en cause dans certains cas.

### c) Les toxi-infections alimentaires dues à *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* est un bacille à Gram positif, sporulé, aéro-anaérobie facultatif, bactérie tellurique contaminant fréquemment les végétaux. Il possède deux types de toxines impliquées dans des accidents d'origine alimentaire : des toxines diarrhéogènes et une toxine émétisante.

Les toxines diarrhéogènes, thermolabiles, sont libérées dans l'intestin grêle lors de la sporulation de la bactérie. Elles provoquent une diarrhée aqueuse, parfois associée à des vomissements.

La toxine émétisante, préformée dans les aliments et thermorésistante, provoque des vomissements, incoercibles et répétés, accompagnés de nausées, de céphalées, de douleurs abdominales, d'hypotension et parfois de diarrhée. La guérison survient généralement sous 24 heures [4].

Seules certaines souches de *Bacillus cereus* sont psychrotrophes et seraient capables de proliférer à +4°C et de produire des toxines à +6°C [5].

Le réservoir de cette bactérie est hydro-tellurique en raison de sa survie possible dans l'environnement sous forme de spore. Les principaux aliments à risque sont d'origine végétale, en particulier le riz et les épices.

*Bacillus cereus* est un contaminant potentiel de nombreux plats cuisinés. La cuisson ne suffit généralement pas à détruire les spores de cette bactérie, dont la germination et la croissance peuvent s'effectuer si le produit est entreposé au froid positif de façon prolongée.

### d) Le botulisme à *Clostridium botulinum* de type E

*Clostridium botulinum* de type E est une bactérie sporulée, anaérobie stricte, qui produit une neurotoxine dans les aliments jusqu'à des températures de +3,3°C. Les signes cliniques de botulisme apparaissent après une incubation de 2 à 24 heures, voire jusqu'à huit jours. Leur intensité varie selon la dose ingérée. Ils consistent en des paralysies oculaires, avec troubles de l'accommodation, mydriase et diplopie, une sécheresse de la bouche, des troubles de la déglutition et de l'élocution et, dans les formes graves,

une paralysie des muscles respiratoires pouvant entraîner la mort.

*Clostridium botulinum* de type E est essentiellement rencontré sous forme sporulée dans les sédiments marins et dans le tube digestif des poissons. Les principales denrées à risque sont donc les produits de la pêche et leurs dérivés, conditionnés sous vide [4].

### e) Principaux facteurs de risque

Il apparaît clairement que de très nombreuses familles de produits peuvent héberger des bactéries psychrotrophes pathogènes. Une conservation prolongée au froid positif assure l'inhibition des autres populations microbiennes et constitue une cause de danger en créant une "niche écologique" libre pour les flores psychrotrophes. Seules des températures très proches de 0°C permettent d'inhiber les agents pathogènes de façon satisfaisante.

La cuisson ou la pasteurisation des aliments n'assurent pas un assainissement vis-à-vis des bactéries sporulées. Par contre, *Yersinia enterocolitica* est très thermosensible.

En ce qui concerne *Listeria monocytogenes*, le temps de réduction décimale mesuré dans divers aliments varie de 1 à 36 secondes à 72°C [13], de sorte que si la pasteurisation est efficace, certains barèmes de cuisson des viandes, à température finale de +55°C à +58°C, peuvent ne garantir qu'un assainissement très limité. Le problème des recontaminations après traitement doit aussi être pris en compte. Il a été largement évoqué lors des récentes épidémies de listériose mettant en cause des rillettes et des langues de porc en gelée [6].

## B) INFLUENCE DES BACTÉRIES PSYCHROTROPHES SUR LA CONSERVATION DES DENRÉES

De nombreux types d'altérations des denrées dues à l'action de bactéries psychrotrophes ont été décrits. Ils sont le résultat de l'activité d'enzymes microbiennes exocellulaires et affectent, selon les cas, la consistance, la couleur, l'aspect, l'odeur et la saveur du produit.

### a) Protéolyse et lipolyse

La protéolyse conduit à la formation d'acides aminés libres puis de produits de leur décarboxylation ou de leur désamination. Les amines volatiles et l'ammoniac formés sont à l'origine d'odeurs et de saveurs désagréables et exceptionnellement d'une toxicité de l'aliment. Ce type de métabolisme est rencontré en particulier chez les bactéries des genres *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter* et *Flavobacterium*, mais aussi chez les *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Bacillus* et les entérobactéries.

A l'exception des lactobacilles, ces différentes bactéries se caractérisent aussi par une activité lipolytique importante. La lipolyse conduit à la libération d'acides gras libres. Elle modifie les propriétés technologiques et gustatives des graisses, avec apparition du goût de rance, et favorise le phénomène d'oxydation des acides gras insaturés en méthylcétones.

Si de nombreuses bactéries psychrotrophes sont très facilement détruites lors d'un traitement par la chaleur, les lipases

et surtout les protéases sont pour la plupart beaucoup plus thermorésistantes. Certaines résistent quelques dizaines de secondes à des températures de +140 à +150°C et ne seront donc pas détruites, par exemple, lors de la stérilisation du lait [15].

**b) Autres types d'altérations**

Parmi les autres types d'altérations, on peut aussi citer :

- les modifications de la consistance du produit, notamment par production d'exopolysaccharides à l'origine par exemple d'une consistance filante des laits décrite avec les genres *Micrococcus* et *Alcaligenes* ;
- les phénomènes d'acidification, par fermentation des sucres, activité caractéristique du groupe des bactéries lactiques, soit les genres *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* et *Lactococcus*. Lors de processus hétérofermentaire, la formation de gaz, d'aldéhydes et de cétones est à l'origine de modifications du goût et de l'odeur du produit.
- l'apparition de colorations, d'odeurs et de saveurs anormales, dont quelques exemples figurent dans le tableau II.

Produit concerné	Modification constatée	Agent
Lait	Coloration bleue	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Beurre	Couleur verte	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Toutes denrées	Amertume	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Enterococcus faecalis</i>
Toutes denrées	Goût fruité ("de fraise")	<i>Pseudomonas fragi</i>

Tableau II. — Exemples d'altérations des denrées par des bactéries psychrotrophes.

Au plan macroscopique, le type d'altération observé varie, d'un produit à un autre, en fonction de la nature et de l'importance de la contamination microbiologique initiale et des conditions écologiques offertes à cette flore, du fait de la composition de la denrée : activité de l'eau, nature des principaux constituants, pH, potentiel d'oxydoréduction...

De ce fait, certains produits alimentaires réfrigérés ne constituent pas, par nature, un substrat favorable à la croissance des bactéries psychrotrophes, en particulier les laits fermentés. Pour ces produits, les agents d'altérations seront alors non pas des bactéries mais des micromycètes beaucoup plus tolérants à des conditions extrêmes d'environnement telles que l'acidité des yaourts.

**C) EXEMPLE DES VIANDES**

Dans l'exemple des viandes de boucherie, une pièce de découpe primaire entreposée à une température inférieure à +7°C en atmosphère sèche présente une déshydratation

superficielle, ou croûtage, qui n'autorise que le développement de micro-organismes à la fois xérophiles et psychrotrophes. Les altérations microbiennes apparaissent donc tardivement et sont le fait de micromycètes, *Cladosporium*, *Sporotrichum* ou *Thamnidium*, plutôt que de bactéries [19].

En cas d'entreposage de ces mêmes viandes en atmosphère humide, le développement des bactéries du genre *Pseudomonas* ou de la famille des *Enterobacteriaceae* est favorisé.

Si la réfrigération est de bonne qualité, le genre *Pseudomonas*, à activité protéolytique et lipolytique, est à l'origine des principales altérations, en particulier les phénomènes de poissage et de limonage ainsi que les odeurs dites «de torchon sale». Les genres *Alcaligenes*, *Alteromonas*, *Acinetobacter* et *Flavobacterium* sont aussi des agents possibles de ce type d'altérations. Un développement fongique peut être observé.

Exposé à une rupture de la chaîne du froid, ce produit subit un autre type d'altération, la putréfaction verte, liée à une reprise d'activité de flores non psychrotrophes. Ce sont alors les entérobactéries, en particulier le genre *Proteus*, qui deviennent la flore dominante au détriment des *Pseudomonadaceae*.

La vitesse d'apparition et le type des altérations peuvent être aussi très largement influencés par les technologies utilisées, en particulier le mode de conditionnement de la denrée, qui constituent des moyens de maîtrise de l'activité de la flore psychrotrophe.

**3. Applications à la maîtrise de la qualité et de la salubrité des denrées réfrigérées**

Plusieurs types d'actions sont nécessaires à la maîtrise de la qualité et de la salubrité des denrées réfrigérées. Deux objectifs complémentaires sont à atteindre : minimiser le niveau de contamination initial et réaliser une inhibition aussi parfaite que possible de l'activité bactérienne.

**A) MAÎTRISE DES SOURCES DE CONTAMINATION**

Pour tous les produits, la contamination peut être prévenue par l'application des règles de bonnes pratiques hygiéniques. Il faut en particulier remarquer l'importance capitale des procédures de nettoyage et de désinfection [22] dans la prévention des contaminations par *Pseudomonas* et par *Listeria*. Ces bactéries ont en effet la capacité de coloniser les locaux froids et humides, tels que les ateliers de découpe de viandes et les chambres froides, notamment au niveau des incrustations de tartre [21].

Quoique absolument nécessaires, ces mesures ne permettent que de limiter la charge microbienne du produit sans garantir une réelle maîtrise des flores psychrotrophes.

Produit	Procédé
Salade prête à l'emploi ("de quatrième gamme")	Lavage et désinfection (Protocole usuel : trempage pendant 5 à 10 minutes dans une solution javellisée, à raison de 20 ml d'eau de Javel à 12° Chl dans 50 litres d'eau).
Viandes de volailles en carcasses	Douchage à l'aide d'une solution d'orthophosphate trisodique
Fruits frais	Traitement par les rayonnements ionisants (radurisation)
Toutes denrées	Traitements par la chaleur : thermisation, cuisson, pasteurisation, stérilisation

TABLEAU III. — Principaux procédés permettant un assainissement des denrées alimentaires vis-à-vis des flores psychrotrophes.

## B) ASSAINISSEMENT

La destruction précoce des bactéries psychrotrophes participe à la conservation ultérieure du produit. Elle peut être réalisée selon différentes méthodes, rappelées dans le tableau III.

Dans le cas de la cuisson ou de la pasteurisation, qui constituent les procédés les plus largement mis en oeuvre, il faut retenir que les protocoles utilisés ne permettent pas d'éliminer une partie de la flore végétative, en particulier la flore lactique du produit, ni les spores bactériennes. Seule la stérilisation assure une destruction ou une inhibition de la totalité de ces micro-organismes. Pour beaucoup de produits cuits, le conditionnement final s'effectue après l'étape de cuisson. Dans ce contexte technologique, l'effet favorable du traitement thermique en matière de conservation de la denrée ne peut être préservé qu'au prix de la mise en oeuvre de mesures spécifiques de prévention des "recontaminations" du produit lors des manipulations survenant après cuisson. C'est la raison pour laquelle des "salles blanches", spécialement conçues et équipées, existent dans de nombreux outils industriels agro-alimentaires, notamment au niveau des ateliers de tranchage et de conditionnement du jambon cuit.

Il faut aussi remarquer que, compte-tenu de la bonne thermorésistance des enzymes, il est utile d'appliquer le traitement assainissant le plus précocement possible, pour éviter la synthèse de quantités importantes de lipases et de protéases. On réalise par exemple la thermisation du lait à la ferme, immédiatement après la traite.

## C) RÈGLES DE RÉFRIGÉRATION

Malgré les limites évidentes de l'efficacité de la réfrigération pour assurer l'inhibition des bactéries psychrotrophes, il apparaît utile de veiller à respecter les règles dites du «trépied de Monvoisin», soit l'application précoce d'un froid intense

et continu. Plus la température de réfrigération est proche de 0°C et plus le temps de génération des bactéries psychrotrophes sera long. Cependant, à 0°C l'activité de certaines enzymes persiste et limite la conservation du produit. Pour assurer une inhibition totale de ces enzymes, il faudrait recourir à la congélation.

D'un point de vue pratique, il apparaît donc déterminant de disposer de moyens frigorifiques très performants à tous les stades de la chaîne de production et de distribution des produits réfrigérés, en particulier dans les organismes de restauration collective qui pratiquent la liaison froide. Des moyens de surveillance du respect de la chaîne du froid sont aussi indispensables, notamment des enregistreurs de température ou des intégrateurs temps-température.

Si la mise en place de tels moyens peut être envisagée dans un contexte de type industriel, les épidémies récentes de listériose ont été l'occasion de rappeler que les réfrigérateurs ménagers constituent très généralement un maillon faible de la chaîne du froid. Les températures constatées dans ce type d'enceintes frigorifiques sont rarement inférieures à +6°C voire +8°C, ce qui crée des conditions favorables à une croissance rapide des bactéries psychrotrophes. L'amélioration des performances techniques de ces matériels apparaît indispensable, de même que l'installation systématique de thermomètres permettant aux consommateurs de s'assurer du bon fonctionnement de leurs réfrigérateurs.

## D) EMPLOI DE CONDITIONNEMENTS PARTICULIERS

Le mode de conditionnement des denrées peut aussi modifier les conditions écologiques offertes aux bactéries et favoriser certaines populations bactériennes.

Associé à la réfrigération, le conditionnement sous vide des denrées alimentaires a pour but d'assurer l'inhibition des bactéries psychrotrophes aérobies strictes. Il s'établit alors une compétition entre des flores aéro-anaérobies

facultatifs, principalement entre des *Enterobacteriaceae* et des lactobacilles. La réfrigération des produits à +2°C a un effet inhibiteur plus intense vis-à-vis des entérobactéries. Les lactobacilles connaissent alors un développement préférentiel et complètent l'effet inhibiteur du froid sur les entérobactéries en réalisant une acidification lactique du produit ainsi que la production de bactériocines. Les altérations de ce type de denrée apparaissent tardivement et sont la conséquence de l'activité protéolytique des lactobacilles ou de flores sous-dominantes telles que *Brochothrix thermosphacta*.

Le conditionnement sous atmosphère modifiée exploite l'effet bactériostatique du dioxyde de carbone, utilisé à des concentrations variant de 25 à 80 %. L'effet bactériostatique est particulièrement net vis-à-vis des genres *Pseudomonas* et *Achromobacter*; il est moindre dans le cas des entérobactéries et presque nul vis-à-vis des lactobacilles. Dans ce cas, le même type de compétition s'installe que pour les produits conditionnés sous vide.

## E) CHOIX RAISONNÉ DE LA DURÉE DE VIE COMMERCIALE DES PRODUITS

Finalement, la question essentielle posée est celle de la durée de conservation des produits réfrigérés. Très directement dépendante des procédés utilisés et des conditions de leur maîtrise, la date limite de consommation des denrées doit être fixée sur la base de tests de vieillissement prenant en compte les effets de la flore psychrotrophe.

Entièrement responsables de leurs choix dans ce domaine, les industriels de l'agro-alimentaire sont confrontés à des demandes souvent irréalistes de leurs clients et à un manque évident de directives de la part des services officiels de contrôle. L'élaboration d'un protocole raisonné de validation de la date limite de consommation implique une réflexion globale quant aux critères microbiologiques à utiliser, aux plans d'échantillonnage à appliquer et aux conditions auxquelles le produit sera exposé durant la phase de "vieillessement".

Trop souvent fondés sur les critères microbiologiques réglementaires, les tests réalisés ne permettent pas une réelle appréciation de l'évolution de la flore d'altération spécifique de chaque produit. Il est, par exemple, préférable de procéder à la recherche de *Pseudomonas marginalis* ou de la flore lactique dans des produits végétaux de quatrième gamme, plutôt que de chercher à en apprécier la qualité sanitaire au travers du dénombrement de la flore aérobie à +30°C [3].

Une approche spécifique est nécessaire en ce qui concerne les bactéries pathogènes psychrotrophes. Des tests d'ensemencement volontaire ou "challenge-tests" paraissent indispensables, afin de fixer produit par produit des conditions de conservation adaptées pour garantir l'inhibition de la croissance de ces bactéries.

## Conclusion

L'utilisation de la réfrigération pour assurer la conservation des denrées alimentaires préserve les qualités organolep-

tiques des produits mais favorise l'émergence de flores microbiennes psychrotrophes, qui colonisent un substrat laissé disponible du fait de l'inhibition des autres flores.

Les bactéries psychrotrophes sont les agents de nombreux types d'altérations des denrées réfrigérées. Certaines, en particulier *Listeria monocytogenes* constituent des menaces pour la santé publique.

Ce constat ne remet pas fondamentalement en cause le recours à la réfrigération, mais motive une utilisation raisonnée de ce procédé.

Une parfaite maîtrise de la chaîne du froid, garantissant une température inférieure à +2°C, est indispensable et constitue une étape majeure pour la mise en place de plans d'assurance de la sécurité dans les entreprises agro-alimentaires.

Une attitude responsable est aussi nécessaire de la part de tous les intervenants des filières de production et de distribution, afin que la durée de vie des produits alimentaires soit fixée sur la base d'études scientifiques sérieuses plutôt qu'en fonction d'arguments commerciaux.

## Bibliographie

1. — ANONYME : Micro-organisms in foods (1) ; Their significance and methods of enumeration, 434 pages, University of Toronto Press Editeur, Toronto, 1978.
2. — ANONYME : Bergey's manual of systematic bacteriology ; volume 1, 964 pages, Williams and Wilkins Editeur, Baltimore, 1986.
3. — BORNERT G. : Viandes fraîches de boucherie : détermination de la date limite de consommation. *Bull. Soc. Vét. Prat. de France*, 1996, **80**, 2, 69-81.
4. — BOURGEOIS C., MESCLE J.-F. et ZUCCA J. : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, 672 pages, Lavoisier Editeur, Paris, 1996.
5. — CATTEAU M. : Pathogènes rencontrés lors de la conservation par le froid. *In* : La microbiologie prévisionnelle appliquée à la conservation des aliments réfrigérés, 333 pages, Office des publications officielles des Communautés européennes Editeur, Luxembourg, 1999.
6. — DE VALK H., ROCOURT J., LEQUERREC F., JACQUET C., VAILLANT V., PORTAL H., PIERRE O., PIERRE V., STAINER F., SALVAT G. et GOULET V. : Bouffée épidémique de listériose liée à la consommation de rillettes, France, octobre-décembre 1999. Synthèse des données disponibles au 12/01/2000. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, 2000, **4**, 15-17.
7. — DRUESNE A. : Le stress bactérien ; conséquences sur l'efficacité des traitements thermiques. 1<sup>ère</sup> partie : système d'adaptation des micro-organismes. *Bull. Liaison CTSCCV*, 1996, **6**, 1, 3-6.
8. — DRUESNE A. : Le stress bactérien ; conséquences sur l'efficacité des traitements thermiques. 2<sup>ème</sup> partie : le stress bactérien. *Bull. Liaison CTSCCV*, 1996, **6**, 2, 71-81.
9. — FOURNAUD J. : Type de germes rencontrés aux différents stades de la filière. *In* : Hygiène et technologie de la viande fraîche, 353 pages, Centre national de la recherche scientifique Editeur, Paris, 1982.
10. — GARRY P. et LE GUERN L. : Les bactéries lactiques. *Bull. Liaison CTSCCV*, 1999, **9**, 6, 423-429.
11. — GILL C. et NEWTON K. : The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperature. *J. Appl. Bacteriol.*, 1977, **43**, 189-195.
12. — GOUNOT A.-M. : Bacterial life at low temperature ; physiological aspects and biotechnological implications. *J. Applied Bacteriol.*, 1991, **71**, 386-397.
13. — LARPENT J.-P. : *Listeria*, 140 pages, Lavoisier Editeur, Paris, 1995.
14. — LECLERC H. et MOSSEL D.A.A : Microbiologie : le tube digestif, l'eau et les aliments, 529 pages, Doin Editeur, Paris, 1989.
15. — MAHIEU H. : Modifications du lait après récolte. *In* : Les laits, de la mamelle à la laiterie, 397 pages, Lavoisier Editeur, Paris, 1984.

16. — PIERRE O. et VEIT P. : Plan de surveillance de la contamination par *Listeria monocytogenes* des aliments distribués. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, 1996, **45**, 195-197.
17. — ROBERTS T.A. : Predictive microbiology applied to chilled food preservation. In : La microbiologie prévisionnelle appliquée à la conservation des aliments réfrigérés, 333 pages, Office des publications officielles des Communautés européennes Editeur, Luxembourg, 1999.
18. — ROCOURT J. et JACQUET C. : Epidémiologie des infections humaines à *Listeria monocytogenes* en 1994 : certitudes et interrogations. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1994, **5**, 3, 168-174.
19. — ROSSET R. : Problèmes microbiologiques concernant le traitement des viandes par réfrigération et congélation. *Rev. Gén. Froid*, 1974, **65**, 10, 1075-1082.
20. — ROZIER F. : H.A.C.C.P., de la théorie à quelques contraintes, 80 pages, La Cuisine Collective Editeur, Paris, 1995.
21. — SALVAT G., TOQUIN M.T., MICHEL Y. et COLIN P. : Control of *Listeria monocytogenes* in the delicatessen industries ; the lessons of a listeriosis outbreak in France. *International Microbiology*, 1995, **25**, 75-81
22. — SALVAT G., TOQUIN M.T. et ERMEL G. : Epidémiologie de *Listeria monocytogenes* dans la filière porcine. *Viandes Prod. Carnés*, 1997, **18**, 6, 264-268.