

71282

50376
1990
125

N° d'ordre : 557

50376
1990
125

THÈSE DE DOCTORAT

présentée à

L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE
LILLE FLANDRES ARTOIS

pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
SPÉCIALITÉ : MICROBIOLOGIE

par

Véronique MAILLARD-MULAK

LA CUISSON SOUS VIDE DE PRÉPARATIONS A BASE DE PRODUITS DE LA MER : ASPECTS MICROBIOLOGIQUES

Soutenue le 6 Juillet 1990 devant la commission d'examen

MEMBRES DU JURY :

MM J. GUILLAUME	<i>Président</i>
R. TAILLIEZ	<i>Rapporteur</i>
O. CERF	<i>Rapporteur</i>
P. BECEL	<i>Examineur</i>
H. DURAND	<i>Examineur</i>

Ce travail a été réalisé au Centre d'expérimentation et de Valorisation des Produits de la Mer dirigé par Monsieur P. BECEL à qui nous exprimons notre sincère reconnaissance.

Nous remercions vivement Monsieur le Professeur J. GUILLAUME, Directeur de l'Institut Agricole et Alimentaire de Lille, d'avoir assuré la direction scientifique de ce travail. Nous tenons à lui exprimer notre profond respect.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à Monsieur le Professeur R. TAILLIEZ, Directeur de Recherche au Laboratoire de Microbiologie appliquée de l'Université des Sciences et Techniques de Lille, d'avoir bien voulu assurer le suivi scientifique de nos travaux.

Nous sommes très reconnaissants à Monsieur O. CERF, Directeur de l'Institut National de Recherche Agronomique de Massy, de l'honneur qu'il nous fait en acceptant de juger ce travail.

Nous exprimons toute notre reconnaissance à Monsieur H. DURAND, Directeur de l'Institut Français de Recherche et d'Exploitation de la Mer de Nantes, pour l'amabilité avec laquelle il a bien voulu faire partie de notre jury.

Nous tenons à remercier Monsieur P. EB, Maître Assistant au Laboratoire de Microbiologie Appliquée de l'Université des Sciences et Techniques de Lille et Monsieur P. MALLE, Responsable du Laboratoire des Services Vétérinaires de Boulogne-sur-Mer, pour leur aimable collaboration.

Nous remercions l'Institut Français de Recherche et d'Exploitation de la Mer et la Région Nord - Pas-de-Calais qui ont permis la réalisation de ce travail grâce aux moyens qu'ils nous ont accordés.

Nous remercions également la Direction Générale de l'Alimentation qui a contribué à la réalisation de ce travail dans le cadre de la Convention R-90-02.

Enfin, nous exprimons nos plus vifs remerciements au personnel du Centre d'Expérimentation et de Valorisation des Produits de la Mer et à tous ceux qui nous ont soutenu et encouragé.

SOMMAIRE

~~~~~

## I N T R O D U C T I O N

|                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. <u>Flore bactérienne des produits de la mer</u>                                                     | 3  |
| 1.1. Flore d'altération                                                                                | 3  |
| 1.1.1. Les poissons                                                                                    | 3  |
| 1.1.2. Les mollusques et crustacés                                                                     | 7  |
| 1.2. Flores pathogène et toxigène                                                                      | 9  |
| 1.3. Conclusion                                                                                        | 11 |
| 2. <u>Résistance des bactéries à la chaleur</u>                                                        | 12 |
| 2.1. Cinétiques de destruction des microorganismes                                                     | 12 |
| 2.1.1. Courbes de survie                                                                               | 12 |
| 2.1.2. Influence de la température                                                                     | 19 |
| 2.2. Facteurs affectant la thermorésistance des microorganismes                                        | 20 |
| 2.2.1. Résistance spécifique des microorganismes                                                       | 20 |
| 2.2.2. Influence des conditions de développement avant traitement thermique                            | 21 |
| 2.2.3. Influence de la nature du milieu dans lequel les microorganismes sont chauffés                  | 22 |
| 2.2.4. Influence des conditions de croissance après traitement thermique                               | 24 |
| 2.2.5. Conclusion                                                                                      | 24 |
| 3. <u>Notion de valeur pasteurisatrice - Principe de calcul des barèmes de cuisson/pasteurisation.</u> | 26 |
| 4. <u>Orientation des essais</u>                                                                       | 28 |

## 1ère PARTIE : MATERIEL ET METHODES

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. <u>Analyses microbiologiques</u>                                                | 29 |
| 1.1. Dénombrements                                                                 | 29 |
| 1.1.1. Les milieux de culture                                                      | 29 |
| 1.1.1.1. Les milieux solides                                                       | 29 |
| 1.1.1.2. Les milieux liquides                                                      | 30 |
| 1.1.2. Techniques de dénombrement                                                  | 30 |
| 1.1.2.1. Préparation de l'échantillon                                              | 30 |
| 1.1.2.2. Ensemencement                                                             | 30 |
| 1.1.2.3. Incubation                                                                | 31 |
| 1.1.2.4. Numération                                                                | 31 |
| 1.2. Identifications                                                               | 33 |
| 1.2.1. Les produits                                                                | 33 |
| 1.2.2. Techniques d'identification                                                 | 34 |
| 2. <u>Analyses physico-chimiques</u>                                               | 35 |
| 3. <u>Analyses sensorielles</u>                                                    | 36 |
| 4. <u>Protocole expérimental de sélection des germes les plus thermorésistants</u> | 36 |
| 4.1. Lieu noir                                                                     | 36 |
| 4.2. Terrines de poisson                                                           | 37 |
| 5. <u>Mesure des paramètres de thermorésistance</u>                                | 39 |
| 5.1. Matériel                                                                      | 39 |
| 5.2. Milieux                                                                       | 40 |
| 5.3. Souches                                                                       | 40 |
| 5.4. Protocole expérimental                                                        | 41 |
| 6. <u>Cuisson sous vide et conservation</u>                                        | 45 |
| 6.1. Matière première                                                              | 45 |
| 6.2. Matériel                                                                      | 45 |

|                            |    |
|----------------------------|----|
| 6.3. Schéma de fabrication | 46 |
| 6.4. Conservation          | 47 |

## 2ème PARTIE : RESULTATS ET COMMENTAIRES

|                                                                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. <u>Etude microbiologique des produits crus</u><br><u>isolement et identification des germes</u><br><u>les plus thermorésistants</u>                      | 48 |
| 1.1. Lieu noir                                                                                                                                              | 48 |
| 1.1.1. Etude microbiologique du lieu noir<br>entier frais et en filet                                                                                       | 48 |
| 1.1.2. Sélection et identification des<br>germes les plus thermorésistants                                                                                  | 52 |
| 1.1.2.1. Evolution quantitative                                                                                                                             | 52 |
| 1.1.2.2. Identifications                                                                                                                                    | 54 |
| 1.2. Terrines                                                                                                                                               | 57 |
| 1.2.1. Etude microbiologique des terrines crues                                                                                                             | 57 |
| 1.2.2. Sélection et identification des germes<br>les plus thermorésistants                                                                                  | 61 |
| 1.2.2.1. Evolution quantitative                                                                                                                             | 61 |
| 1.2.2.2. Identifications                                                                                                                                    | 63 |
| 1.3. Conclusion                                                                                                                                             | 63 |
| 2. <u>Etude de la thermorésistance de quelques</u><br><u>germes représentatifs de la microflore des</u><br><u>préparations à base de produits de la mer</u> | 64 |
| 2.1. Caractéristiques physico-chimiques<br>des milieux de chauffage                                                                                         | 64 |
| 2.2. Etude de la thermorésistance des germes                                                                                                                | 65 |
| 2.2.1. <i>Pseudomonas paucimobilis</i>                                                                                                                      | 65 |
| 2.2.2. <i>Pseudomonas putida</i>                                                                                                                            | 70 |
| 2.2.3. <i>Micrococcus varians</i>                                                                                                                           | 75 |
| 2.2.4. <i>Streptococcus faecium</i>                                                                                                                         | 80 |
| 2.2.5. <i>Yersinia enterocolitica</i>                                                                                                                       | 85 |
| 2.2.6. <i>Staphylococcus aureus</i>                                                                                                                         | 90 |

|                                                                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 2.3. Comparaison de la thermorésistance des germes selon les milieux et selon les espèces                                   | 96  |
| 2.4. Détermination des valeurs pasteurisatrices minimales à appliquer                                                       | 101 |
| 3. <u>Evolution au cours du temps des flores bactériennes de filets de lieu noir et terrines de poisson cuits sous vide</u> | 104 |
| 3.1. Lieu noir                                                                                                              | 104 |
| 3.1.1. Qualité initiale des filets avant traitement thermique                                                               | 106 |
| 3.1.2. Evolution quantitative                                                                                               | 107 |
| 3.1.2.1. Flore mésophile aéro-anaérobie facultative                                                                         | 107 |
| 3.1.2.2. Flore mésophile anaérobie stricte                                                                                  | 114 |
| 3.1.3. Identifications                                                                                                      | 114 |
| 3.2. Terrines                                                                                                               | 117 |
| 3.2.1. Qualité initiale des terrines avant traitement thermique                                                             | 119 |
| 3.2.2. Evolution quantitative                                                                                               | 120 |
| 3.2.2.1. Flore mésophile aéro-anaérobie facultative                                                                         | 120 |
| 3.2.2.2. Flore mésophile anaérobie stricte                                                                                  | 120 |
| 3.2.3. Identifications                                                                                                      | 123 |
| 4. <u>Détermination de la date limite de consommation de filets de poisson cuits sous vide</u>                              | 124 |
| 4.1. Qualité initiale des filets avant traitement thermique                                                                 | 126 |
| 4.2. Evolution de la flore mésophile aéro-anaérobie facultative                                                             | 127 |
| 4.3. Analyses sensorielles                                                                                                  | 139 |
| 4.4. Conclusion                                                                                                             | 140 |

C O N C L U S I O N   G E N E R A L E 141

B I B L I O G R A P H I E I

A N N E X E S VIII

R E S U M E

INTRODUCTION

\*\*\*\*\*



Le marché des plats cuits sous vide à base de produits de la mer est en pleine expansion. Deux catégories de produits dominent actuellement le marché : les plats cuisinés d'une part, composés de poisson accompagné ou non de légumes et de sauce et les charcuteries de poisson d'autre part. Les charcuteries de poisson, selon la définition donnée par le FIOM (1988) (Fonds d'Intervention et d'Organisation des Marchés) sont "des produits élaborés selon les techniques de la charcuterie, contenant des poissons et crustacés de mer ou d'eau douce, actuellement commercialisés sous les appellations terrines, rillettes, pâtés, mousses, mousselines, poissons farcis, beurres, crèmes, délices, pains suprêmes, boudins et saucisses".

Les poissons les plus souvent mis en oeuvre dans les différents types de préparation sont : le lieu noir (*Pollachius virens*), le cabillaud (*Gadus morhua*), la julienne (*Molva molva*), l'églefin (*Gadus aeglefinus*) et d'une manière générale toutes les espèces appartenant à la famille des gadidés. Des espèces plus nobles telles que la lotte (*Lophius piscatorius*), le saumon (*Salmo salar*), la sole (*Solea vulgaris*) ou le turbot (*Pretta maxima*) sont également parfois utilisées.

Les poissons gras type hareng (*Clupea harengus*) ne sont pas souvent rencontrés sauf dans les charcuteries de poisson pour accentuer le goût et "donner du moelleux". Les mollusques et crustacés ne sont utilisés qu'accessoirement dans les charcuteries ou les sauces.

Dans son principe, la cuisson sous vide consiste à cuire à température moyenne (65 à 100°C) des produits préalablement conditionnés sous vide dans des emballages spéciaux. Les produits doivent être rapidement refroidis et conservés à 0/+3°C. Cette technique présente de multiples avantages : sur le plan culinaire, elle permet de développer les arômes et d'améliorer le moelleux des produits. Les avantages économiques ne sont pas à négliger : les pertes de poids par évaporation sont éliminées et les exsudats de cuisson sont réduits. Enfin, sur le plan microbiologique, la cuisson dans l'emballage évite les recontaminations après cuisson et permet de mieux maîtriser la conservation des produits.

La cuisson sous vide présente de nombreux avantages ; cependant, si la technologie est mal maîtrisée, notamment si le barème de cuisson est insuffisant et si les conditions de conservation ne sont pas respectées, des risques de développement de germes dangereux pour le consommateur ou de germes d'altération rendant les aliments impropres à la consommation sont toujours à craindre.

Les barèmes de cuisson actuellement utilisés dans l'industrie sont définis de manière empirique et peuvent être très divers : certains industriels cuisent à des températures à coeur faibles, de l'ordre de 65°C afin de préserver les qualités gustatives des poissons, alors que d'autres travaillent à des températures à coeur élevées, de l'ordre de 85°C afin de ne prendre aucun risque sur le plan microbiologique.

Des barèmes ont été définis sur le plan réglementaire (note de service du 31 mai 1988 de la Direction Générale de l'Alimentation), mais ils sont généraux et ne prennent pas en compte les caractères spécifiques de chaque produit.

Compte tenu des observations ci-dessus, le but de notre travail de recherche a été de déterminer les conditions optimales de cuisson et de conservation des préparations à base de produits de la mer cuites sous vide.

Pour cela nous avons essentiellement tenu compte des aspects microbiologiques. Après avoir étudié la thermorésistance de la flore bactérienne de quelques produits types, nous avons déterminé les valeurs pasteurisatrices minimales à appliquer pour détruire les formes végétatives des bactéries en proportion suffisante.

Nous avons ensuite étudié le comportement des germes thermorésistants au cours de la conservation, en fonction du traitement thermique appliqué.

## 1 - FLORE BACTERIENNE DES PRODUITS DE LA MER

~~~~~

Dès la mort, les tissus musculaires des poissons, des crustacés et des mollusques sont le siège de processus d'altération rapide, du fait principalement de l'action des bactéries.

Les enzymes endogènes du poisson et plus particulièrement les protéases, interviennent également dans le processus de dégradation, mais leur action est faible comparée à celle des microorganismes (Liston 1982). Shewan (1977) a d'ailleurs montré qu'un muscle prélevé aseptiquement et maintenu à 0°C, se conservait plus de 6 semaines sans modification organoleptique détectable par un jury de dégustation entraîné.

C'est pourquoi le problème primordial des produits de la mer en tant qu'aliments est celui de la qualité microbiologique.

Dans cet exposé, nous décrirons la flore d'altération des poissons et également les flores pathogènes et toxigènes susceptibles d'être rencontrées.

Nous parlerons également des flores des mollusques et crustacés, mais de façon plus succincte car leur utilisation dans les plats cuisinés sous vide reste secondaire.

1.1. Flore d'altération

=====

1.1.1. Les poissons

Les muscles des poissons sains vivants sont stériles (Shewan 1962). La flore bactérienne est localisée au niveau de la peau, des branchies et des intestins.

Ce n'est qu'après la mort des poissons, généralement après une phase de latence correspondant à la durée de la rigor mortis, soit 3 à 4 jours à 0°C (Shewan 1962), que les bactéries se développent de façon exponentielle et pénètrent dans les muscles à travers les branchies, la peau et les intestins (Shewan 1971).

D'une manière générale, les bactéries pénètrent plus vite dans les filets que dans les poissons entiers et dans les deux cas, l'essentiel de l'activité est localisée en surface (Liston 1980).

Les flores bactériennes qui contaminent les poissons sont le reflet de l'environnement aquatique (Hobbs 1982, Shewan 1971). Les poissons pêchés dans les eaux froides sont essentiellement contaminés par des germes Gram - appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium* et *Vibrio*. Des germes Gram + sont parfois rencontrés, il s'agit de germes appartenant au groupe des corynéformes et au genre *Micrococcus* (Hobbs 1982).

Les germes sporulés type *Clostridium* ou *Bacillus* sont peu rencontrés. Cependant, des contaminations par *Clostridium botulinum E* sont toujours à craindre et nous reviendrons sur ce point ultérieurement.

Les poissons pêchés dans les eaux chaudes sont contaminés principalement par des germes Gram +. D'après des identifications effectuées sur des poissons pêchés près de l'Australie, les principaux germes rencontrés appartiennent aux genres *Micrococcus* et *Bacillus* et au groupe des corynéformes. (Gillepsie 1975).

Au cours de la conservation sous glace, on observe une variation dans la répartition des flores des poissons d'eau froide. Les *Pseudomonas* deviennent prédominants et en proportion moindre, on trouve des germes appartenant aux genres *Moraxella* et *Acinetobacter* (Liston 1980). Le tableau 1 montre les évolutions quantitative et qualitative de la flore bactérienne au cours de la conservation de Steaks d'Espadon.

En ce qui concerne les poissons d'eau chaude, peu d'études ont été réalisées sur l'évolution de la flore au cours de la conservation, il semble cependant que là aussi les *Pseudomonas* abondent (Sainclivier 1983).

(DUREE DU STOCKAGE (jours)	(FLORE AEROBIE MESOPHILE (/cm ² , 25°C)	(PSEUDOMONAS SEP.	(A. TUMEFACIENS	(MORAXELLA/ACINETOBACTER	(FLAVOBACTERIUM	(CORYNEBACTERES	(B. THERMOSPHILACTA
0	4,2 . 10 ⁴	26,2	0,6	13,8	53,1	5,5	
2	6,9 . 10 ⁴	75,2		3,6	12,4	8,8	
5	5,0 . 10 ⁵	100,0					
8	1,4 . 10 ⁷	100,0					
11	8,8 . 10 ⁷	91,6	0,8				7,6

TABLEAU 1 : Evolution de la flore microbienne de steaks d'espadon conditionnés sous air et conservés à +3,5°C (Lannelongue et al. 1982).

La dominance des *Pseudomonas* s'explique par leur aptitude à croître rapidement aux températures de réfrigération et par leur capacité à utiliser de nombreux constituants de la chair, notamment les substances azotées non protéiques (Liston 1980).

Les *Pseudomonas* sont en grande partie responsables de l'altération du poisson. Leur action se traduit par la formation de métabolites souvent à l'origine de l'apparition de mauvaises odeurs.

Les métabolites les plus anciennement identifiés sont les amines volatiles communément appelées azote basique volatil total (ABVT). Elles résultent de la dégradation des composés azotés non protéiques (Liston 1982). Ces amines sont responsables des odeurs ammoniacales souvent détectées chez les poissons (Shewan 1977).

Parmi les amines volatiles formées, la principale est la triméthylamine résultant de la réduction de l'oxyde de triméthylamine. De nombreux microorganismes sont capables de réduire l'oxyde de triméthylamine en tryméthylamine lorsque l'oxygène vient à manquer, soit vers le sixième jour de conservation (Sainclivier 1983).

Le dosage de la TMA est souvent effectué pour évaluer l'état de fraîcheur des poissons (Conway 1962, Malle et al. 1986, Malle et al. 1987). Bien qu'il n'y ait aucune norme concernant les teneurs en TMA acceptables, on considère généralement que le poisson devient inconsommable lorsque la concentration atteint 15 mg pour 100 g de chair (Sainclivier 1983). Le dosage de la TMA chez les poissons qui s'acidifient rapidement après la mort (thonidés) ou qui s'alcalinisent (groupes des raies et requins) n'est pas représentatif de l'altération car le pH de la chair de ces poissons n'est pas favorable à la production de TMA.

On trouve également parmi les amines volatiles, l'ammoniaque qui provient des réactions de désamination des composés azotés. Chez les poissons cartilagineux (raies et requins), l'ammoniaque résulte de la décomposition de l'urée (Liston 1982). L'urée est présente dans les muscles de ces poissons à des concentrations de l'ordre de 2 g pour 100 g de muscle alors que chez les poissons non cartilagineux, elle est présente à des concentrations beaucoup plus faibles de l'ordre de 0,5 à 15 mg pour 100 g de muscle (Sanclivier 1983). L'urée interviendrait chez les poissons cartilagineux, dans la régulation osmotique des fluides du corps (Simidu 1961).

Triméthylamine et ammoniaque constituent les 2 principaux composants de l'azote basique volatil total. Le dosage de l'ABVT, comme celui de la TMA, est utilisé pour apprécier l'état de fraîcheur des poissons (Conway 1962, Billon 1979, Malle et al. 1983). Pour les téléostéens (poissons non cartilagineux) un taux d' ABVT de l'ordre de 30 mg d'azote pour 100 g de chair traduit généralement un état de fraîcheur non satisfaisant. En ce qui concerne les poissons cartilagineux la limite est de l'ordre de 50 mg d'azote pour 100 g de chair (Malle 1989).

Outre la production d'amines volatiles, les bactéries sont également à l'origine de la production d'amines formées par désamination des amino acides. La plupart d'entre elles sont responsables du développement d'odeurs putrides. Les 2 amines les plus fréquemment rencontrées sont la cadavérine et la putrécine. L'histamine qui est une amine toxique provenant de la désamination de l'histidine par *Proteus morganii*, peut être produite, principalement dans les muscles des poissons à chairs rouges tels que les thons (Sainclivier 1983).

La dégradation des amino acides soufrés : cystéine, cystine et méthionine aboutit à la formation de composés sulfurés volatils : le sulfure d'hydrogène (H_2S), le diméthyl sulfure ($(CH_3)_2S$) et le méthyl mercaptan (CH_3SH). Même à faibles concentrations, ces composés sont responsables d'une altération notable des odeurs et des flaveurs. Les seuils d'apparition des odeurs sulfurées sont très faibles : 40 ppb pour H_2S , 0,5 ppb pour $(CH_3)_2S$ et 0,05 ppb pour CH_3SH (Shewan 1977, Herbert 1975).

Les principaux germes responsables de la dégradation des amino acides soufrés sont les *Pseudomonas* des groupes III et IV type *putrefaciens* (classification de Shewan et al. 1960) et occasionnellement *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas fragi* (Herbert 1975). *Pseudomonas fragi* serait également responsable de l'apparition d'odeurs fruitées du fait de la dégradation de certains amino acides (glycine, leucine, et sérine) en esters d'acides gras (Shewan 1977).

La dégradation bactérienne des muscles des poissons se traduit par la formation d'autres métabolites. Néanmoins l'ABVT, les amines, les composés sulfurés et les acides gras volatils constituent les principaux composés responsables de l'altération du poisson.

Les germes les plus actifs dans la dégradation sont les *Pseudomonas* et plus particulièrement *Pseudomonas putrefaciens*. (Hobbs 1983 , Shewan 1971).

1.1.2. Mollusques et crustacés

Les espèces qui prédominent chez les crustacés d'eau froide sont : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium* et *Proteus* (Hobbs 1983). Chez les crustacés d'eau chaude, on rencontre plus de germes Gram + tels que les *Micrococcus* et les corynéformes (Liston 1980).

Le processus de dégradation est sensiblement le même que chez les poissons.

Les altérations bactériennes commencent plus tôt chez la crevette que chez les autres crustacés du fait de la forte teneur en amino acides libres, milieu de culture favorable au développement bactérien, et également du fait de la présence de cathepsines très actives augmentant encore cette teneur en amino acides (Sainclivier 1983). L'altération est essentiellement due aux *Pseudomonas* (Fieger et al. 1961).

Chez les crabes l'attaque bactérienne commence rapidement après la mort. L'altération est essentiellement due aux *Pseudomonas*, *Proteus* et *Flavobacterium*. Elle s'accompagne d'une augmentation de pH et de l'apparition d'une odeur ammoniacale (Fieger et al. 1961).

La dégradation des crustacés ne se traduit pas uniquement par le développement d'odeurs désagréables, on observe fréquemment l'apparition de zones de pigmentation noire dues à l'action des phénolases. Ce phénomène ne serait pas d'origine microbienne mais il résulterait de l'action d'enzymes tissulaires (Fieger et al. 1961).

En ce qui concerne les mollusques, peu d'études ont été réalisées concernant leur altération.

Pour les huitres la décomposition est due dans un premier temps aux *Pseudomonas*, *Serratia*, *Proteus*, *Clostridium*, *Bacillus* et *Escherichia*. Plus tard, au cours de l'altération, les streptocoques, lactobacilles et levures trouvent des conditions favorables à leur croissance (Fieger et al. 1961).

Chez les moules, on retrouve à peu près la même microflore, avec cependant une proportion plus importante d'*Escherichia* et d'*Aerobacter aerogenes* (Fieger et al. 1961).

1.2. Flores pathogène et toxigène

=====

Les poissons, mollusques et crustacés pêchés dans les eaux polluées ne contiennent que très rarement des germes pathogènes et toxigènes pour l'homme, excepté *Clostridium botulinum* et *Vibrio parahaemolyticus* qui sont des contaminants naturels du poisson (Liston 1980).

Clostridium botulinum est un germe particulièrement dangereux capable de produire des neurotoxines à action paralysante et pouvant entraîner la mort.

On distingue 7 types de *Clostridium botulinum* : A, B, C, D, E, F et G. Cette différenciation est liée à la production par les différentes espèces, de neurotoxines immunologiquement différentes (Sebald 1988).

Dans les produits de la mer, l'espèce la plus fréquemment rencontrée est *Clostridium botulinum* type E (Sainclivier 1983, Sebald 1988, Hobbs 1983, Shewan 1971). Les autres types ne sont rencontrés qu'exceptionnellement.

Clostridium botulinum est un germe capable de produire des spores, difficiles à détruire par la chaleur.

La thermorésistance varie selon les espèces. Les spores de types A et D sont beaucoup plus thermorésistantes que les spores de type E. Nous reviendrons ultérieurement sur la thermorésistance des spores de *Clostridium* (cf. para. 2.2.5.).

Les conditions de développement et de toxinogénèse de *Clostridium botulinum* E dépendent de nombreux facteurs.

Le plus important est la température, *Clostridium botulinum* E est capable de se multiplier et de produire sa toxine à partir de +3,3°C (Hackney 1988, Abrahamsson 1966).

La concentration en spores a également une influence sur la production de toxine : Cockey et al. (1974) ont observé la production de toxine dans de la chair de crabe inoculée avec 10^5 germes/g après 55 jours de conservation à +4,4°C alors qu'avec un inoculum de 10^2 spores/g la production de toxine n'a lieu qu'après 82 jours.

Enfin un choc thermique peut rendre les spores viables superdormantes (Sebald 1988). Cokey et al. (1988) ont montré que de la chair de crabe pasteurisée à 85°C à coeur et contenant 6 spores / 100 g de chair après pasteurisation (contre 10⁷ / 100 g avant pasteurisation) se conservait parfaitement pendant plus de 6 mois à +4.4°C.

Vibrio parahaemolyticus est principalement rencontré dans les eaux côtières et les estuaires surtout l'été, car il ne se multiplie qu'à des températures supérieures à 15°C (Liston 1980). Ce germe contamine plus fréquemment les mollusques et crustacés que les poissons (Brown et Dorn 1977) Il provoque des gastroentérites caractérisées par des douleurs abdominales, des diarrhées et des vomissements (Sainclivier 1983).

Il est facilement détruit par la chaleur, à des températures de l'ordre de 50/60°C. Ce sont essentiellement les aliments consommés crus qui sont à l'origine des toxiinfections. Au Japon où la consommation de poissons crus est très fréquente, 50 % des toxi-infections et intoxications alimentaires sont dues à *Vibrio paraheremolyticus* (Todd 1978).

D'autres germes pathogènes humains peuvent également contaminer les produits de la mer : *Clostridium perfringens*, *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* ...).

Ces germes se rencontrent dans les poissons, mollusques et crustacés pêchés dans les eaux polluées. Des contaminations sont également toujours à craindre lors des divers traitements qui ont lieu après la mort, notamment lors du décortiquage des crustacés, du décoquillage des mollusques ou de l'éviscération et du filetage des poissons.

Outre les bactéries pathogènes citées ci-dessus, les mollusques sont parfois contaminés par des virus à l'origine d'hépatites infectieuses (Abgrall 1988, Sainclivier 1983).

D'ailleurs, étant donnés les risques importants de contamination des mollusques par des germes dangereux, ils sont soumis avant commercialisation à une épuration et un contrôle sanitaire strict. L'auto-épuration en eau de salinité suffisante, bactériologiquement propre, se fait en 48 h pour les entérobactéries et les salmonelles si la charge initiale n'est pas trop élevée (Buttiaux 1968).

1.3. Conclusion

=====

La flore banale des poissons pêchés dans les eaux froides est essentiellement constituée par des germes Gram -, psychrotrophes et halophiles modérés. On y rencontre apparemment peu de germes sporulés. Cependant, en raison de la très grande toxicité des toxines produites par *Clostridium botulinum E*, la présence potentielle de ces bactéries doit toujours être présente à l'esprit. Par ailleurs, d'autres germes pathogènes peuvent contaminer les poissons, c'est pourquoi leur présence potentielle doit être prise en considération lors de l'établissement des barèmes de pasteurisation.

En conclusion, pour les préparations à base de produits de la mer cuites sous vide, le traitement thermique devra être défini de manière à assurer la destruction des formes végétatives des germes pathogènes en proportion appropriée, et, en raison de la grande altérabilité des produits de la mer, il devra également assurer la destruction des germes d'altération en proportion convenable.

2 - RESISTANCE DES BACTERIES A LA CHALEUR

Tous les microorganismes (bactéries, spores, virus et champignons) obéissent aux mêmes lois de destruction thermique. La connaissance des cinétiques de thermodestruction des bactéries est à la base de l'établissement des barèmes de cuisson/pasteurisation. L'objet de l'exposé qui suit est de décrire ces cinétiques ainsi que les facteurs qui affectent la thermorésistance des microorganismes.

2.1. Cinétiques de destruction des microorganismes

2.1.1. Courbes de survie

De nombreux auteurs (Esty et Meyer 1922, Ball et Olson 1957, Katzin et al. 1943, Stumbo 1973, Cheftel 1963) ont montré qu'il existait une relation logarithmique entre la durée de chauffage et le taux de destruction des microorganismes. Ainsi, si l'on porte sur un graphe le logarithme du nombre de survivants en fonction du temps, on obtient généralement une droite appelée courbe de survie (figure 1).

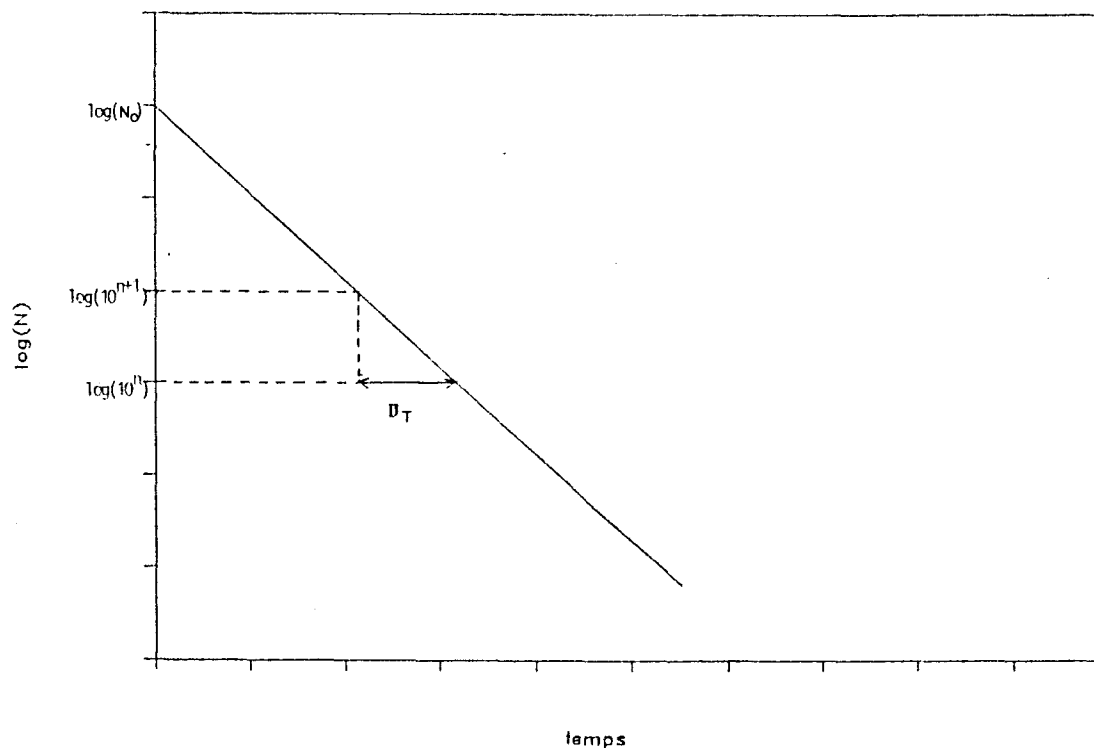


FIGURE 1 : Courbe de survie

L'inverse de la pente de cette droite est appelée temps de réduction décimale (symbole D_T), il correspond au temps nécessaire pour détruire 90 % de la population bactérienne à la température T.

L'équation de la courbe de survie est la suivante :

$$\log(N_0/N) = t/D_T$$

- . N_0 correspond au nombre de germes au temps $t = 0$.
- . N correspond au nombre de germes au temps t .
- . $\log(N_0/N)$ représente le taux de destruction, c'est-à-dire le nombre de divisions par 10 de la population bactérienne; on l'appelle aussi efficacité du traitement de durée t à la température T.

La théorie de destruction thermique des microorganismes en phase logarithmique a été expliquée par de nombreux auteurs (Charm 1958, Chick 1910, Rahn 1930, Stumbo 1973). Elle est basée sur 2 hypothèses :

- les populations de souches pures sont homogènes en ce qui concerne leur thermorésistance.
- la mort résulte de l'inactivation d'une molécule critique par cellule.

La cinétique de destruction bactérienne est assimilée à une réaction de premier ordre.

Si bien souvent les courbes de survie sont des droites, des déviations sont cependant observées encore plus souvent (Stumbo 1973). Les différents types de courbes rencontrées sont représentées figure 2.

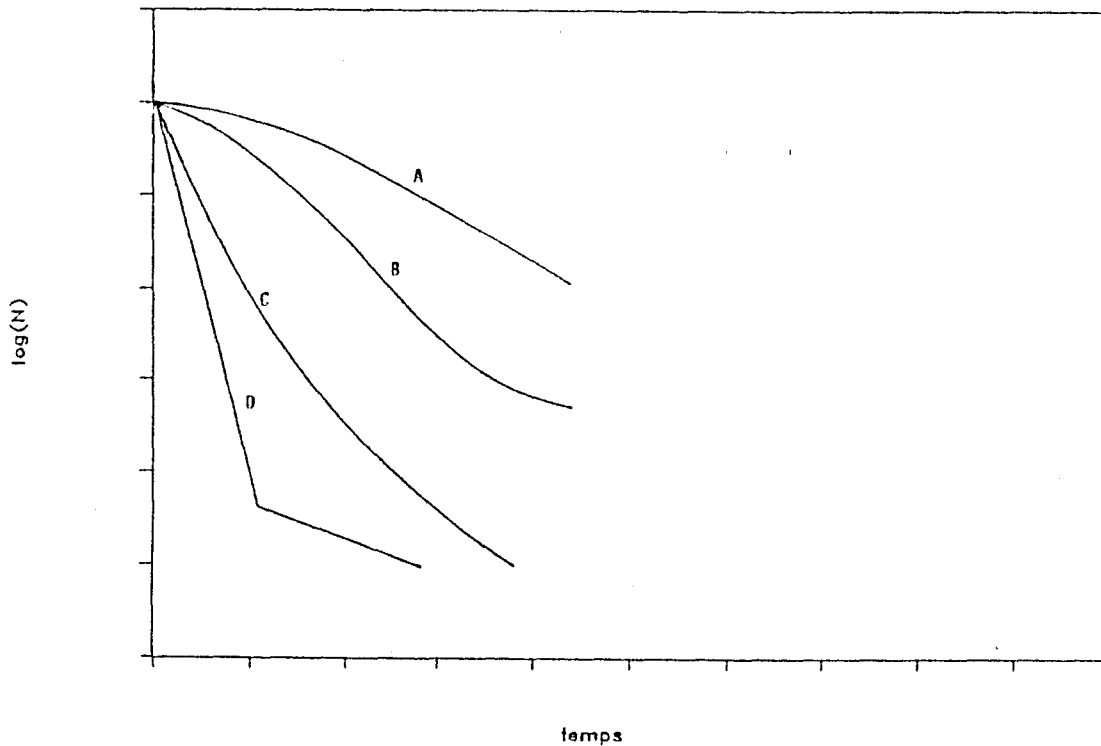


FIGURE 2 : Différents types de courbes de survie non rectilignes
(A : avec épaulement, B : courbe sigmoïde,
C : avec concavité , D : avec trainée)

Les causes de ces déviations peuvent être diverses. Soit elles correspondent à des artefacts ou alors elles sont liées au mécanisme de la destruction des microorganismes.

L'épaulement qui précède l'établissement de la partie linéaire de la courbe peut s'expliquer de plusieurs façons :

- la présence dans le microorganisme de plusieurs sites de résistance à la chaleur (Hansen et Rieman 1963, Magnus et al. 1986, Allwood et Russel 1970, Moats 1971). Dans ce cas, la mort ne serait pas due à l'inactivation d'une molécule mais de plusieurs, d'où l'épaulement observé au départ.

- la présence d'amas cellulaires au début du chauffage. Chaque amas produit une colonie tout le temps qu'il contient au moins une cellule viable. C'est uniquement quand il n'y a plus qu'une cellule viable par amas que la thermodestruction des microorganismes devient logarithmique (Stumbo 1973). Hansen et Rieman (1963) ont montré que le groupement en amas était le principal facteur responsable de l'épaulement observé pour les courbes de survie de *Streptococcus faecium* chauffé dans du lait, puisqu' en mélangeant énergiquement la suspension avant traitement thermique, de manière à disperser les amas, ils ont obtenu des courbes de survie linéaires. Magnus et al. en 1986 ont également obtenu des épaulements pour les courbes de survie de *Streptococcus faecium* et *Streptococcus faecalis* chauffés dans différents milieux. Ils ont observé au microscope la présence de chaînettes de 4 à 6 germes qui pourraient expliquer les épaulements.

- le délai dans l'établissement du traitement létal (Cerf et al. 1988). Tout le temps que la température de la suspension bactérienne n'est pas homogène, il n'y a pas de relation logarithmique entre le nombre de germes survivants et la durée de traitement.

- Concurrence entre des mécanismes d'activation et d'inactivation des spores (Stumbo 1973, Davies 1977, Allwood et Russel 1970, Cerf 1977). La plupart des spores ont besoin d'une activation pour germer et la chaleur est un excellent activateur, d'où une compétition possible entre la destruction des spores et leur germination. Stumbo (1973) a observé que l'amplitude de l'épaulement diminuait quand la température augmentait. Aux températures élevées, il n'y a pratiquement pas d'épaulement du fait probablement de la diminution du temps nécessaire à l'activation des spores.

Les traînées et les concavités vers le haut (figure 2) qui succèdent à une partie linéaire peuvent avoir les causes suivantes :

- La présence d'espèces génétiquement différentes au sein de la population. Quand 2 espèces sont mélangées au sein d'une même population, on obtient une courbe de survie biphasique. La première partie de la courbe correspond à la destruction de l'espèce la plus thermosensible (Ball et Olson 1957, Bond et al. 1970, Stumbo 1973, Cerf 1977).

- La formation d'amas cellulaires au cours du traitement (Stumbo 1973). La figure 3 donne un exemple de courbe de survie qui peut s'expliquer par la formation d'amas pendant le chauffage.

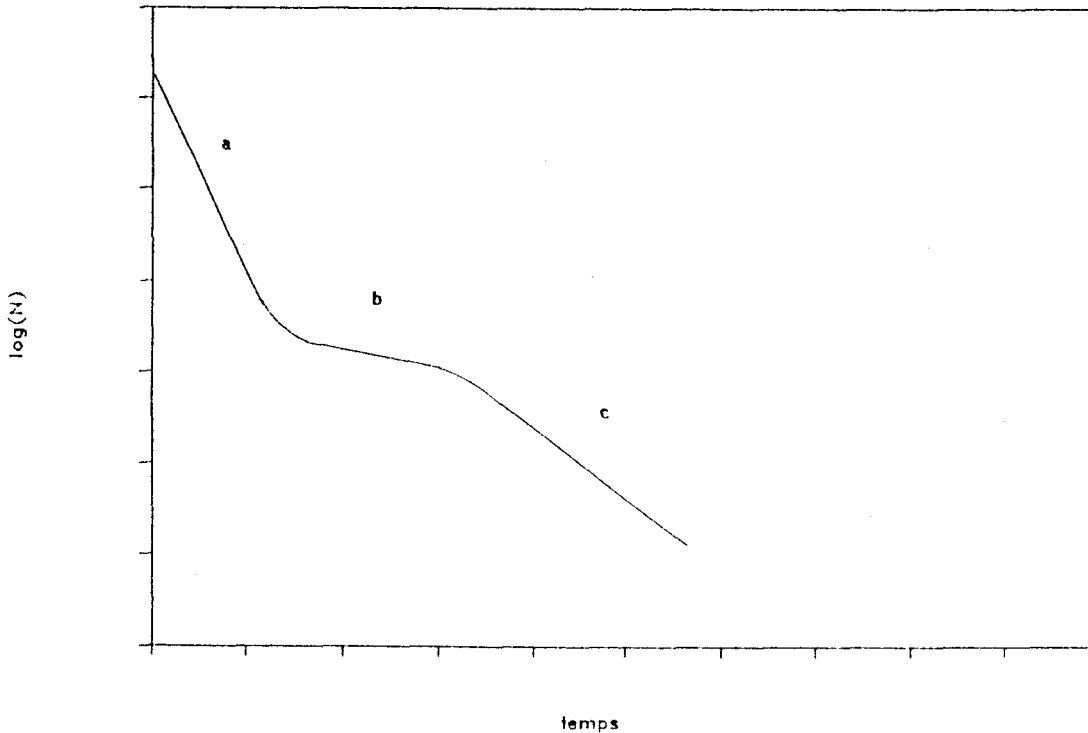


FIGURE 3 : Courbe de survie s'expliquant par la formation d'amas cellulaires pendant le traitement thermique selon Stumbo (1973).

La première partie de la courbe (a) s'explique par la conjonction de deux phénomènes : la destruction des microorganismes et parallèlement à cela, la formation d'amas cellulaires. La partie (b) de la courbe s'explique par la réduction du nombre de cellules viables par amas. Dans la dernière partie de la courbe (c), il n'y a plus qu'une cellule viable par amas, elle correspond donc à la vraie courbe de survie des microorganismes.

- l'hétérogénéité du traitement. Roberts et Ingram (1965) ont observé que des spores chauffées dans des tubes ouverts, immergés partiellement présentaient une courbe de survie concave. Celle-ci devient une droite quand les spores sont chauffées dans les ampoules scellées immergées complètement.

L'explication donnée par Roberts et Ingram de ce phénomène est la suivante : les spores emprisonnées à la partie supérieure de l'ampoule sont probablement soumises à des températures plus faibles, quand l'ampoule n'est pas complètement immergée, d'où la concavité observée.

- Apparition d'un "effet protecteur" du milieu au cours du traitement. Quand les suspensions sont chauffées dans des aliments, de nombreuses réactions chimiques se produisent modifiant ainsi l'environnement des germes. Cerf et al. (1967) ont notamment observé un "effet protecteur" du lait sur les spores de *Clostridium butyricum*.

- Problème de l'énumération des survivants. La numération des survivants à des niveaux faibles (moins de 100 germes/g) est imprécise et sujette à de nombreuses variations. La présence de traînées pourrait être liée à l'imprécision de la méthode de numération quand un nombre trop faible de dénombrements est effectué (Cerf 1977).

- Augmentation de la thermorésistance au cours du traitement qui pourrait être due à une mutation (Busta 1967, Han 1975).

- présence au sein de la population génétiquement homogène, d'individus possédant différents degrés de thermorésistance. Cette variabilité serait physiologique et pourrait être notamment liée à l'âge des cellules (Moats 1971).

En conclusion, même si des divergences existent, de nombreux auteurs (Stumbo 1973, Ball et Olson 1957, Cheftel J.C. et Cheftel H. 1977) considèrent que l'allure logarithmique de la destruction thermique est suffisamment en accord avec la plupart des résultats expérimentaux pour pouvoir être tenue pour démontrée. Il est difficile de dire à l'heure actuelle si ces divergences résultent de phénomènes accessoires tels que l'activation des spores, la formation d'amas, l'hétérogénéité du traitement ou s'ils sont vraiment liés au mécanisme de la résistance. Seule la connaissance du mécanisme biochimique de la mort permettra de trancher la question (Cheftel J.C. et Cheftel H. 1977).

Quoi qu'il en soit, la fin des courbes de survie peut presque toujours être assimilée à une droite qui peut être caractérisée par une valeur de D_T . Soit -a- l'intersection entre la droite prolongeant la partie intéressante de la courbe et la droite horizontale passant par N_0 , l'équation de la courbe est alors (figure 4) (Cerf et al. 1988) :

$$\log(N_0/N) = (t-a)/D_T$$

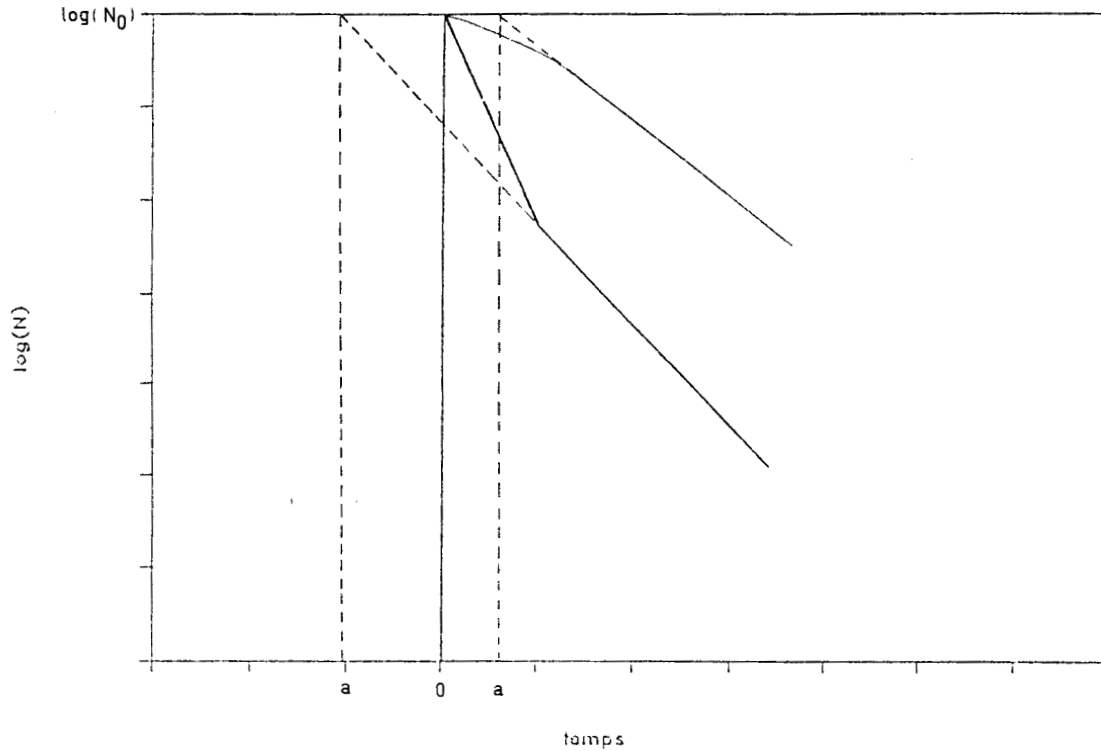


FIGURE 4 : Mise en équation des courbes de survie avec épaulement ou traînée.

Lors de l'établissement des courbes de survie, afin de limiter les risques d'obtenir des courbes non linéaires un certain nombre de précautions sont à prendre (Cerf 1977). Il faut notamment s'assurer de l'homogénéité de la population bactérienne et de la température du traitement, éviter la formation d'amas cellulaires, laver les cellules avant traitement afin d'éliminer les débris cellulaires et les traces du milieu de culture et réaliser de nombreuses mesures pour diminuer les risques d'erreurs de numération.

2.1.2. Influence de la température

L'expérience montre que plus on élève la température, plus la vitesse de destruction des microorganismes augmente.

Si l'on porte en abscisse les températures et en ordonnée le logarithme du temps de réduction décimale, on obtient une droite appelée courbe de destruction thermique (encore appelée courbe fantôme de TDT : temps de destruction thermique) (figure 5) (Stumbo 1973, Sainclivier 1986, Cheftel 1963).

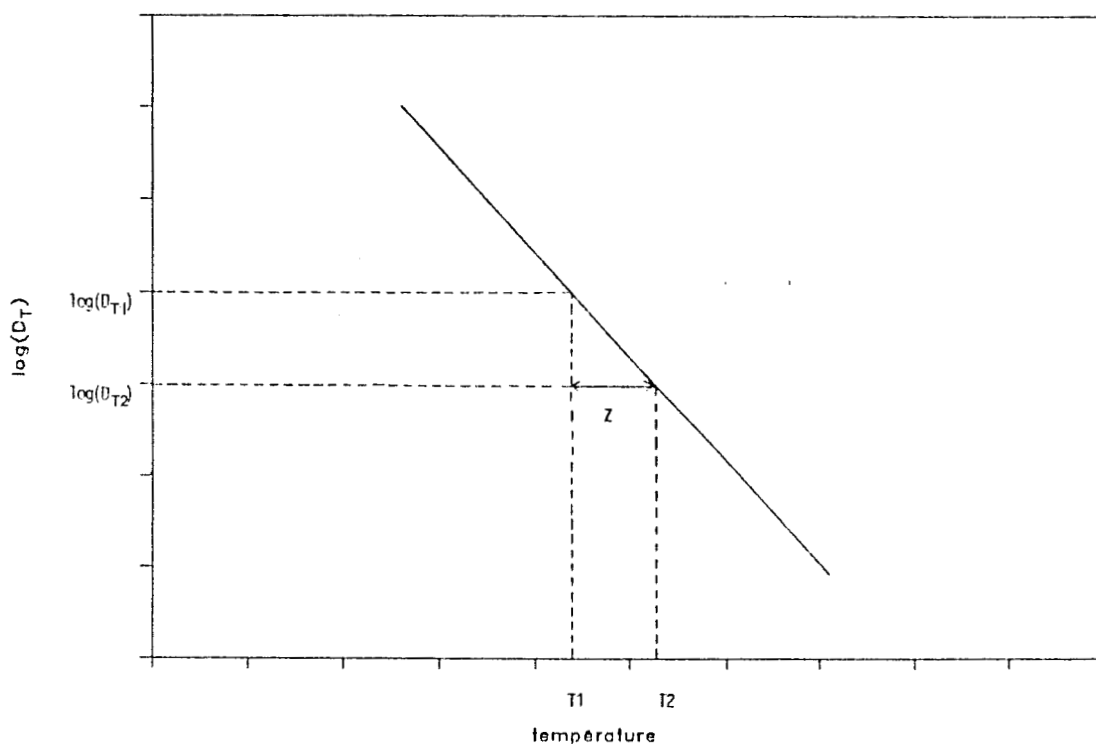


FIGURE 5 : Courbe de destruction thermique.

L'inverse de la pente de la droite : z , correspond à l'augmentation de température nécessaire pour diminuer le temps de réduction décimale (D_T) de 90 %.

L'équation de la droite TDT est :

$$\log(D_{T1}/D_{T2}) = (T_2 - T_1)/z$$

2.2. Facteurs affectant la thermorésistance des microorganismes

=====

La destruction des microorganismes par la chaleur dépend d'un certain nombre de facteurs. Outre les caractères de résistance propre à l'espèce et à la souche considérées, les conditions de développement avant traitement thermique, les caractères du milieu dans lequel les microorganismes sont chauffés et les conditions de développement après traitement thermique ont également une influence (Stumbo 1973, Hansen et Rieman 1963, Cheftel J.C. et Cheftel H. 1977, Sainclivier 1986).

2.2.1. Résistance spécifique des microorganismes

La thermorésistance varie selon les espèces et peut également varier selon les souches d'une même espèce.

Les germes sporulés sont toujours beaucoup plus résistants que les formes végétatives. La raison de cette thermorésistance élevée n'est pas complètement connue, cependant la grande stabilité des composants du cytoplasme et en particulier celle des protéines pourrait expliquer cette thermorésistance élevée. La déshydratation du cytoplasme et la formation de liaisons entre les ions calcium, l'acide dipicolinique et les protéines seraient à l'origine de l'importante stabilité des protéines (Davies 1977, Bradbury et al. 1981, Gombas 1983).

La thermorésistance des microorganismes est généralement en relation avec leur température optimale de croissance.

Les thermophiles sont plus résistants que les mésophiles et les psychrotrophes (Allwood et Russel 1970, Sainclivier 1986). Ces différences pourraient s'expliquer par la présence de constituants plus stables à la chaleur chez les thermophiles que chez les psychrotrophes.

Purohit et Stockes (1967) ont montré que les bactéries psychrotrophes possédaient des enzymes plus thermosensibles que les bactéries mésophiles.

Pace et Campbell (1967) ont observé que les ribosomes d'un bon nombre de germes thermophiles étaient plus stables que ceux des mésophiles.

Robison et Morita (1966) (cités par Allwood et Russel 1970) ont montré que la paroi cellulaire des germes psychrotrophes était très sensible à la chaleur humide.

Les germes Gram + sont plus thermorésistants que les germes Gram -. La raison de cette différence n'est pas encore connue, elle est probablement liée à la structure de la paroi (Allwood et Russel 1970).

Les cellules jeunes sont parfois plus thermosensibles que les cellules âgées. Certains auteurs ont en effet observé une corrélation entre l'âge et la thermorésistance des cellules végétatives : la thermorésistance est plus élevée pendant les phases de latence et stationnaire et elle est plus faible pendant la phase logarithmique de croissance (Hansen et Rieman 1963, Sainclivier 1986).

2.2.2. Influence des conditions de développement avant

traitement thermique

Un certain nombre d'études ont montré que la thermorésistance peut être influencée par les conditions de développement avant traitement thermique, mais il n'y a pas à ce propos de règle générale (Cheftel J.C. et Cheftel H. 1977).

La température de croissance avant traitement thermique peut avoir une influence. D'une manière générale, la thermorésistance maximale est observée pour les suspensions incubées à une température proche de la température optimale de croissance (Stumbo 1973).

Le milieu dans lequel se développe le germe peut également avoir un effet sur la thermorésistance ultérieure. Ceci a été montré nettement pour les spores : une augmentation de la concentration en ions calcium dans le milieu de croissance augmente la thermorésistance des spores. A l'opposé une forte concentration en ions phosphates diminue sensiblement la thermorésistance (Cerf et al. 1988).

2.2.3. Influence de la nature du milieu dans

lequel les microorganismes sont chauffés

Certains facteurs d'environnement peuvent influencer la thermorésistance des microorganismes. Les plus importants sont le pH et l'activité de l'eau. D'autres facteurs interviennent tels que les matières grasses, les sels, les protéines mais leur action n'est pas très bien connue et varie selon les espèces.

- pH

La thermorésistance est généralement maximale à un pH voisin de la neutralité (Stumbo 1973, Hansen et Rieman 1963). Ceci est lié à la dénaturation des protéines qui augmente quand le pH augmente ou diminue. Il peut être intéressant de diminuer le pH des produits de manière à modérer les traitements thermiques. Pour les filets et les charcuteries de poisson destinés à être cuits sous vide, le pH est généralement voisin de la neutralité. Il présente donc peu d'intérêt.

- activité de l'eau (aw)

La thermorésistance augmente avec la diminution de l'activité de l'eau. Une activité de l'eau réduite se traduit par une hydratation plus faible des protéines ce qui a pour conséquence d'augmenter leur stabilité.

La thermorésistance des spores est maximale pour des valeurs d'aw voisines de 0,3 (Cerf et al. 1988, Angelotti 1968, Murell et Scott 1966).

Pour les formes végétatives, la thermorésistance est maximale pour des valeurs d'aw comprises entre 0,7 et 0,8 (Gibson 1973, Hsieh 1976).

Dans les préparations à base de produits de la mer les valeurs d'aw élevées devraient faciliter la destruction des microorganismes.

- Autres facteurs

Plusieurs études ont montré un effet protecteur des matières grasses sur les microorganismes.

Il est maintenant bien établi que dans une huile complètement exempte d'eau, la thermorésistance est nettement plus élevée qu'en milieu aqueux. Thuillot et al. (1968) ont montré que la résistance à la chaleur de *Staphylococcus aureus* n'est différente de celle mesurée en milieu aqueux, que si l'huile est complètement exempte d'eau.

De même, Senhaji et al. (1976) ont construit un modèle mathématique qui montre qu'un effet protecteur peut exister dans les systèmes huile/eau à condition que les microorganismes soient dans l'huile, et qu'il n'y ait pas de diffusion de l'eau dans l'huile.

Les microorganismes emprisonnés dans les particules de matières grasses deviennent plus thermorésistants du fait d'une humidité relative plus faible dans la particule.

Dans les produits type charcuterie de poisson, les matières grasses sont émulsionnées et la taille des particules est telle que l'effet protecteur est très improbable. (Senhaji et al. 1976).

D'autres constituants peuvent avoir un effet sur la thermorésistance. Certaines épices diminueraient la thermorésistance des microorganismes (Rozier et al. 1985). Les protéines par contre auraient un effet protecteur (Hansen et Rieman 1963).

En conclusion, les effets du milieu sur la résistance des microorganismes à la chaleur sont insuffisamment connus. Tous les facteurs interviennent, c'est pourquoi la thermorésistance doit être étudiée dans le produit que l'on se propose de traiter.

2.2.4. Influence des conditions de croissance

après traitement thermique

L'étude de la thermorésistance est basée sur la numération des survivants. Or les microorganismes survivant à un traitement thermique peuvent être lésés et exiger des conditions particulières de culture pour que leur viabilité puisse être démontrée.

Selon la température d'incubation et le milieu de culture utilisé, le nombre de cellules viables peut être différent. Ceci a été montré par un certain nombre d'auteurs :

Beuchat et Lechowish (1968) ont observé que la température d'incubation avait une influence sur le comportement de *Streptococcus faecalis*. Après traitement thermique : le nombre maximal de survivants est observé quand la température d'incubation est voisine de la température optimale de croissance.

Moats (1971), Craven (1983), Dabbah et al. (1971) ont obtenu des courbes de survie différentes selon les milieux de culture utilisés pour *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus faecium*.

2.2.5. Conclusion

La survie des microorganismes après chauffage n'est pas une simple notion mathématique, de nombreux facteurs interviennent. Ce sont probablement les caractères du milieu dans lequel les microorganismes sont chauffés qui ont le plus d'influence sur la thermorésistance. C'est pourquoi les expérimentations doivent être faites sur le produit que l'on veut traiter. Le tableau 2 donne les paramètres de thermorésistance D_T et z de quelques microorganismes sporulés et non sporulés dans différents milieux.

	D_T (min)	Z (°C)	MILIEU	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE
<i>Staphylococcus aureus</i>	$D_{60} = 2,2$	6,8	volaille	Spencer 1967
	$D_{60} = 20$	19,46	poisson à l'huile	Gaze 1985
	$D_{60} = 2,2$	6,8	eau	Gaze 1985
	$0,2 < D_{65,5} < 2$	4,4 - 6,6	divers aliments	Stumbo 1973
<i>Salmonellae sp.</i>	$0,39 < D_{60} < 0,4$	5,6	volaille	Spencer 1967
	$D_{60} = 0,9$	--	boeuf	Craven 1982
	$D_{60} = 0,87$	7,4	dindon	Cotterill et al. 1977
<i>Salmonella Seftenberg</i>	$0,02 < D_{65} < 0,2$	4,4 - 5,5	divers aliments	Stumbo 1973
	$9,2 < D_{60} < 9,9$	6,38 - 6,7	volaille	Spencer 1967
	$0,8 < D_{65} < 1$	4,4 - 6,6	divers aliments	Stumbo 1973
<i>Streptococcus faecalis</i>	$10,5 < D_{60} < 15,3$	6,83	divers aliments	Spencer 1967
	$D_{60} = 11,25$	6,83	pâté de thon	Ott et al. 1960
	$D_{60} = 11,25$	--	pâté de poisson	Ott et al. 1960
	$D_{60} = 3,37$	8,45	tarpon	Magnus et al. 1986
	$D_{60} = 6,38$	4,1 - 8,7	bouillon de jambon	Magnus et al. 1986
	$10,5 < D_{60} < 15,3$	6,83	divers aliments	Spencer 1967
<i>Streptococcus faecium</i>	$17 < D_{60} < 34$	7 - 9,3	tarpon	Magnus et al. 1986
	$17 < D_{60} < 36,5$	9,6 - 12,8	bouillon de jambon	Magnus et al. 1986
STREPTOCOQUES	$D_{60} = 25,58$	10,38	viande salée	Reichert et al. 1981
LACTOBACILLES	$D_{60} = 2,62$	8,65	viande salée	Reichert et al. 1981
<i>Escherichia coli</i>	$D_{60} = 12,5$	10,2	lait	Spencer 1967
	$D_{62} = 7$	4,5	eau	Cerf et al. 1988
<i>Yersinia enterocolitica</i>	$D_{55} = 1,5$	--	lait écrémé	Hanna et al. 1977
	$D_{63} = 0,3$	--	eau	Cerf et al. 1988
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	$D_{50} = 0,94$	4,15	tarpon	Senhaji et al. 1977
	$D_{60} = 53$	19	huile sèche	Senhaji et al. 1977
PSEUDOMONAS	$1 < D_{55} < 4$	--	non précisé	Rozier et al. 1985
<i>Clostridium botulinum B (spores)</i>	$0,49 < D_{82} < 0,74$	6,1 - 8,3	crabe	Lynn et al. 1977
	$D_{77} = 1,7$	--	eau	Cerf et al. 1988
<i>Clostridium botulinum A et B (spores)</i>	$0,1 < D_{121} < 3$	5 -- 8,8	divers aliments	Stumbo 1973
	$D_{90} = 200$	--	non précisé	Rosset et al. 1986
	$0,1 < D_{121} < 0,2$	7,7 - 10	divers aliments	Stumbo 1973
<i>Clostridium perfringens (spores)</i>	$D_{90} = 145$	--	non précisé	Rozier et al. 1986

TABLEAU 2 : Paramètres de thermorésistance de quelques microorganismes.

3 - NOTION DE VALEUR PASTEURISATRICE

PRINCIPE DU CALCUL DES BAREMES DE CUISSON/PASTEURISATION

Les barèmes de cuisson / pasteurisation des plats cuits sous vide sont calculés selon le même principe que les barèmes de stérilisation.

Tout d'abord on définit la valeur pasteurisatrice à appliquer. Elle correspond au temps de chauffage nécessaire à une température de référence constante $T_{Réf}$, pour obtenir le taux de destruction souhaité d'un microorganisme donné. Conventionnellement, on la note : $P_{T_{Réf}}^z$ (Rosset 1986).

Elle est définie par la relation :

$$P_{T_{Réf}}^z = \log(N_0/N) \cdot D_{T_{Réf}}$$

- . $D_{T_{Réf}}$ et z sont les paramètres de thermorésistance du germe de référence.
- . N_0 correspond au nombre de germes au temps $t = 0$ et N correspond au nombre de germes au temps t .
- . $\log(N_0/N)$ représente le taux de destruction.
- . $T_{Réf}$ est la température de référence à laquelle est définie la valeur pasteurisatrice.

Le principe du calcul de la valeur pasteurisatrice d'un traitement est le suivant :

- quand la température du produit à pasteuriser est constante en tout point dans le temps, la valeur pasteurisatrice est définie par la relation suivante :

$$P_{T_{Réf}}^z = t \cdot 10^{(T - T_{Réf})/z}$$

- Dans la majorité des cas, la température à coeur des produits (au point le plus lent à chauffer) varie dans le temps. Pour calculer la valeur pasteurisatrice, on décompose le traitement thermique global, en une succession de traitements de durée dt, durant lesquels la température est considérée constante. La valeur pasteurisatrice globale est donnée par la relation suivante :

$$P_{T_{ref}}^z = \int_0^{\infty} dP_{T_{ref}}^z = \int_0^{\infty} 10^{(T-T_{ref})/z} . dt$$

Dans cette relation, il y a 2 variables , le temps et la température. Quand la relation qui lie les deux est connue mathématiquement, la valeur pasteurisatrice peut être déterminée par résolution mathématique de l'intégrale, sinon on utilise la méthode générale de Bigelow.

Cette dernière méthode, applicable quelle que soit l'allure de la pénétration de chaleur à coeur du produit, est la plus utilisée. Le principe de la méthode consiste à décomposer le traitement thermique global, à température variable, en une succession de traitements thermiques de brève durée durant lesquels on considère que la température est constante. La valeur pasteurisatrice partielle de chaque traitement est donnée par la relation :

$$p_{T_{ref}}^z = t . 10^{(T-T_{ref})/z}$$

La somme des valeurs pasteurisatrices partielles permet d'obtenir la valeur pasteurisatrice totale.

$$P_{T_{ref}}^z = \sum p_{T_{ref}}^z$$

4 - ORIENTATION DES ESSAIS

L'utilisation de plats cuits sous vide à base de produits de la mer pouvant se conserver plusieurs semaines à basse température se développe rapidement aussi bien dans le secteur de la restauration que dans celui de la grande distribution. Cependant, les risques microbiologiques que présentent ces produits ne sont pas évalués.

Afin de limiter ces risques et d'avoir des plats dont la qualité reste satisfaisante après plusieurs semaines de conservation, il est nécessaire que la cuisson soit effectuée de manière à détruire les formes végétatives des bactéries en proportion convenable et que les produits soient maintenus à basse température ($\leq +3^{\circ}\text{C}$) pour éviter le développement des germes sporulés dangereux pour le consommateur, en particulier celui de *Clostridium botulinum E*.

Compte tenu de ce qui précède, le but de notre étude a été de déterminer les conditions optimales de cuisson et de conservation des produits de la mer cuits sous vide. Nous avons axé l'étude sur deux principaux points :

- La détermination des valeurs pasteurisatrices minimales à appliquer pour détruire les formes végétatives des bactéries en proportion satisfaisante. Pour cela, nous avons sélectionné deux types de produits :
 - . du lieu noir, fréquemment utilisé dans les plats cuisinés sous vide.
 - . une gamme de terrines de poisson.

Après avoir étudié les flores de contamination et sélectionné les germes les plus thermorésistants, nous avons déterminé les paramètres de thermorésistance des germes les plus représentatifs de la microflore bactérienne de ces produits.

- Nous avons dans une seconde étape, travaillé sur l'étude de la conservation de filets et terrines de poisson cuits sous vide. Nous avons étudié l'influence de deux paramètres :

- . La température de conservation. La législation impose de conserver les produits à une température inférieure à $+3^{\circ}\text{C}$. Or il est rare que les produits soient maintenus à cette température pendant toute la durée de conservation. Il nous a donc paru intéressant d'étudier l'influence de la température de conservation sur le développement des germes thermorésistants.

- . Le traitement thermique. Les barèmes, tels qu'ils sont pratiqués en cuisson sous vide, n'assurent pas la destruction des formes sporulées. Cependant le traitement peut léser les spores et les rendre dormantes pendant un temps variable selon le barème appliqué. Nous avons donc étudié l'influence du traitement sur le développement des germes sporulés.

PREMIERE PARTIE :
MATERIEL ET METHODES

I - ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

1.1. Dénombrements

1.1.1. Les milieux de culture

1.1.1.1. Les milieux solides

Les milieux utilisés pour le dénombrement des différentes flores ont été les suivants :

- germes aérobies mésophiles :
gélose standard pour dénombrement Plate Count Agar, PCA (Merck).
- germes aérobies psychrotrophes halophiles modérés :
PCA (Merck) préparé avec de l'eau salée à 3,5 %. Cette teneur correspond à celle de l'eau de mer.
- germes sporulés aérobies mésophiles :
PCA (Merck). La sélection des formes sporulées a été basée sur les propriétés de thermorésistance des spores.
- germes anaérobies mésophiles :
gélose viande levure (VL) à 1,5 % (Diagnostic Pasteur).
- entérobactéries :
gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBG) (Merck).
- lactobacilles :
gélose de Man, Rogosa et Sharpe (MRS) (Diagnostic Pasteur).
- streptocoques fécaux :
gélose à la bile, esculine, azide (BEA) (Diagnostic Pasteur).
- staphylocoques / microcoques :
gélose Baird Parker (BP) (Merck), additionnée de jaune d'oeuf au tellurite de potassium.
- anaérobies sulfite-réducteurs :
gélose à la sulfadiazine Polymyxine Sulfite (SPS) selon Angelotti (Diagnostic Pasteur).

1.1.1.2. Les milieux liquides

- Diluant tryptone sel

Ce milieu est composé de :

- 1 g de tryptone (Merck),
- 8,5 g de chlorure de sodium (Merck),
- 1 000 ml d'eau distillée.

- Bouillon coeur cerveau (Diagnostic Pasteur).

Il s'agit d'un milieu riche qui convient à la croissance de nombreux germes.

1.1.2. Techniques de dénombrement

1.1.2.1. Préparation de l'échantillon

- En ce qui concerne les prélèvements effectués pour les analyses microbiologiques des produits crus et cuits sous vide, la démarche a été la suivante : 10 g de produit à analyser ont été prélevés aseptiquement et déposés dans un sac stomacher, puis 40 ml de diluant ont été ajoutés de manière à obtenir une solution mère diluée au 1/5. Le broyage a ensuite été effectué au broyeur Stomacher.
- Pour les prélèvements effectués dans le cadre des mesures de thermorésistance, la technique utilisée est détaillée plus loin (cf. para. 5.4.).

1.1.2.2. Ensemencement

L'ensemencement des milieux a été réalisé directement ou non après la préparation de l'échantillon, en fonction des produits et des germes à dénombrer :

- pour les produits ayant subi un traitement thermique, la solution mère a été laissée 40 minutes à la température du laboratoire avant ensemencement pour permettre aux germes de recouvrer leur potentiel de croissance.

- pour les produits crus, l'ensemencement a été réalisé immédiatement après la préparation de l'échantillon.
- pour le dénombrement des germes sporulés, 10 ml de solution mère ont été prélevés et chauffés 10 minutes à 80°C dans un tube à essai, de manière à détruire les formes végétatives.

Plusieurs techniques d'ensemencement ont été utilisées :

- ensemencement en surface, en profondeur ou en double couche.
- ensemencement classique à la pipette ou à l'ensemenceur Spiral.

Le tableau 3 donne les conditions d'ensemencement des différents milieux, selon les flores ou germes à mettre en évidence.

1.1.2.3. Incubation

Après ensemencement, les boîtes et tubes ont été mis à incuber en aérobiose ou en anaérobiose. Les conditions d'incubation sont décrites dans le tableau 3.

1.1.2.4. Numération

Après incubation, les colonies ont été dénombrées. Le tableau 3 donne l'aspect des colonies dénombrées dans les différents milieux.

FLORE OU GERMES RECHERCHES	MILIEU	TECHNIQUE D'ENSEMENCEMENT	CONDITIONS D'INCUBATION	COLONIES DENOMBRÉES
FLORE AEROBIE MESOPHILE TOTALE	PCA	ENSEMENCEMENT SUR BOITE DE PETRI EN PROFONDEUR OU EN SURFACE	72 h à 30°C EN AEROBIOSE	TOUTES
FLORE AEROBIE PSYCHROTROPHE	PCA	ENSEMENCEMENT SUR BOITE DE PETRI EN PROFONDEUR OU EN SURFACE	10 JOURS A 8°C EN AEROBIOSE	TOUTES
FLORE ANAEROBIE MESOPHILE TOTALE	VL 1,5 %	ENSEMENCEMENT SUR BOITE DE PETRI EN DOUBLE COUCHE	72 h A 30°C EN ANAEROBIOSE	TOUTES
GERMES SPORULES AERO-ANAEROBIES MESOPHILES	PCA	ENSEMENCEMENT SUR BOITE DE PETRI EN PROFONDEUR OU EN SURFACE	72 A 120 h A 30°C EN AEROBIOSE	TOUTES
ANAEROBIES SULFITO REDUCTEURS	SPS	ENSEMENCEMENT EN TUBE EN PROFONDEUR	24 h A 46°C EN AEROBIOSE	COLONIES ENTOLREES D'UNE AUREOLE NOIRE
ENTEROBACTERIES	VREG	ENSEMENCEMENT SUR BOITE DE PETRI EN DOUBLE COUCHE	24 h A 30°C EN AEROBIOSE	COLONIES ROUGES AYANT UN DIAMETRE D'AU MOINS 0,5 mm
STREPTOCOCCOQUES FECALIS	BEA	ENSEMENCEMENT SUR BOITE DE PETRI	24 h A 48 h A 37°C EN AEROBIOSE	COLONIES ENTOLREES D'UNE AUREOLE NOIRE
LACTOBACILLES	MKS	ENSEMENCEMENT SUR BOITE DE PETRI EN DOUBLE COUCHE	24 A 48 h A 30°C EN ANAEROBIOSE	COLONIES A CONTOUR NETTE ET BLANCHATRE
STAPHYLOCOCCOQUES MICROCOCCOQUES	BP	ENSEMENCEMENT SUR BOITE DE PETRI EN SURFACE	24 A 48 h A 37°C EN AEROBIOSE	TOUTES LES COLONIES POUR LE DENOMBREMENT DES STAPHYLOCOCCOQUES MICROCOCCOQUES COLONIES NOIRES ENTOLREES D'UN HALO CLAIR POUR LE DENOMBREMENT DES STAPHYLOCOCCOQUES PATHOGENES

TABEAU 3 : Conditions d'ensemencement et d'incubation des différents milieux. Aspect des colonies dénombrées.

1.2. Identifications

=====

1.2.1. Les produits

- Galeries API 20 E pour l'identification des bacilles Gram - et plus spécifiquement pour l'identification des entérobactéries.
- Galeries API 20 NE pour l'identification des bacilles Gram - autres que les entérobactéries.
- Galeries API 20 STREP pour l'identification des streptocoques.
- Galeries API 50 CH pour l'identification des *Bacillus*.
- Milieu API M médium pour l'étude de la mobilité.
- Milieu API OF médium destiné à étudier l'attaque oxydative ou fermentative du glucose par les bactéries.
- Gélose MAC CONKEY au cristal violet (Diagnostic Pasteur), pour isoler les entérobactéries. Ce milieu a été utilisé car l'étude de la croissance sur cette gélose constitue un test d'identification complémentaire à la galerie API 20 E.
- Gélose viande levure 6 % (Diagnostic Pasteur), pour étudier le type respiratoire des bactéries.
- Gélose Columbia au sang frais (Diagnostic Pasteur) pour mettre en évidence le caractère hémolytique.
- Réactif OX de chez API pour la recherche de l'oxydase.
- Eau oxygénée pour la recherche de la catalase.
- Plasma de lapin (Diagnostic Pasteur) pour la recherche de la coagulase.

- Gélose à ADN et au bleu de toluidine (Diagnostic Pasteur) pour la recherche de la thermonucléase de *Staphylococcus aureus*.
- Réactifs nécessaire à la coloration de Gram.
- Les galeries API ont été utilisées pour rechercher la production d'acétoïne et mettre en évidence l'utilisation des nitrates et la phosphatase chez les micrococcaceae.

1.2.2. Techniques d'identification

Les identifications ont porté sur des colonies isolées de milieux sélectifs ou non, et ayant résisté à un traitement thermique.

- Les colonies caractéristiques obtenues sur BEA ont été repiquées sur gélose Columbia au sang frais avant d'être ensemencées sur les galeries d'identification des streptocoques.
- Les colonies caractéristiques obtenues sur VRBG ont été ensemencées sur les galeries d'identification des entérobactéries.
- Pour identifier les staphylocoques présumés pathogènes, isolés sur Baird Parker, les tests suivants ont été effectués : recherches de la coagulase, de la thermonucléase et de la phosphatase.
- Pour caractériser les genres ou groupes de genres des germes correspondant à des colonies isolées sur PCA, les tests ou examens suivants ont été réalisés :
 - . examen de la colonie : pigmentation, aspect,
 - . examen microscopique de la bactérie,
 - . test de la catalase,
 - . test de l'oxydase,
 - . type respiratoire pour les coques Gram +, .
 - . mobilité pour les bacilles et coccobacilles Gram +.Ce test a été réalisé avec le milieu API M médium et par observation microscopique.

Ensuite pour identifier précisément les espèces, nous avons procédé de la manière suivante :

- les bacilles et les coccobacilles Gram - ont été ensemencés sur les galeries API 20 E et API 20 NE.
- les bacilles Gram +, catalase +, sporulés, ont été ensemencés sur les galeries API 50 CH.
- les coques Gram +, en amas, catalase +, ont été identifiés comme appartenant à la famille des micrococcaceae.

Pour déterminer les espèces, les caractères suivants ont été observés :

- . fermentation du glucose,
- . phosphatase,
- . type respiratoire,
- . production d'acétoïne,
- . utilisation des nitrates.

2 - ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

- Le dosage de l'azote basique volatil total a été réalisé selon la méthode de Conway pour évaluer l'état de fraîcheur des poissons crus.
- Les analyses physico-chimiques suivantes ont été effectuées sur le lieu noir et la terrine Saint Jacques utilisés pour l'étude de la thermorésistance des germes :
 - * dosage des protéines selon la méthode de Kjeldahl à l'aide d'un kjeltec (Técator).
 - * dosage des matières grasses totales par extraction à l'hexane à l'aide d'un Soxhlet (Técator).
 - * dosage des chlorures à l'aide d'un chlorimètre Corning.
 - * mesure du taux d'humidité à l'aide d'un humidimètre Sartorius à rayonnement infra-rouge.
 - * mesure de l'activité de l'eau (aw) à l'aide d'un hygromètre électrique thermostaté (Novasina).

3 - ANALYSES SENSORIELLES

~~~~~

Des analyses sensorielles ont été effectuées sur les filets de poisson cuits sous vide. Celles-ci ont été réalisées par le personnel du laboratoire. L'odeur du poisson froid à l'ouverture du sac a été notée et les produits ont été dégustés après réchauffage au bain marie à 90°C pendant 15 minutes.

### 4 - PROTOCOLE EXPERIMENTALE DE SELECTION

~~~~~

DES GERMES LES PLUS THERMORESISTANTS

~~~~~

La matière première utilisée a été du lieu noir entier et en filet et des terrines de poisson.

#### 4.1. LIEU NOIR

=====

- les poissons entiers ont été prélevés à des périodes différentes, le jour même de leur débarquement. Ils avaient en général 3 à 5 jours de conservation sous glace et ils avaient été éviscérés à bord des bateaux.
- les filets ont été prélevés dans 3 ateliers de filetage, à des périodes différentes, le jour même du filetage. Des filets de fraîcheur différentes ont été prélevés. Dans 2 des 3 ateliers le filetage était manuel, dans le troisième, il était mécanique.
- pour chaque échantillon, l'ABVT a été dosé et une suspension de chair diluée au 1/5 a été préparée selon la technique décrite paragraphe 1.1.2.1. Une partie de la suspension a été utilisée pour l'étude de la microflore des produits crus ; les flores et germes suivants ont été recherchés :
  - flore aérobie mésophile totale,
  - flore aérobie psychrotrophe,
  - entérobactéries,
  - microcoques / staphylocoques,
  - staphylocoques pathogènes,
  - streptocoques fécaux,
  - lactobacilles,
  - germes sporulés aérobies mésophiles,
  - anaérobies sulfito-réducteurs.

L'autre partie a été utilisée pour sélectionner et identifier les germes les plus thermorésistants. Pour cela, 5 ml de suspension ont été répartis dans des tubes à essai, à raison de 4 tubes par suspension. Les tubes ont été placés au bain marie et des prélèvements ont été effectués après 15 et 60 minutes de chauffage à 60°C et après 10 et 20 minutes à 70°C. Immédiatement après chauffage, les tubes ont été refroidis.

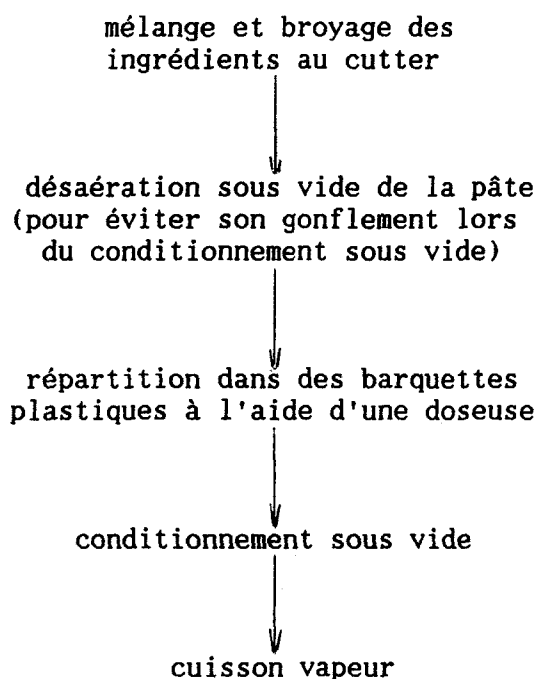
Les flores aérobies mésophile et psychrotrophe ont été dénombrées et les germes thermorésistants ont été identifiés. Les identifications ont porté uniquement sur les germes isolés des muscles de lieu noir entier afin de ne sélectionner que des germes spécifiques au poisson.

#### 4.2. TERRINES DE POISSON

=====

Le travail a été réalisé sur une gamme de 3 terrines en collaboration avec une entreprise. Toutes les terrines étaient composées de 50 % de filets d'églefin, lactoprotéines, crème fraîche, beurre concentré, fumet de poisson, blanc d'oeuf, farine, sel, épices et aromates. A ces ingrédients communs à toutes les terrines, s'ajoutaient 15 % de saumon pour les terrines au saumon, de noix de Saint-Jacques pour les terrines Saint-Jacques, d'églefin et de légumes déshydratés pour les terrines de poisson aux légumes.

Le schéma de fabrication des terrines était le suivant :



Les prélèvements ont été réalisés dans la doseuse et les échantillons ont été laissés dans l'atelier de fabrication jusqu'au démarrage de la cuisson.

Pour chaque échantillon, une suspension de terrine diluée au 1/5 a été préparée selon la technique décrite paragraphe 1.1.2.1.. Ces suspensions ont été utilisées en partie pour l'étude de la microflore des terrines crues; les flores et germes suivants ont été dénombrés :

- flore aérobie mésophile totale,
- staphylocoques pathogènes,
- entérobactéries,
- streptocoques fécaux,
- germes sporulés aérobies mésophiles,
- anaérobies sulfito-réducteurs.

Les germes les plus thermorésistants ont ensuite été sélectionnés et identifiés. Pour cela, 3 suspensions correspondant à chacun des 3 types de terrines ont été réparties dans des tubes à essai, à raison de 5 ml par tube et de 5 tubes par suspension. Les tubes ont été placés au bain marie à 70°C et des prélèvements ont été réalisés après 5, 15, 25, 35 et 45 minutes de chauffage. La flore aérobie mésophile totale, les entérobactéries et les streptocoques fécaux ont été dénombrés. Les germes thermorésistants ont ensuite été identifiés.

## 5 - MESURE DES PARAMETRES DE THERMORESISTANCE

La mesure des paramètres de thermorésistance a été effectuée selon la méthode des tubes à essais décrite par Cheftel en 1963.

Les temps de réduction décimale ( $D_T$ ) ont été déterminés à partir des courbes de survie :  $\log(N) = f(t)$ . Les valeurs de  $z$  ont été obtenues à partir des courbes de destruction thermique :  $\log(D_T) = f(T)$ .

### 5.1. Matériel

=====

- TDT tubes : ils ont été obtenus à partir de baguettes de verre borosilicaté de diamètre extérieur 10 mm et d'épaisseur 1 mm. Les cannes ont été coupées en tronçons de 10 à 12 cm dont l'une des extrémités a été fermée à la flamme. Les tubes ainsi préparés ont ensuite été stérilisés.
- centrifugeuse.
- bain d'eau chauffé électriquement muni d'un régulateur de température au 1/10°C et d'une pompe de circulation d'eau.
- thermomètre à mercure.
- thermomètre à sonde silicium et à affichage électronique de la température au 1/10°C.
- chronomètre gradué au cinquième de seconde.
- bain d'eau froide à 0/+5°C.



## 5.2. Milieux

=====

Les thermorésistances ont été mesurées dans du lieu noir, une terrine de poisson et du tampon phosphate M/15 préparé en mélangeant des solutions M/15 de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  et  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

## 5.3. Souches

=====

6 souches ont été étudiées :

- *Pseudomonas paucimobilis*,
- *Pseudomonas putida*,
- *Micrococcus varians*,
- *Streptococcus faecium*,
- *Staphylococcus aureus*,
- *Yersinia enterocolitica*.

Les différentes souches ont été isolées dans notre laboratoire.

Les 3 premiers germes ont été choisis car ils font partie des germes non sporulés les plus thermorésistants de la flore spécifique du poisson.

*Streptococcus faecium* a été sélectionné car il correspond au germe non sporulé le plus thermorésistant isolé des terrines de poisson.

Enfin, *Staphylococcus aureus* et *Yersinia enterocolitica* qui sont deux germes pathogènes, ont été retenus car ils ont été isolés plusieurs fois de filets de poisson et de terrines crus.

Les souches ont été conservées à  $0/+3^\circ\text{C}$  et repiquées tous les deux mois sur gélose inclinée.

#### 5.4. Protocole expérimental

=====

##### - Préparation de la suspension

Une colonie isolée a été repiquée sur bouillon coeur cervelle et l'ensemble a été mis à incuber 24 heures à 37°C ou 48 heures à 20°C ou 30°C, selon la température optimale de croissance des germes.

Après incubation, les germes ont été récupérés par centrifugation (10 000 g pendant 10 minutes), puis lavés 3 fois dans 10 ml de tampon phosphate. Le dernier culot a été mis en suspension dans 10 ml de tampon phosphate. Le nombre de germes obtenus par ml a été dénombré à la cellule de Thoma.

##### - Inoculation des tubes

En ce qui concerne le tampon phosphate, la suspension de germes a étéensemencée de manière à avoir  $10^5$  à  $10^6$  germes/ml de tampon. Après ensemencement, l'inoculum a été réparti dans les tubes TDT stériles à raison de 1,5 ml/tube.

Pour le lieu noir et la terrine de poisson, 1,6+/- 0,1 g de produit broyé ont été répartis dans les tubes TDT à l'aide d'une seringue.

Un certain volume de la suspension a été introduit dans les tubes préalablement stérilisés, à l'aide d'une micropipette, de manière à avoir  $10^5$  à  $10^6$  germes/g. Ensuite, la suspension a été mélangée au milieu à l'aide d'un fil droit.

##### - scellage des tubes

Après ensemencement, les tubes ont été scellés à la flamme.

##### - chauffage et refroidissement

Des essais préliminaires ont été réalisés pour chaque souche et chaque milieu, afin de délimiter les plages de températures à étudier et de déterminer approximativement  $D_T$  et  $z$ . Ensuite, pour chaque souche et chaque milieu, 3 températures au moins ont été étudiées.

12 à 14 prélèvements de tubes ont été effectués par température, à des temps différents, et à raison de 2 à 3 tubes par prélèvement. L'intervalle de temps entre les prélèvements a été choisi de telle sorte que la population bactérienne soit réduite d'un peu moins de 90 %.

Lors du chauffage, les tubes étaient complètement immergés et dès que le temps de chauffage était écoulé, les tubes étaient sortis du bain et plongés immédiatement dans de l'eau à 0/+5°C.

#### - ouverture et repiquage des tubes

Après refroidissement, les tubes ont été laissés 20 minutes environ à la température du laboratoire pour favoriser la croissance ultérieure des germes. Ils ont ensuite été ouverts stérilement et le nombre de germes survivants a été dénombré par ensemencement de milieux de culture appropriés.

En ce qui concerne le tampon phosphate, l'ensemencement a été réalisé directement sur boîtes de Petri. Pour le lieu noir et la terrine de poisson, 1 g du contenu des tubes a été dilué dans du diluant stérile avant d'être ensemencé.

Les boîtes de Petri ensemencées ont été mises à incuber à 37°C pendant 48 heures, à 30°C pendant 72 heures ou à 20/25°C pendant 96 à 120 h. Les conditions d'incubation dépendaient de la température optimale de croissance des germes.

#### - correction des durées de chauffage

Les durées de chauffage ont été corrigées en tenant compte du délai nécessaire pour porter le contenu des tubes à la température du milieu chauffant, selon la technique décrite par Cheftel en 1963 :

Après avoir enregistré les courbes de pénétration de chaleur et de refroidissement dans les tubes, la valeur pasteurisatrice correspondant à ces courbes a alors été calculée selon la méthode de Bigelow en fonction des différentes valeurs de z.

Les corrections à apporter aux durées de chauffage ont été calculées en soustrayant aux durées de montée en température et de refroidissement la valeur pasteurisatrice correspondante (figure 6). Enfin les durées corrigées ont été obtenues en soustrayant à la durée réelle de chauffage les corrections à apporter (tableau 4).

| Z (°C) | PRODUIT LIQUIDE | PRODUIT SOLIDE |
|--------|-----------------|----------------|
| 4      | 0,85            | 1,21           |
| 4,5    | 0,82            | 1,17           |
| 5      | 0,79            | 1,14           |
| 5,5    | 0,76            | 1,11           |
| 6      | 0,74            | 1,09           |
| 6,5    | 0,72            | 1,06           |
| 7      | 0,70            | 1,04           |
| 7,5    | 0,68            | 1,02           |
| 8      | 0,67            | 0,99           |
| 8,5    | 0,65            | 0,98           |
| 9      | 0,64            | 0,96           |
| 9,5    | 0,63            | 0,94           |
| 10     | 0,61            | 0,93           |

**TABLEAU 4** : Corrections en minutes, à déduire aux durées expérimentales de chauffage, en fonction de z et du milieu.

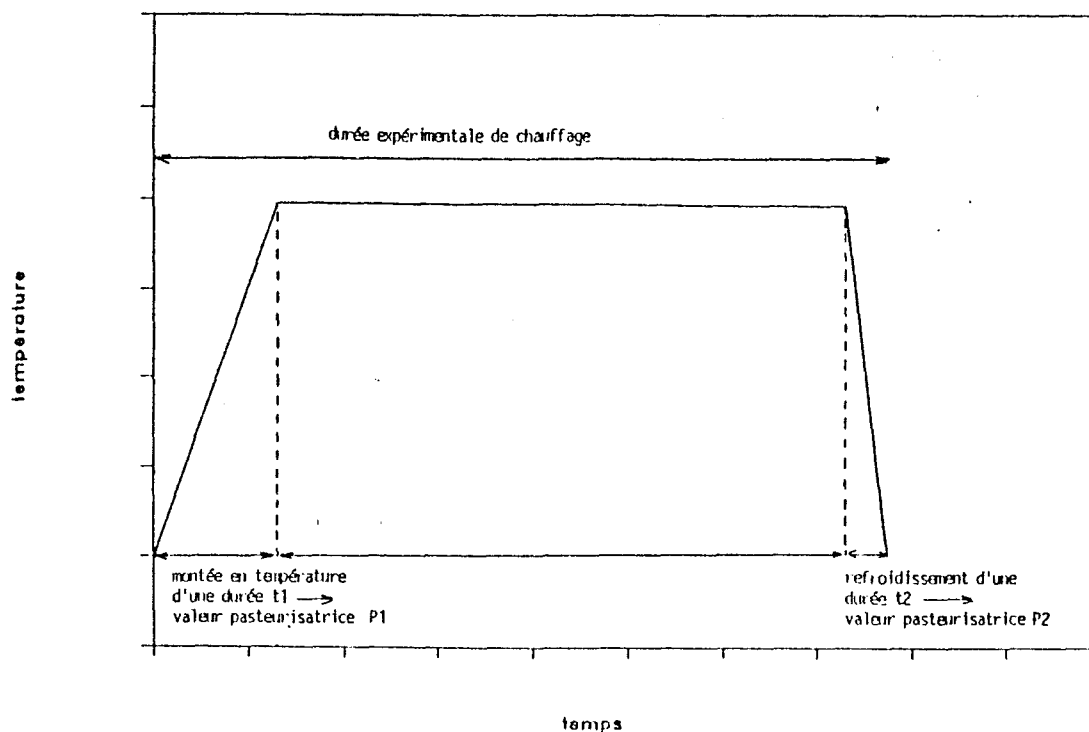


FIGURE 6 : Evolution de la température à coeur dans les tubes TDT.

$$\begin{aligned}
 \text{( Durée corrigée } &= \text{ durée expérimentale } - (t_1+t_2) + (P_1+P_2) \\
 &= \text{ durée expérimentale } - (t_1 + t_2 - P_1 - P_2) \\
 &= \text{ durée expérimentale } - \text{ correction } )
 \end{aligned}$$

- méthode de calcul de  $D_T$  et  $z$

Les valeurs du temps de réduction décimale  $D_T$  ont été calculées à partir des courbes de survie obtenues par régression linéaire. L'inverse de la pente de la droite de régression a donné  $D_T$ , au signe près.

De la même manière, les valeurs de  $z$  ont été calculées à partir des courbes de destruction thermique obtenues par régression linéaire. L'inverse de la pente de la droite de régression a donné  $z$ , au signe près. Afin de déterminer si les pentes des droites de regression différaient significativement ou pas une analyse statistique a été réalisée. Après avoir comparé les variances liées au moyen du test de Snedecor, nous avons admis que celles-ci étaient égales. La comparaison des pentes des droites de régression (les pentes ont été comparées deux par deux) a été réalisée par le test de Student (C.E.A. 1978).

## 6 - CUISSON SOUS VIDE ET CONSERVATION

### 6.1. Matière première

=====

Les essais ont été réalisés sur des terrines de poisson et sur 3 espèces de poisson:

- lieu noir
- cabillaud
- julienne

Ces 3 espèces ont été choisies car elles sont fréquemment utilisées dans les plats cuisinés sous vide.

### 6.2. Matériel

=====

- Cutter (Stephan)

Ce matériel a été utilisé pour broyer et mélanger les ingrédients nécessaires à la fabrication des terrines.

- Matériaux et matériel de conditionnement

\* supports et sacs :

Des barquettes plastiques en polyéthylène et des sacs plastiques en polyéthylène/polyamide ont été utilisés.

\* scelleuse sous vide ( Bernaert)

Il s'agissait d'une scelleuse dont l'intensité de vide était réglable jusque - 1 bar. C'est cette intensité de vide qui a servi pour tous les essais.

- four vapeur (Thyrodé)

Ce four vapeur, commandé par microprocesseur a permis de réaliser des cuissons où température et taux d'humidité relative étaient réglés.

Pour les essais, le four était préchauffé avant l'introduction des échantillons et le taux d'humidité relative de l'air a toujours été de 90/95%.

- bacs d'eau froide

Ils ont été utilisés pour permettre un refroidissement rapide des échantillons après cuisson.

- enceintes réfrigérées et ventilées

3 enceintes ont été utilisées pour permettre la conservation à +2, +4 ou +8°C des échantillons.

La régulation de ces enceintes se faisait à +/- 1°C autour de la température de consigne.

- enregistreur de température et calculateur de valeur pasteurisatrice  
(Ellab CMC 821)

Il s'agissait d'un appareil permettant :

- de mesurer et d'enregistrer les températures sur 15 canaux.
- de calculer les valeurs pasteurisatrices sur 12 canaux, en fonction des valeurs de consigne programmées,  $z$  et  $T_{REF}$ .

Les sondes et accessoires (Ellab) utilisés pour mesurer la température à coeur ont permis de maintenir le vide dans les sacs.

### 6.3. Schéma de fabrication

=====

- opérations préliminaires

. terrines

Les opérations ont été décrites paragraphe 4.2. La masse des échantillons de terrine était de 200 g.

. filets de poisson

+ des portions de 150 g ont été placées dans des barquettes plastiques à raison de 2 portions par barquette.

+ après la mise en sac, l'ensemble a été mis sous vide.

- cuisson et refroidissement

+ pour chaque cuisson, le temps a été établi en fonction des valeurs pasteurisatrices ou des températures à coeurs indiquées de manière constante sur le microprocesseur de température. 3 sondes ont été placées à coeur de produits différents et les cuissons ont été arrêtées quand l'échantillon qui avait la plus lente évolution de température atteignait la température à coeur où la valeur pasteurisatrice voulues.

+ au cours de chaque cycle de cuisson/refroidissement, les températures des enceintes de cuisson et de refroidissement ont été mesurées.

+ le refroidissement a toujours été réalisé immédiatement après cuisson de manière à atteindre 10°C à coeur en moins de 2 h, conformément à la réglementation.

6.4. Conservation

=====

Pour chaque essai, les suivis de conservation ont été réalisés à 2 températures. Les analyses ont été effectuées à un rythme d'une fois par semaine, sur 3 à 5 échantillons pour les filets et sur 2 échantillons pour les terrines.



DEUXIEME PARTIE :  
RESULTATS ET COMMENTAIRES

\*\*\*\*\*

\*\*\*\*\*  
 \*  
 - 1 - \* ETUDE MICROBIOLOGIQUE DES PRODUITS CRUS \*  
 \* ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES GERMES LES PLUS THERMORESISTANTS \*  
 \*  
 \*\*\*\*\*

Le but de cette étude a été de déterminer la nature des germes présents dans le lieu noir et les terrines de poisson et de sélectionner et identifier les germes les plus thermorésistants.

1.1. LIEU NOIR  
 ~~~~~

1.1.1. Etude microbiologique du lieu noir entier frais et en filet
 =====

Les résultats détaillés des analyses effectuées sur les muscles de lieu noir entiers sont présentés en annexe 1, ceux concernant les filets de poisson sont présentés en annexe 2.
 Dans les tableaux 5 et 6, nous n'avons repris que les moyennes et les valeurs extrêmes.

Dans les muscles des poissons entiers (tableau 5) nous n'avons jamais dénombré d'anaérobies sulfito-réducteurs, de lactobacilles, de streptocoques fécaux et de staphylocoques pathogènes.

Des germes sporulés aérobie ont été rencontrés, mais à des taux très faibles : moins de 10 germes/g, et seulement sur 10 % des échantillons.

Des entérobactéries et des microcoques / staphylocoques ont été dénombrés sur quelques échantillons : sur 25 % des échantillons, on a dénombré en moyenne 1 487 entérobactéries/g alors que sur 75 % des échantillons, le taux était toujours inférieur 50 germes/g. De même, on a dénombré en moyenne 577 microcoques / staphylocoques /g sur 29 % des échantillons alors que le taux était inférieur à 50/g pour 71 % des échantillons.

La majorité des germes qui contaminent les muscles de lieu noir entiers sont des bacilles et coccobacilles Gram -. Ces germes appartiennent aux genres *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Proteus* et *Vibrio* (Shewan 1977, Hobbs 1983).

	ABVT (mg d'azote / 100 g de chair)	FLORE AEROBIE MESOPHILE (/g)	FLORE AEROBIE PSYCHOTRO- PHE	MICROCOQUES STAPHYLOCO- QUES (/g)	STAPHYLOCO- QUES PATHO- GENES (/g)	ENTERO- BACTERIES (/g)	STREPTOCO- QUES FECALUX (/g)	LACTO - BACILLES (/g)	GERMES SPORULES AEROBIES MESOPHILES (/g)	ANAEROBIES SULFITO REDUCTEURS (/g)
MOYENNES	13,42	20 610	59 310	< 50 pour 71% des échantillons	< 50	< 50 pour 75% des échantillons	< 50	< 50	< 5 pour 90% des échantillons	0
n = 33				577 pour 29% des échantillons		1 487 pour 25% des échantillons			7 pour 10% des échantillons	
VALEURS MAXIMALES	19	140 000	190 000	2 450	< 50	4 900	< 50	< 50	8	0
VALEURS MINIMALES	7	1 000	2 600	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0

TABLEAU 5 : Résultats des dénombrements effectués sur la chair de lieu noir entier.

		ADNF (mj d'azote/ 100 g de chair)	FLORE AEROBIE MESOPHILE (/g)	FLORE AEROBIE PSYCHRO- TROPHE (/g)	MICROORGANIS- MES (/g)	STAPHYLOCO- QUES PATHO- GENES (/g)	ENTRO- BACTERIES (/g)	SIREPTOCO- QUES FERVAUX (/g)	LACIO- BACILLES (/g)	CELLULES SPORULEES AEROBIES (/g)	ACTIVITES ENZYMATI- QUES (/g)	
ATELIER DE FILETAGE 1 (filetage manuel)	moyennes n = 10	16	26 000	55 150	1 317	< 50	< 50 pour 80% des échantil- lons 750 pour 20% des échantil- lons	< 50	< 50	< 5 pour 90% des échantil- lons 7 pour 10% des échantil- lons	0	
	valeurs maximales	20	48 900	150 000	2 951	< 50	< 50	< 50	< 50	7	0	
	valeurs minimales	14	10 000	5 000	254	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0	
ATELIER DE FILETAGE 2 (filetage manuel)	moyennes n = 25	28,34	266 000	396 000	1 385	< 50 pour 92% des échantil- lons 100 pour 8% des échantil- lons	730	437	< 50	< 5 pour 80% des échantil- lons 9 pour 20% des échantil- lons	0	
	valeurs maximales	32,9	740 000	790 000	3 489	100	3 230	2 398	< 50	10	0	
	valeurs minimales	22	27 000	140 000	50	< 50	50	50	< 50	50	0	
ATELIER DE FILETAGE 3 (filetage méca- nique)	fillets de qualité moyen- ne	moyennes n = 8	21,11	225 600	620 500	1 290	< 50	4 453	< 50	< 50	< 5	0
		valeurs maxi- males	25	790 000	1 470 000	2 239	< 50	15 000	< 50	< 50	< 5	0
		valeurs mini- males	19	3 400	175 000	409	< 50	500	< 50	< 50	< 5	0
ATELIER DE FILETAGE 3 (filetage méca- nique)	fillets de qualité mauvai- se	moyennes n = 8	47,61	666 000	1 312 500	1 365	< 50	935	< 50	< 50	< 5 pour 80% des échantil- lons 7 pour 20% des échantil- lons	0
		valeurs maxi- males	54	890 000	1 900 000	2 000	< 50	2 900	< 50	< 50	8	0
		valeurs mini- males	40,4	310 000	240 000	416	< 50	200	< 50	< 50	< 5	0

TABLEAU 6 : Résultats des dénombrements effectués sur les filets de lieu noir.

Pour les filets, la répartition des flores est un peu différente de celle du poisson entier. Ainsi, les streptocoques qui sont absents des muscles des poissons entiers peuvent contaminer les filets. Leur présence dépend cependant des conditions de filetage, puisque nous n'en avons dénombré que dans les filets de l'atelier 2, en moyenne 430/g (tableau 6).

De même, les entérobactéries qui ne sont pas souvent rencontrées dans les muscles des poissons entiers, le sont assez fréquemment dans les filets. Là encore leur présence dépend des conditions de filetage puisque nous n'en avons dénombré que sur 80 % des filets de l'atelier 1, alors que tous les filets des ateliers 2 et 3 étaient contaminés.

Enfin, en ce qui concerne les microcoques / staphylocoques nous en avons dénombré sur tous les filets en moyenne 1 340/g, alors que seulement 25 % des muscles de lieu noir entiers étaient contaminés. Parmi les staphylocoques, nous avons dénombré sur 2 filets, des staphylocoques pathogènes.

Les lactobacilles et les anaérobies sulfito-réducteurs n'ont jamais été rencontrés. Des germes sporulés aérobies ont été dénombrés, mais à des taux qui restent faibles et voisins de ceux des muscles de lieu noir entier.

En conclusion, alors que dans les muscles des poissons entiers on rencontre essentiellement des germes Gram -, théoriquement peu thermorésistants, dans les filets, outre une grande majorité de germes Gram - appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Moraxella* et *Acinetobacter*, on trouve également des germes non spécifiques aux poissons : des streptocoques, des entérobactéries, des microcoques et des staphylocoques.

1.1.2. Sélection et identification des germes les plus thermorésistants

=====

Des suspensions de chair de lieu noir entier et en filet ont été chauffées à 60°C pendant 15 et 60 minutes et à 70°C pendant 10 et 20 minutes. Nous avons dénombré les germes thermorésistants que nous avons ensuite tentés d'identifier.

1.1.2.1. Evolution quantitative

Les résultats détaillés des dénombrements correspondant aux chauffages à 60°C et 70°C sont notés en annexe 3.

Dans les tableaux 7 et 8, nous n'avons repris que les valeurs moyennes des dénombrements, et dans le tableau 8 nous avons noté les taux de destruction obtenus pour les flores psychrotrophe et mésophile.

A 70°C (tableau 7), on constate que les germes sont rapidement détruits puisqu'après 10 minutes de chauffage, nous n'avons jamais dénombré plus de 5 germes/g, qu'il s'agisse des muscles des poissons entiers ou des filets qui étaient cependant plus contaminés.

A 60°C (tableau 8), on observe sensiblement les mêmes taux de destruction pour les flores psychrotrophe et mésophile.

On observe également qu'après 15 minutes à 60°C, les taux de destruction sont compris entre 2 et 2,55. De ce fait, les filets de l'atelier 2 qui avaient en moyenne dix fois plus de germes que ceux de l'atelier 1 et que les muscles des poissons entiers, en ont toujours environ 10 fois plus après 15 minutes à 60°C.

Après 60 minutes à 60°C, on dénombre moins de 100 germes/g, même dans les filets de l'atelier 2 qui étaient les plus contaminés au départ, d'où un taux de destruction final plus élevé pour ces filets que pour ceux de l'atelier 1 ou les muscles des poissons entiers.

	POISSONS CRUS		10 MINUTES A 70°C		20 MINUTES A 70°C	
	FLORE MESOPHILE (/g)	FLORE PSYCHROTROPHE (/g)	FLORE MESOPHILE (/g)	FLORE PSYCHROTROPHE (/g)	FLORE MESOPHILE (/g)	FLORE PSYCHROTROPHE (/g)
LIEU NOIR ENTIER n = 5	17 174	63 750	< 5	< 5	< 5	< 5
LIEU NOIR EN FILET n = 5	307 400	404 000	< 5	< 5	< 5	< 5

TABLEAU 7 : Nombre moyen de germes avant et après chauffage à 70°C de suspensions de lieu noir entier et en filet.

		NOMBRE MOYEN DE GERMES/g AVANT TRAITEMENT THERMIQUE (N ₀)	NOMBRE MOYEN DE GERMES/g APRES 15 MINUTES A 60°C (N ₁₅)	NOMBRE MOYEN DE GERMES/g APRES 60 MINUTES A 60°C (N ₆₀)	log $\frac{N_0}{N_{15}}$	log $\frac{N_{15}}{N_{60}}$	log $\frac{N_0}{N_{60}}$
FILETS ATELIER 1 n = 10	FLORE MESOPHILE	26 090	88	13	2,47	0,83	3,3
	FLORE PSYCHROTROPHE	55 150	156	85	2,55	0,26	2,81
FILETS ATELIER 2 n = 10	FLORE MESOPHILE	298 700	2 310	89	2,11	1,41	3,52
	FLORE PSYCHROTROPHE	365 900	2 655	92	2,14	1,46	3,6
LIEU NOIR ENTIER n = 33	FLORE MESOPHILE	20 610	197	44	2,02	0,65	2,67
	FLORE PSYCHROTROPHE	59 310	323	83,51	2,26	0,58	2,84

TABLEAU 8 : Nombre moyen de germes avant et après chauffage à 60°C de suspensions de lieu noir entier et en filet.

1.1.2.2. Identifications

Les identifications ont porté sur des germes ayant résisté 15 minutes à 60°C et isolés de la chair de lieu noir entier. Pour cela, nous avons prélevé sur plusieurs boîtes de Petri, toutes les colonies; au total 72 colonies ont été prélevées, 43 correspondaient à des germes mésophiles, 29 à des psychrotrophes.

Pour déterminer les genres ou groupes de genres des germes correspondant aux colonies prélevées, nous avons réalisé les tests décrits paragraphe 1.2.2. (page 34) et pour interpréter les résultats nous nous sommes inspirés du Bergey's manual (édition de 1984), du manuel de Guiraud (édité en 1980) et du modèle de Shewan (1971). Les résultats sont notés tableau 9.

Bien que la majorité des germes thermorésistants soit Gram -, on observe cependant une nette augmentation de la proportion de germes Gram +, par rapport aux produits crus. En effet, avant traitement thermique, les germes Gram + représentaient moins de 1 % des flores mésophile ou psychrotrophe alors qu'après 15 minutes à 60°C, ils représentent 6,9 % des germes psychrotrophes et 11,5 % des mésophiles.

Ce résultat n'est pas très surprenant car les germes Gram + sont généralement plus thermorésistants que les Gram - (Allwood et Russel 1963), ils sont donc sélectionnés par le traitement thermique.

Parmi les germes Gram + ayant résisté au traitement, on a observé des *Bacillus* et des microcoques. Tous les microcoques étaient pigmentés en jaune; 2 espèces possèdent un pigment jaune: *Micrococcus luteus* et *Micrococcus varians*. Afin de définir de quelle espèce il s'agissait, nous avons réalisé quelques tests permettant de les différencier: nous avons recherché si les germes produisaient ou non de l'acide à partir du glucose et s'ils réduisaient les nitrates en nitrites.

Les résultats ont montré qu'il s'agissait de germes capables de produire de l'acide à partir du glucose et de réduire les nitrates en nitrites. Nous en avons déduit qu'il s'agissait de *Micrococcus varians*.

On note également une forte proportion de *Pseudomonas* pigmentés. Ils représentent en effet 28 % des germes mésophiles et 20,6 % des psychrotrophes, alors qu'ils sont quasiment absents de la flore initiale des poissons (Herbert 1971).

Afin d'identifier les espèces, nous avons ensemencé des galeries API 20 E et API 20 NE, les résultats ont été les mêmes pour toutes les colonies et il y a toujours eu concordance entre l'identification réalisée sur galerie API 20 E et celle réalisée sur galerie API 20 NE. Les résultats ont montré qu'il s'agissait de *Pseudomonas paucimobilis*.

De même, les *Acinetobacter* constituent une proportion importante de la flore thermorésistante alors qu'ils ne représentent que 1 % de la flore totale des poissons frais (Shewan 1971).

Des galeries API 20 E et API 20 NE ont été utilisées pour tenter d'identifier les espèces, mais les résultats n'ont rien donné de significatif.

Outre les germes ci-dessus, on trouve également des *Moraxella*, en proportion moins importante que dans le poisson frais. En effet, ces germes représentent 40 % de la flore totale des poissons frais (Shewan 1971) alors qu'après 15 minutes à 60°C, ils ne représentent que 18,6 % de la flore psychrotrophe et 27 % de la flore mésophile.

On trouve également d'autres bacilles Gram - qui pourraient être des *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Photobacterium* ou enfin des entérobactéries. Ils représentent 29,9 % de la flore mésophile et 30,8 % de la flore psychrotrophe.

Nous avons ensemencé des galeries API 20 E et API 20 NE pour identifier les espèces mais là encore, cela n'a rien donné dans la majorité des cas. Le seul germe identifié plusieurs fois a été *Pseudomonas putida*.

En conclusion, parmi les germes non sporulés les plus thermorésistants, on trouve *Pseudomonas paucimobilis* et *Micrococcus varians*. Ces germes se multiplient à 30°C et également à 8°C. Ils représentent à eux deux, 34,9 % des espèces mésophiles thermorésistantes et 27,5 % des espèces psychrotrophes thermorésistantes.

On trouve également d'autres germes en proportion moins importante, parmi lesquels *Pseudomonas putida*.

CARACTERISTIQUES DES GERMES		BACILLES GRAM+	COQUES GRAM+	COCOBACILLES		COCOBACILLES		
		CATALASE + THERMORESISTANTS	GROUPES EN AMAS CATALASE + PIGMENTES EN JAUNE AEROBIES STRICTS	GRAM -	GRAM -	OXYDASE + NON PIGMENTES MOBILES	OXYDASE - NON PIGMENTES MOBILES	
				OXYDASE + NON PIGMENTES NON MOBILES	OXYDASE - NON PIGMENTES NON MOBILES	OXYDASE + NON PIGMENTES MOBILES	OXYDASE - NON PIGMENTES MOBILES	
REPARTITION	GERMES MESOPHILES	4,6	6,9	18,6	11,6	23	6,9	
QUANTITATIVE (%)	GERMES PSYCHROTROPHES	0	6,9	27	14	24	6,8	
REPARTITION QUALITATIVE		<i>BACILLUS</i>	MICROCOQUES	<i>MORAXELLA</i>	<i>ACTINETOBACTER</i>	<i>PSEUDOMONAS</i> <i>AEROMONAS</i> <i>VIBRIO</i> <i>PHOTOBACTERIUM</i>	<i>PSEUDO-</i> <i>MONAS</i> ENTERO- BACTERIES	<i>PSEUDO-</i> <i>MONAS</i>

TABLEAU 9 : Résultats des identifications des germes les plus thermorésistants isolés de la chair de lieu noir entier.

1.2. TERRINES

1.2.1. Etude microbiologique des terrines crues

Les résultats détaillés des analyses sont notés en annexe 4, par catégorie de terrine. Dans le tableau 10, nous n'avons repris que les moyennes et les valeurs extrêmes.

Toutes les terrines sont contaminées par des streptocoques fécaux, des entérobactéries et des germes sporulés aérobies.

On a dénombré en moyenne les mêmes taux de streptocoques fécaux et de germes aérobies sporulés dans les 3 types de terrines, soit : 3 274 streptocoques/g et 2076 germes sporulés aérobies/g. Il peut cependant y avoir des fluctuations d'une fabrication à l'autre puisque nous avons dénombré au maximum 10 000 streptocoques/g et au minimum 100 streptocoques/g, de même nous avons dénombré au maximum 8 200 germes sporulés aérobies/g et au minimum 100/g.

En ce qui concerne les entérobactéries, nous en avons dénombré en moyenne dix fois plus dans les terrines Saint-Jacques que dans les autres terrines, soit 20 000 /g. Cependant, nous avons observé d'importantes variations selon les échantillons puisqu'au minimum, nous en avons dénombré 200/g et au maximum, 80 000/g.

Enfin 41 % des échantillons sont contaminés par des anaérobies sulfite-réducteurs. Nous en avons trouvés dans les terrines Saint-Jacques et les terrines de poisson aux légumes, mais pas dans les terrines au saumon. De même, on a dénombré des staphylocoques pathogènes sur 4 % des échantillons.

Ces résultats montrent que d'une fabrication à l'autre le taux de contamination bactérienne des terrines est variable. Ces fluctuations sont probablement liées à des variations de la qualité microbiologique des matières premières mises en oeuvre. Afin de connaître l'origine des germes rencontrés dans les terrines, une analyse microbiologique des matières premières a été réalisée. Les résultats sont notés tableau 11.

	MOYENNES n = 27	VALEURS MAXIMALES	VALEURS MINIMALES	MOYENNES n = 6	VALEURS MAXIMALES	VALEURS MINIMALES	MOYENNES n = 11	VALEURS MAXIMALES	VALEURS MINIMALES	MOYENNES n = 10	VALEURS MAXIMALES	VALEURS MINIMALES
TOUTES TERRINES CONFONDES	1 107 863	4 600 000	39 000	2 378 000	4 600 000	290 000	628 300	2 400 000	39 000	873 300	1 800 000	93 000
	< 50 pour 96% des échantillons 100 pour 4% des échantillons	100	< 50	< 50 pour 82% des échantillons 100 pour 17% des échantillons	100	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50
	10 035	80 000	72	3 347	16 000	2 000	5 351	18 000	72	19 336	80 000	200
	3 351	16 000	100	5 347	16 000	1 000	2 383	9 300	100	3 123	5 000	500
	2 076	8 200	100	1 192	1 995	390	2 676	7 200	700	1 908	8 300	100
	0 pour 50% des échantillons 4,45 pour 41% des échantillons	17	0	0	0	0	0 pour 45,5% des échantillons 3,5 pour 54,5% des échantillons	7	0	0 pour 50% des échantillons 5,6 pour 50% des échantillons	17	0
TERRINES AU SALMON												
TERRINES DE POISSON AUX LEBINES												
TERRINES SAINT JACQUES												

TABLEAU 10 : Résultats des dénombrements effectués sur les terrines de poisson.

On voit que :

- les germes aérobies sporulés sont amenés par les produits déshydratés et en particulier par la farine et surtout le poivre gris.
- les anaérobies sulfito-réducteurs ont été dénombrés dans les noix de Saint-Jacques, l'extrait de Saint-Jacques et également dans les légumes déshydratés. Ces résultats expliquent la présence d'anaérobies sulfito-réducteurs dans les terrines Saint-Jacques et les terrines de poisson aux légumes.
- les streptocoques fécaux rencontrés dans les terrines sont amenés par la farine, le poivre gris, le saumon, les noix de Saint-Jacques et les filets d'églefin.
- les entérobactéries sont amenées principalement par les filets d'églefin, les noix de Saint-Jacques et le saumon frais.

En conclusion, les flores qui contaminent les terrines sont totalement différentes de celles des poissons du fait de la présence de nombreux ingrédients dans les terrines. On remarque que les produits déshydratés tels que la farine et les épices sont contaminés par de nombreux germes sporulés susceptibles de poser des problèmes au cours de la conservation. Afin de limiter le nombre de germes sporulés, il faudrait préconiser l'utilisation systématique d'épices débactérisées.

On observe également la présence d'anaérobies sulfito-réducteurs qui pourraient être à l'origine d'intoxications alimentaires s'ils se développaient dans les terrines au cours de la conservation.

	FARINE	LACTO - PROTEINES	FUMET DE DE POISSON	EXTRAIT DE SAINT JACQUES	POIVRE BLANC (NON DEBACTE RISE)	POIVRE GRIS (NON DEBAC TERISE)	BLANC D'OEUF EN POUDRE	LEGUMES DESSECHES (CAROTTES, TOMATES, PERNIL)	CRÈME PASTERILISEE	BEURRE PASTERILISE	FILETS D'HELEFIN	NOIX DE SAINT JACQUES	SALON
FLORE MESOPHILE TOTALE (/g)	50 000	3 600	100 000	610	9 300	180 000 000	1 524	100 000	5 600	1 000	140 000	350 000	100 000
STREPTOCOQUES FÉCAUX (/g)	200	< 50	< 50	< 50	< 50	10 ³	< 50	< 50	< 50	< 50	50	200	500
ENTERO - BACTÉRIES (/g)	10	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	305	< 5	< 5	2 300	15 000	1 000
GERMES SPORIQUES AÉROBES (/g) MESOPHIQUES	14 000	444	1 525	100	2 500	100 000	800	9 000	100	100	< 5	< 5	< 5
AÉROBIES SULFITO REDUCTEURS (/g)	0	0	0	5	0	0	0	4	0	0	0	4	0

TABLEAU 11 : Résultats des dénombrements effectués sur les matières premières utilisées pour la fabrication des terrines.

1.2.2. Sélection et identification des germes les plus thermorésistants

=====

3 suspensions de chacune des 3 catégories de terrines ont été chauffées à 70°C pendant 5, 15, 25, 35 et 45 minutes. Les germes thermorésistants ont été dénombrés et identifiés.

1.2.2.1. Evolution quantitative

Sur la figure 7, nous avons représenté l'évolution de la flore totale en fonction du temps. Dans le tableau 12, nous avons noté les résultats des dénombrements avant traitement thermique et après 5 et 45 minutes de chauffage à 70°C et nous avons également indiqué les taux de destruction. Dans le tableau 13, nous avons noté les résultats des dénombrements des entérobactéries et des streptocoques fécaux.

On voit que pendant les 5 premières minutes de chauffage, la population bactérienne chute rapidement. Les taux de destruction sont compris entre 2,26 et 3,14 après 5 minutes à 70°C (tableau 12, figure 7).

Par contre, au delà de 5 minutes, le nombre de germes se stabilise autour de 2 200 à 3 150 par gramme.

Les 5 premières minutes de chauffage à 70°C correspondent à la destruction de la plupart des formes végétatives des bactéries. On voit d'ailleurs, d'après le tableau 13, que les entérobactéries et la plupart des streptocoques fécaux sont détruits après 5 minutes de chauffage. Après, la population reste stable car les germes présents sont des spores qui ne peuvent être détruites par la pasteurisation.

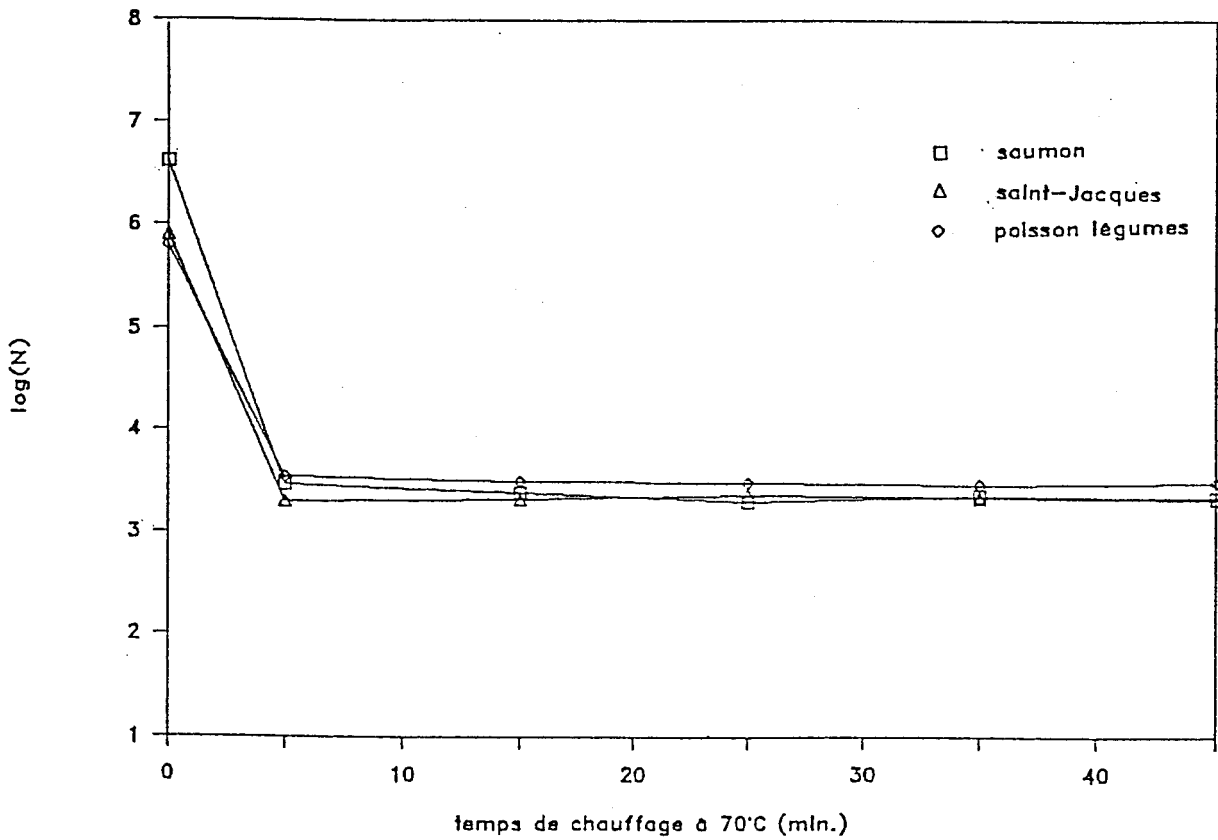


FIGURE 7 : Evolution de la flore totale dans les suspensions de terrine chauffées à 70°C.

	NOMBRE DE GERMES MESOPHILES AVANT CHAUFFAGE (/g) N0	NOMRES DE GERMES MESOPHILES APRES 5 MINUTES A 70°C (/g) N5	NOMBRE DE GERMES MESOPHILES APRES 45 MINUTES A 70°C (/g) N45	log $\frac{N0}{N5}$	log $\frac{N0}{N45}$
TERRINE DE SALMON	4 200 000	3 000	2 200	3,14	3,28
TERRINE DE POISSON AUX LEGUMES	640 000	3 500	3 150	2,26	2,3
TERRINE SAINT JACQUES	820 000	2 000	2 100	2,61	2,59

TABLEAU 12 : Nombre moyen de germes avant et après chauffage à 70°C de suspensions de terrine.

	AVANT TRAITEMENT THERMIQUE		APRES 5 MINUTES A 70°C		APRES 15, 25, 35 ET 45 MINUTES A 70°C	
	ENTEROBACTERIES /g	STREPTOCOQUES FECAUX /g	ENTEROBACTERIES /g	STREPTOCOQUES FECAUX /g	ENTEROBACTERIES /g	STREPTOCOQUES FECAUX /g
TERRINE AU SALMON	2 500	16 000	< 5	150	< 5	< 50
TERRINE DE POISSON AUX LEGUMES	500	1 200	< 5	< 50	< 5	< 50
TERRINE SAINT JACQUES	80 000	1 000	< 5	100	< 5	< 50

TABLEAU 13 : Nombre moyen d'entérobactéries et de streptocoques fécaux avant et après chauffage à 70°C de suspensions de terrine.

I.2.2.2. Identifications

Les germes non sporulés les plus thermorésistants sont les streptocoques fécaux. Afin d'identifier les espèces rencontrées dans les terrines nous avons prélevé toutes les colonies (5 au total) isolées sur BEA après traitement thermique et nous avons ensemencé des galeries API 20 STREP. Les résultats ont montré qu'il s'agissait de *Streptococcus faecium*.

1.3. CONCLUSION

Cette étude a permis de sélectionner les germes non sporulés les plus thermorésistants trouvés dans les filets de lieu noir et les terrines de poisson. Il s'agit de *Pseudomonas paucimobilis*, *Pseudomonas putida*, et *Micrococcus varians*, qui sont des germes spécifiques au poisson, et de *Streptococcus faecium*, isolé des terrines de poisson.

Ces germes ont servi de base à notre étude sur la thermorésistance des germes les plus représentatifs de la microflore des produits de la mer.

 *
 - 2 - * ETUDE DE LA THERMORÉSISTANCE DE QUELQUES GERMES REPRESENTATIFS *
 * DE LA MICROFLORE DES PREPARATIONS A BASE DE PRODUITS DE LA MER *
 *

2.1. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES
DES MILIEUX DE CHAUFFAGE

Les caractéristiques physico-chimiques du lieu noir et de la terrine utilisés pour les mesures de thermorésistance sont notées dans le tableau suivant (tableau 14) :

	LIEU NOIR	TERRINE SAINT JACQUES
HUMIDITE	77 %	70 %
PROTEINES	19,27 %	12,4 %
MATIERES GRASSES	2,17 %	10,4 %
GLUCIDES	0,26 %	4,7 %
CENDRES	1,3 %	2,5 %
SEL	0,8 %	1,9 %
pH	6,98	6,12
aw	0,99	0,98

TABLEAU 14 : Caractéristiques physiques et chimiques des milieux utilisés pour les mesures de thermorésistance.

2.2. ETUDE DE LA THERMORESISTANCE DES GERMES

~~~~~

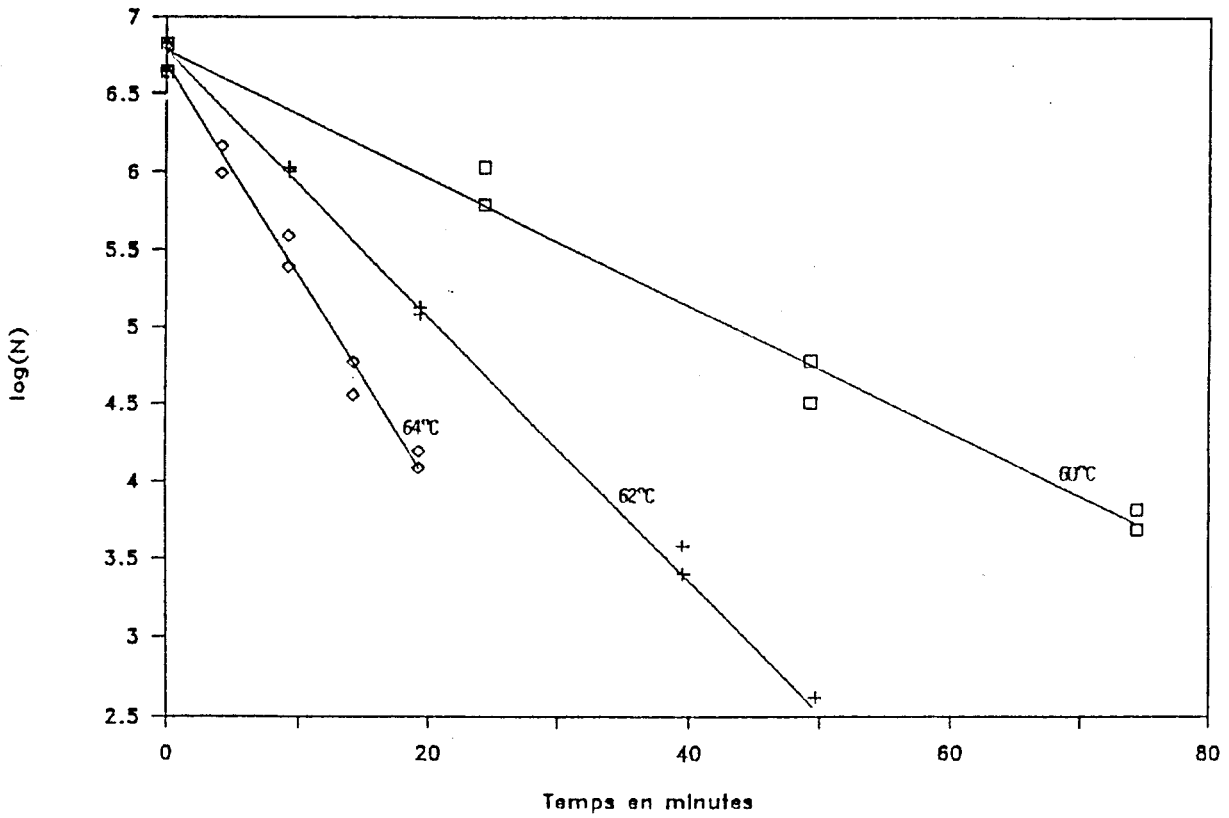
### 2.2.1. *Pseudomonas paucimobilis*

=====

Les courbes de survie obtenues dans les différents milieux sont représentées figures 8, 9, 10. Dans les tableaux 15, 16, et 17, nous avons noté les caractéristiques des droites de régression : -a- représente la pente de la droite et -b- l'ordonnée à l'origine. Nous avons également noté les nombres d'observations -n-, les coefficients de corrélation -r-, et les temps de réduction décimale -D<sub>T</sub>-.

Les courbes de destruction thermique (courbes de TDT) sont représentées figure 11. Dans le tableau 18, nous avons noté les caractéristiques des droites de régression, les données statistiques et les valeurs de z obtenues dans les différents milieux. Afin de déterminer si les valeurs de z différaient significativement ou pas selon les milieux, nous avons fait une analyse statistique (test de comparaison de pente). Les résultats sont présentés en annexe 5.

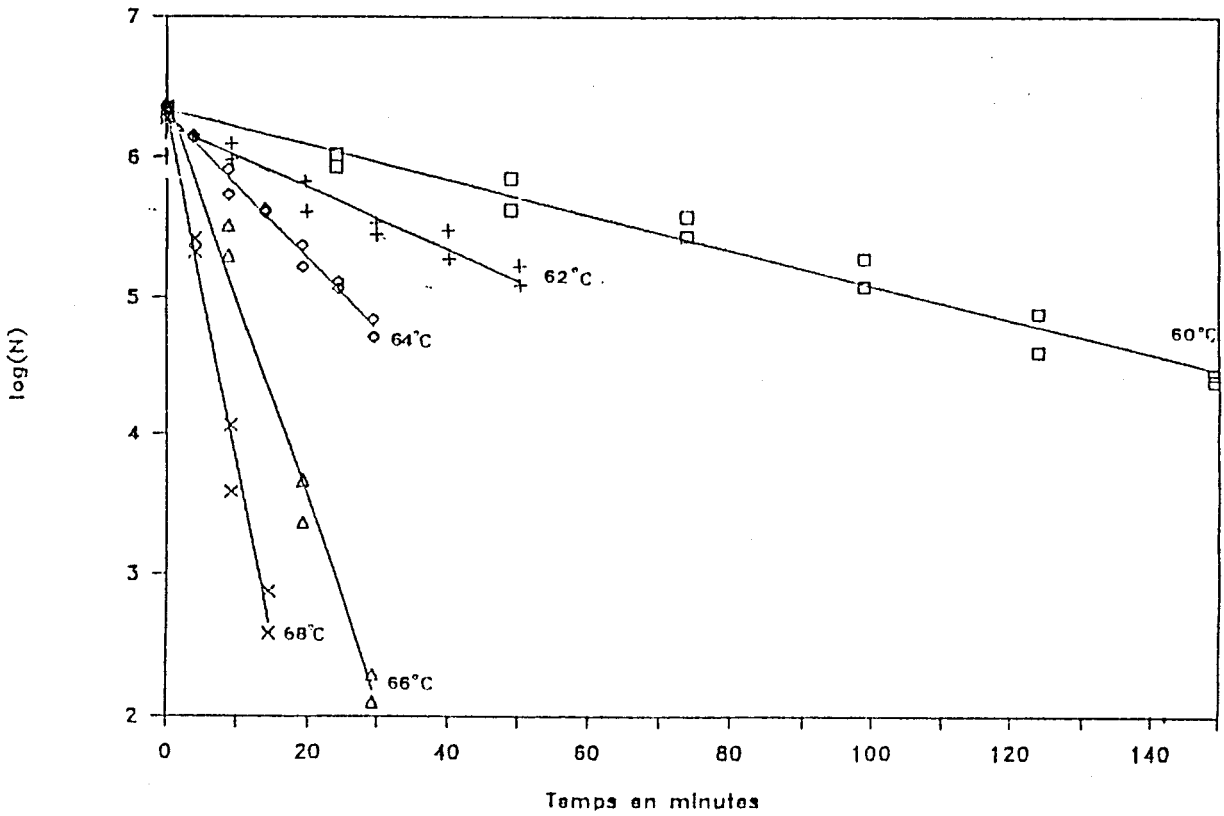
Les survivants ont été dénombrés sur PCA et l'incubation a été réalisée à 30°C pendant 3 jours.



**FIGURE 8** : Courbes de survie de *Pseudomonas paucimobilis* dans le tampon phosphate.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | $U_T$ (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|-------------|
| 60               | 8  | 0,993 | - 0,04110 | 6,780 | 24,3        |
| 62               | 10 | 0,997 | - 0,08578 | 6,774 | 11,6        |
| 64               | 10 | 0,993 | - 0,13474 | 6,704 | 7,4         |

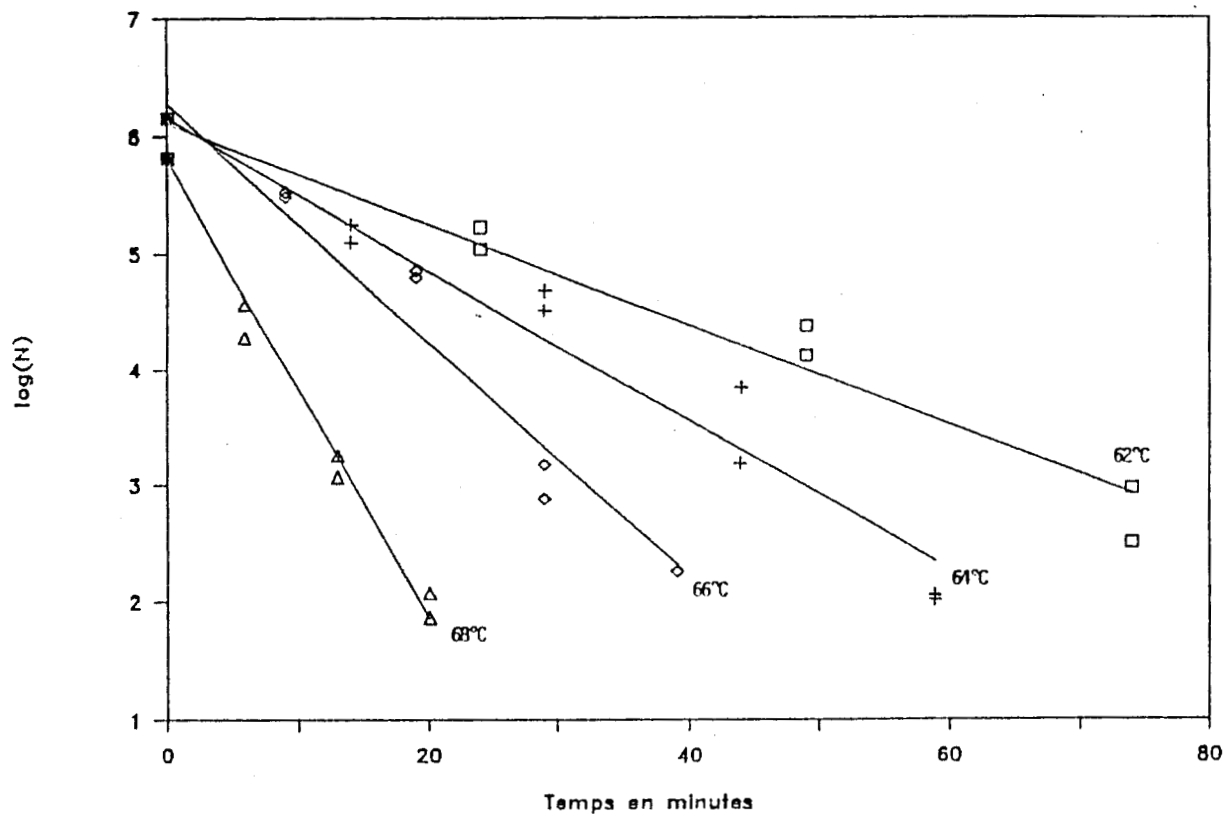
**TABLEAU 15** : Données statistiques des courbes de survie de *Pseudomonas paucimobilis* dans le tampon phosphate.



**FIGURE 9** : Courbes de survie de *Pseudomonas paucimobilis* dans le lieu noir.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|----------------------|
| 60               | 14 | 0,986 | - 0,0125  | 6,336 | 80                   |
| 62               | 12 | 0,976 | - 0,02446 | 6,254 | 40,8                 |
| 64               | 14 | 0,994 | - 0,05334 | 6,319 | 18,5                 |
| 66               | 8  | 0,992 | - 0,14700 | 6,447 | 6,8                  |
| 68               | 8  | 0,992 | - 0,26178 | 6,316 | 3,8                  |

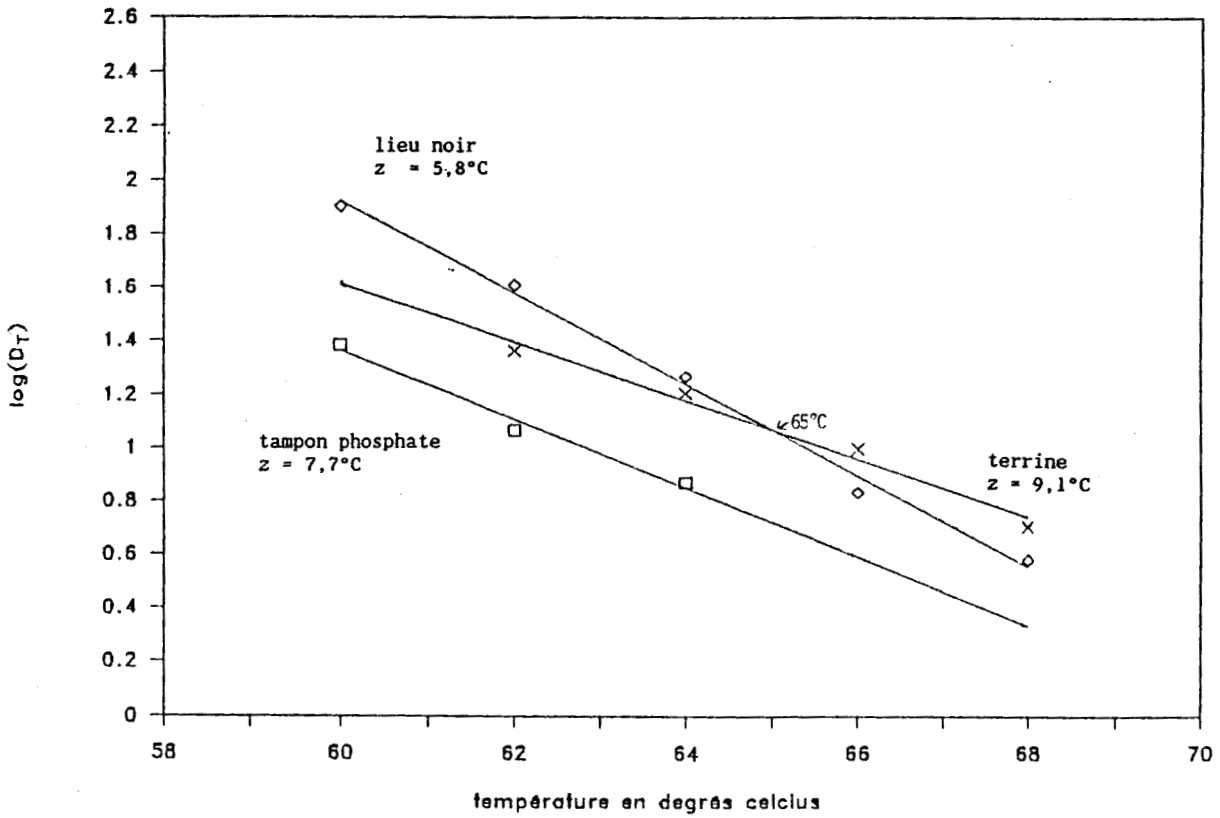
**TABLEAU 16** : Données statistiques des courbes de survie de *Pseudomonas paucimobilis* dans le lieu noir.



**FIGURE 10** : Courbes de survie de *Pseudomonas paucimobilis* dans la terrine.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r    | a         | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|------|-----------|-------|----------------------|
| 62               | 8  | 0,98 | - 0,04307 | 6,110 | 23,2                 |
| 64               | 10 | 0,98 | - 0,06217 | 6,159 | 16                   |
| 66               | 10 | 0,98 | - 0,10051 | 6,272 | 9,9                  |
| 68               | 8  | 0,99 | - 0,19651 | 5,820 | 5                    |

**TABLEAU 17** : Données statistiques des courbes de survie de *Pseudomonas paucimobilis* dans la terrine.



**FIGURE 11** : Courbes de destruction thermique de *Pseudomonas paucimobilis* dans les différents milieux.

| MILIEU           | n | r     | a         | b       | Z (°C) |
|------------------|---|-------|-----------|---------|--------|
| TAMPON PHOSPHATE | 3 | 0,99  | - 0,1238  | 9,093   | 7,7    |
| LIEU NOIR        | 5 | 0,997 | -0,17101  | 12,1848 | 5,8    |
| TERRINE          | 4 | 0,991 | - 0,10931 | 8,174   | 9,1    |

**TABLEAU 18** : Données statistiques des courbes de destruction thermique de *Pseudomonas paucimobilis* dans les différents milieux.

Les valeurs de  $z$  de *Pseudomonas paucimobilis* diffèrent significativement pour le risque 5%, dans les trois milieux (annexe 5).  $z$  est plus élevé dans la terrine ( $z = 9,1^{\circ}\text{C}$ ) que dans le lieu noir ( $z = 5,8^{\circ}\text{C}$ ) et dans le tampon phosphate ( $z = 7,7^{\circ}\text{C}$ ).

Sur la figure 11, on voit que la courbe de TDT obtenue dans le tampon phosphate est nettement en dessous de celles obtenues dans le lieu noir et la terrine. Ceci signifie que le temps nécessaire pour réduire de 90 % la population bactérienne ( $D_T$ ), est plus faible dans le tampon phosphate que dans les autres milieux. En conséquence *Pseudomonas paucimobilis* est moins thermorésistant dans le tampon phosphate. Ceci n'est vrai bien sûr, que dans certaines gammes de températures puisque les courbes de TDT qui ont des pentes différentes finissent par se croiser ce qui a pour conséquence d'inverser la thermorésistance dans les milieux. Ainsi, *Pseudomonas paucimobilis* est moins thermorésistant dans le tampon phosphate que dans la terrine uniquement aux températures inférieures à  $73^{\circ}\text{C}$  et il est moins thermorésistant dans le tampon phosphate que dans le lieu noir uniquement aux températures supérieures à  $47^{\circ}\text{C}$ .

Si l'on compare maintenant les courbes de TDT obtenues dans le lieu noir et la terrine, on voit qu'elles se croisent à la température  $T = 65^{\circ}\text{C}$ ; avant  $65^{\circ}\text{C}$ , la courbe de TDT obtenue dans le lieu noir est au dessus de celle obtenue dans la terrine, après  $65^{\circ}\text{C}$ , c'est l'inverse. En conséquence *Pseudomonas paucimobilis* est plus thermorésistant dans le lieu noir que dans la terrine aux températures inférieures à  $65^{\circ}\text{C}$ ; à  $65^{\circ}\text{C}$ , la thermorésistance est la même dans les deux milieux; aux températures supérieures à  $65^{\circ}\text{C}$  *Pseudomonas paucimobilis* est plus thermorésistant dans la terrine.

Le temps de réduction décimale à  $60^{\circ}\text{C}$  dans la terrine est égal à 41,2 minutes et dans le lieu noir, il est égal à 84 minutes (ces valeurs ont été calculées à partir des courbes de TDT). Bien que nous n'ayons trouvé aucune référence bibliographique concernant la thermorésistance de ce germe en particulier, ces valeurs semblent élevées car les *Pseudomonas* sont considérés comme des germes thermosensibles rapidement détruits à des températures inférieures à  $60^{\circ}\text{C}$  (Rozier et al. 1985).

### 2.2.2. *Pseudomonas putida*

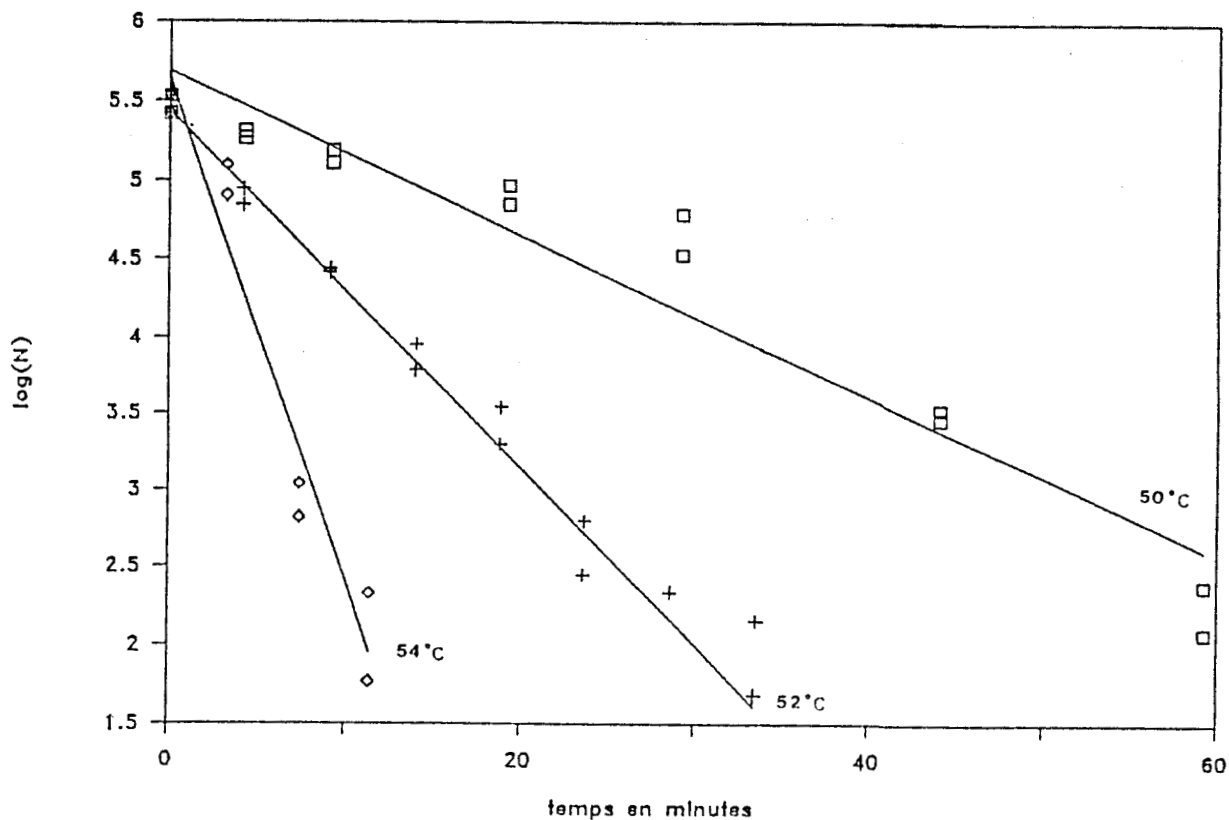
=====

Les courbes de survie obtenues dans les 3 milieux sont représentées figures 12, 13 et 14. Dans les tableaux 19, 20 et 21, nous avons noté, les caractéristiques des droites de régression ( $a$  et  $b$ ), les nombres d'observation ( $n$ ), les coefficients de corrélation ( $r$ ), et les temps de réduction décimale ( $D_T$ ).

Les courbes de destruction thermique (courbes de TDT) sont représentées figure 15. Dans le tableau 22 nous avons noté les caractéristiques des droites de régression, les données statistiques et les valeurs de  $z$ . Les résultats de la comparaison statistique des pentes des courbes de TDT sont notés en annexe 5.

Les survivants ont été dénombrés sur PCA et l'incubation a été réalisée à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 3 à 4 jours.





**FIGURE 12** : Courbes de survie de *Pseudomonas putida* dans le tampon phosphate.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|----------------------|
| 50               | 14 | 0,965 | - 0,05201 | 5,588 | 19,2                 |
| 52               | 16 | 0,972 | - 0,10897 | 5,435 | 9,1                  |
| 54               | 8  | 0,973 | - 0,32813 | 5,651 | 3                    |

**TABLEAU 19** : Données statistiques des courbes de survie de *Pseudomonas putida* dans le tampon phosphate.

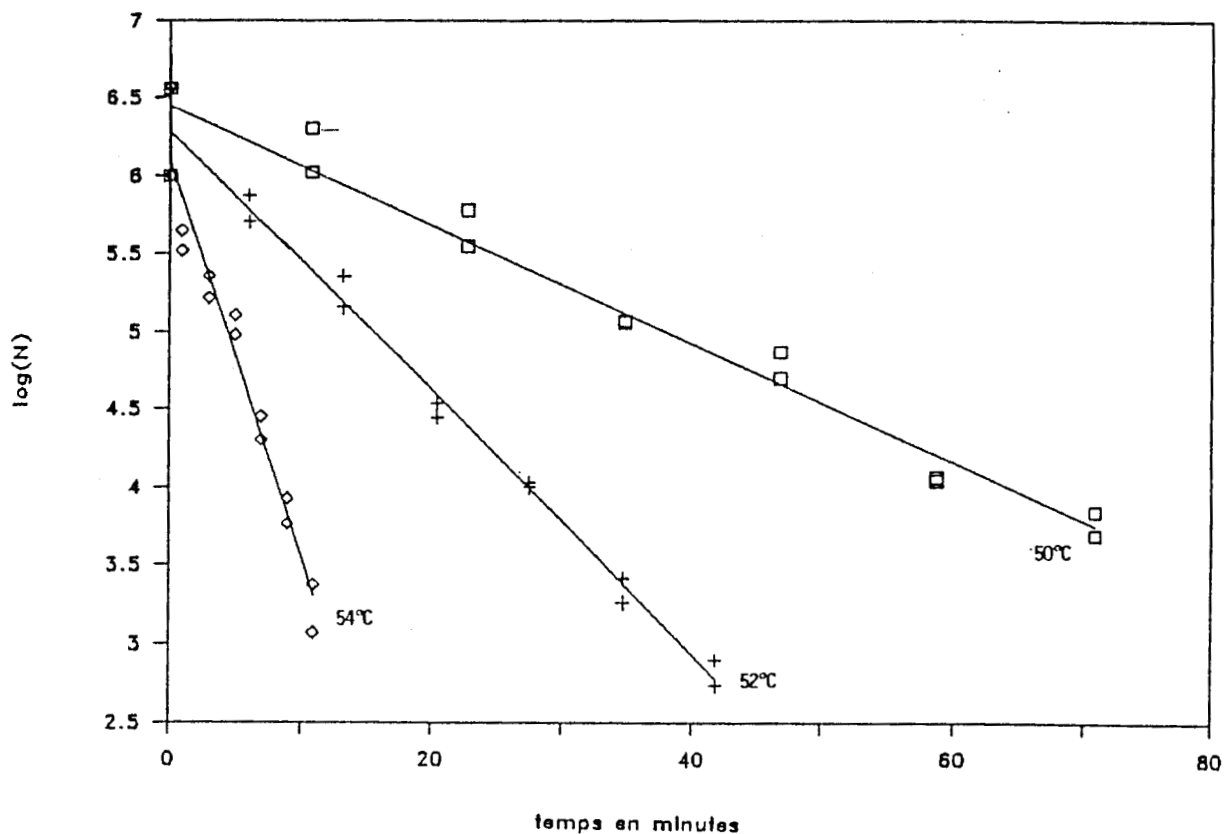


FIGURE 13 : Courbes de survie de *Pseudomonas putida* dans le lieu noir.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a          | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|-------|------------|-------|----------------------|
| 50               | 14 | 0,981 | - 0,03306  | 6,443 | 26,2                 |
| 52               | 14 | 0,994 | --0,08653  | 6,284 | 11,5                 |
| 54               | 14 | 0,978 | -- 0,25477 | 6,088 | 3,9                  |

TABLEAU 20 : Données statistiques des courbes de survie de *Pseudomonas putida* dans le lieu noir.

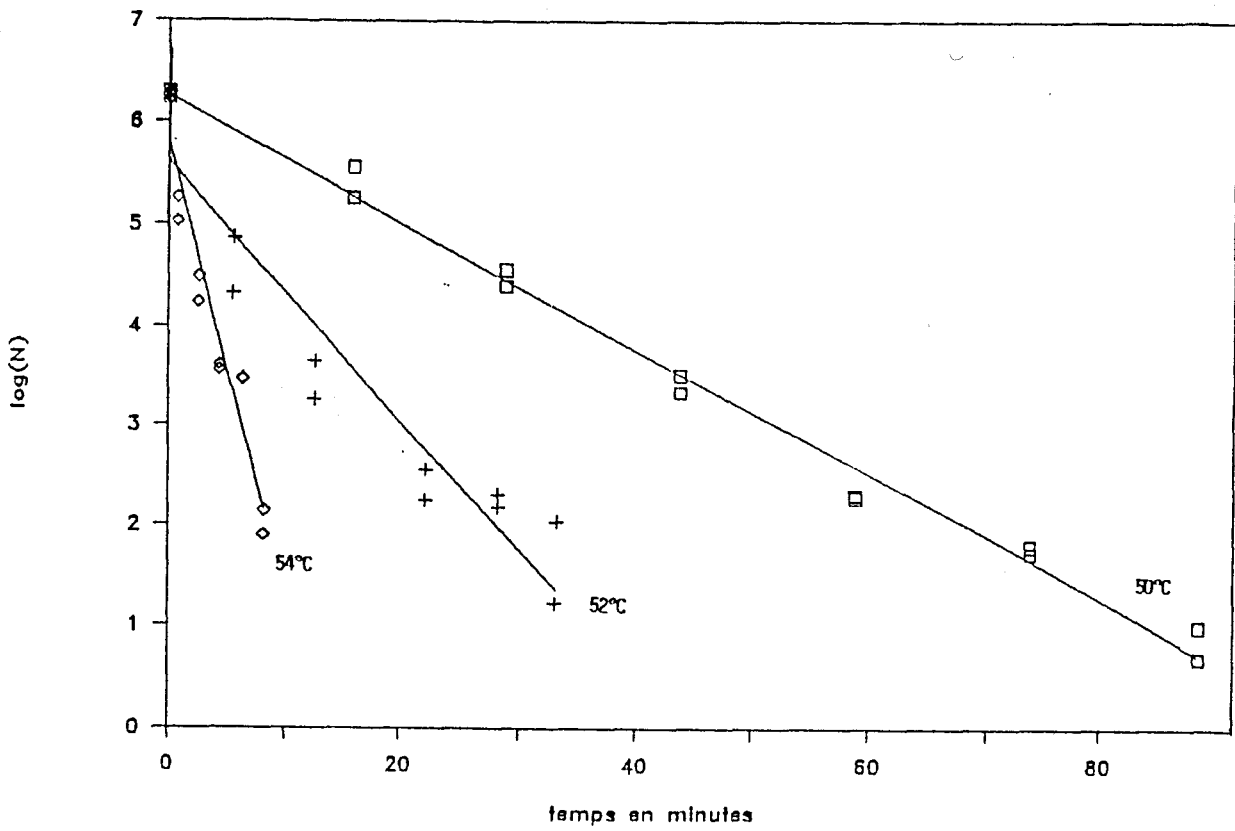


FIGURE 14 : Courbes de survie de *Pseudomonas putida* dans la terrine.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | $D_T$ (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|-------------|
| 50               | 14 | 0,996 | - 0,06236 | 6,257 | 16          |
| 52               | 12 | 0,954 | - 0,12358 | 5,619 | 8           |
| 54               | 12 | 0,966 | - 0,40929 | 5,815 | 2,4         |

TABLEAU 21 : Données statistiques des courbes de survie de *Pseudomonas putida* dans la terrine.

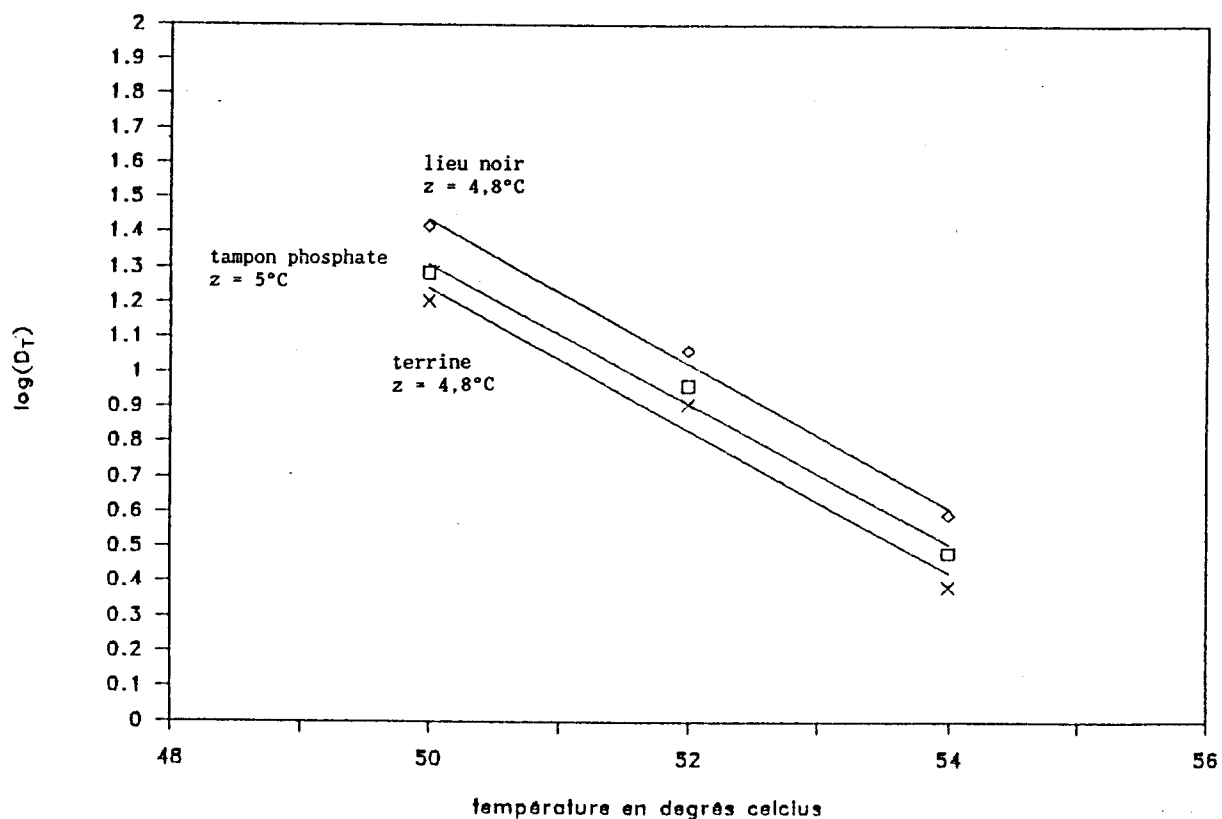


FIGURE 15 : Courbes de destruction thermique de *Pseudomonas putida* dans les différents milieux.

| MILIEU           | n | r     | a         | b      | Z (°C) |
|------------------|---|-------|-----------|--------|--------|
| TAMPON PHOSPHATE | 3 | 0,993 | - 0,19998 | 11,309 | 5      |
| LIEU NOIR        | 3 | 0,997 | - 0,20611 | 11,758 | 4,8    |
| TERRINE          | 3 | 0,988 | - 0,20427 | 11,456 | 4,8    |

TABLEAU 22 : Données statistiques des courbes de destruction thermique de *Pseudomonas putida* dans les différents milieux.

Les valeurs de  $z$  de *Pseudomonas putida* ne diffèrent pas significativement pour le risque 5%, dans les 3 milieux étudiés (annexe 5). Elles sont voisines de 5°C.

Par contre, les temps de réduction décimale sont toujours plus élevés dans le lieu noir que dans le tampon phosphate et la terrine. En conséquence, *Pseudomonas putida* est plus thermorésistant dans le lieu noir que dans les 2 autres milieux.

Si l'on calcule  $D_{60}$  à partir de la courbe de TDT obtenue dans le lieu noir, on trouve  $D_{60} = 0,2$  minutes. On voit donc que *Pseudomonas putida* est rapidement détruit à 60°C.

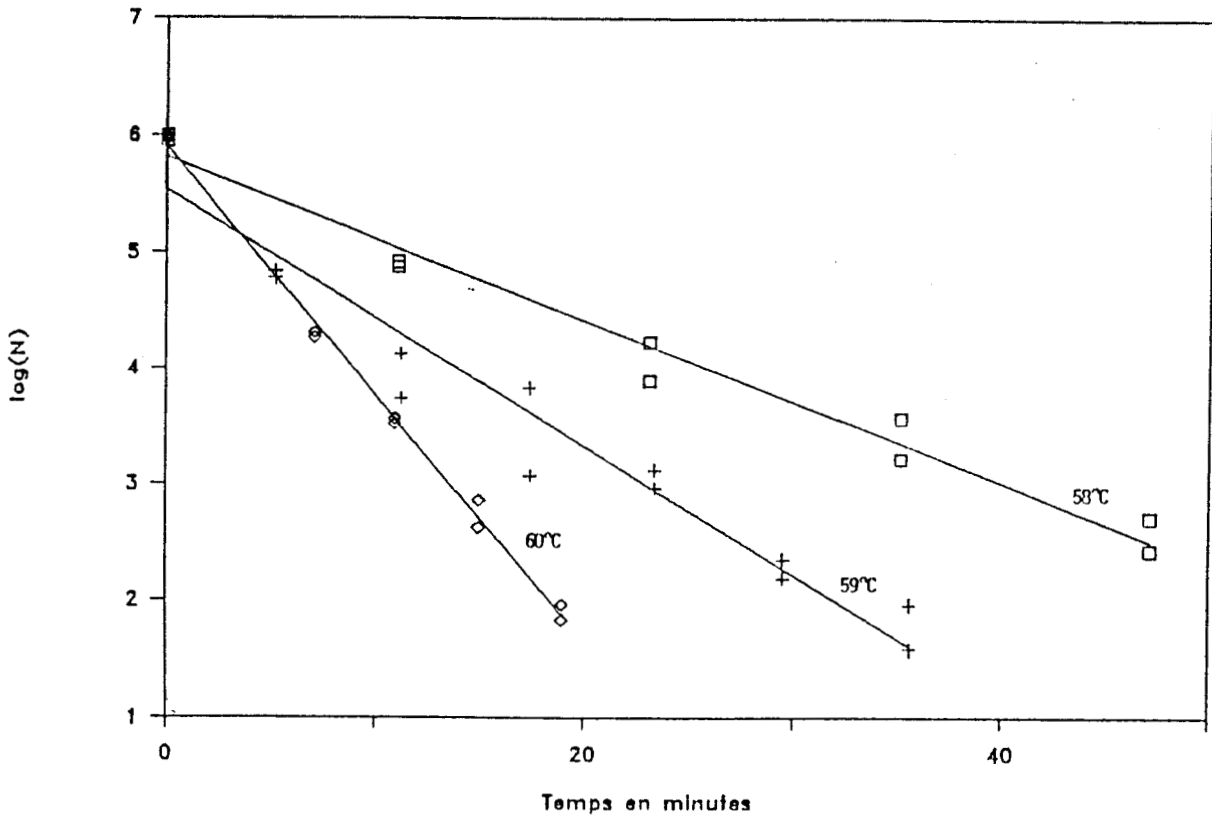
### 2.2.3. *Micrococcus varians*

-----

Les courbes de survie obtenues dans les différents milieux sont représentées figures 16, 17 et 18. Dans les tableaux 23, 24 et 25 nous avons noté les caractéristiques des droites de régression (a et b), les données statistiques (n et r) et les temps de réduction décimale ( $D_T$ ).

Les courbes de destruction thermique (courbes de TDT) sont représentées figure 19. Dans le tableau 26 nous avons noté les caractéristiques des droites de régression, les données statistiques et les valeurs de  $z$ . Les résultats de la comparaison statistique des pentes des courbes de TDT sont présentés en annexe 5.

Les survivants ont été dénombrés sur PCA et l'incubation a été réalisée à 30°C pendant 3 à 4 jours.



**FIGURE 16** : Courbes de survie de *Micrococcus varians* dans le tampon phosphate.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|----------------------|
| 58               | 10 | 0,989 | - 0,07007 | 5,819 | 14,2                 |
| 59               | 14 | 0,976 | - 0,11332 | 5,542 | 8,8                  |
| 60               | 10 | 0,998 | - 0,20709 | 5,909 | 4,8                  |

**TABEAU 23** : Données statistiques des courbes du survie de *Micrococcus varians* dans le tampon phosphate.

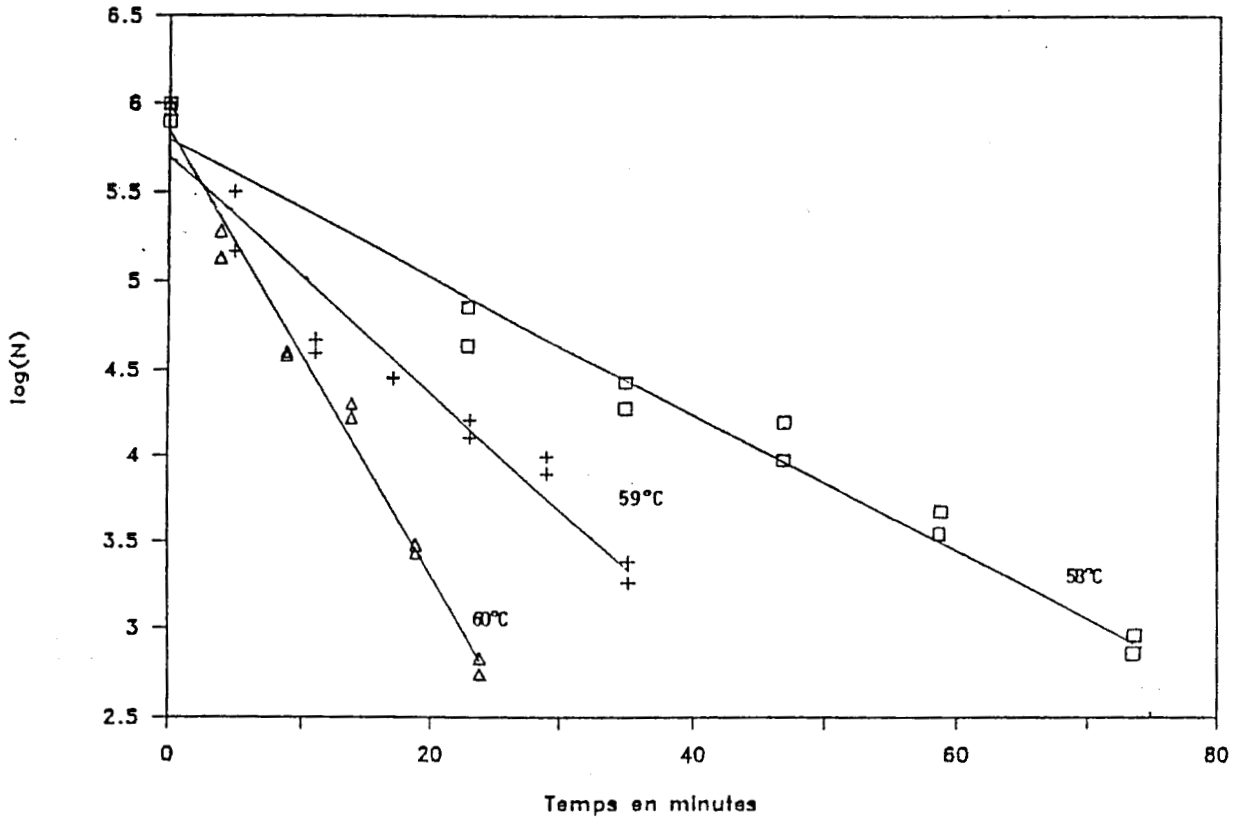


FIGURE 17 : Courbes de survie de *Micrococcus varians* dans le lieu noir.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|----------------------|
| 58               | 14 | 0,988 | - 0,03901 | 5,841 | 25,6                 |
| 59               | 14 | 0,970 | - 0,06773 | 5,702 | 14,7                 |
| 60               | 12 | 0,983 | - 0,12151 | 5,856 | 8,2                  |

TABLEAU 24 : Données statistiques des courbes de survie de *Micrococcus varians* dans le lieu noir.

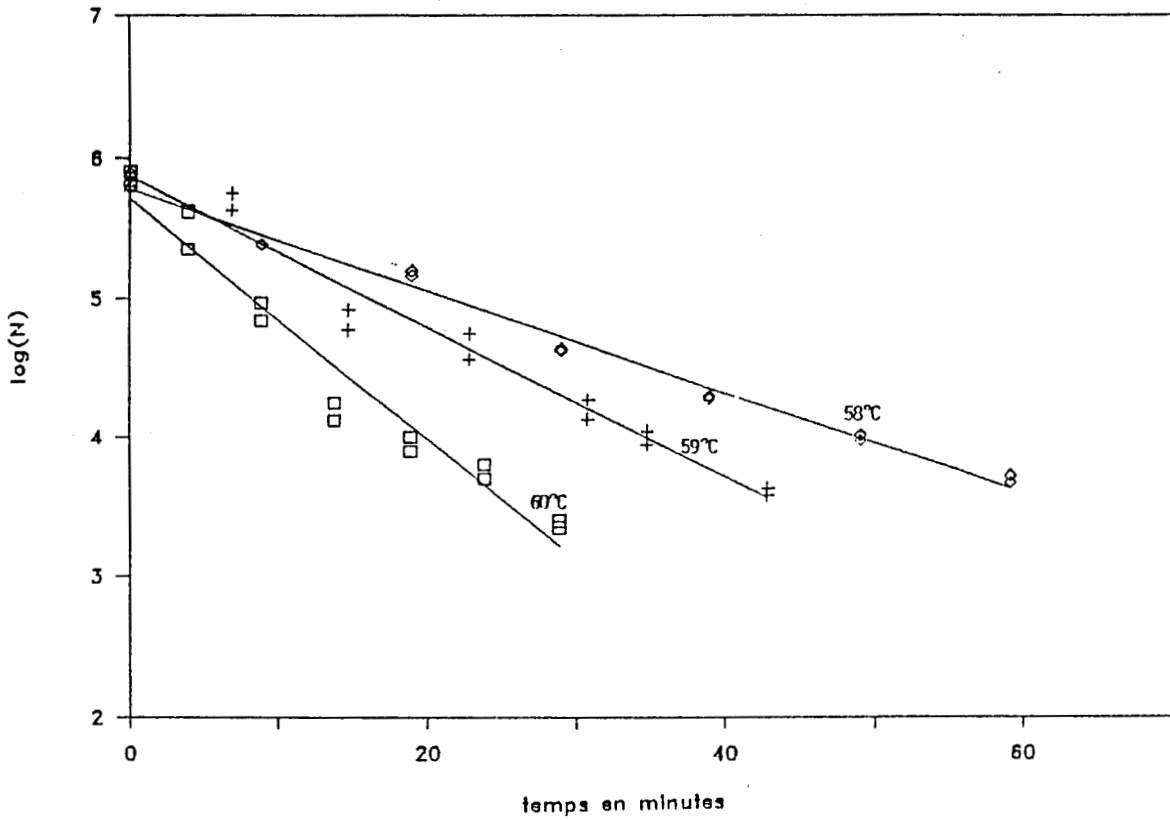


FIGURE 18 : Courbes de survie de *Micrococcus varians* dans la terrine.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a          | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|-------|------------|-------|----------------------|
| 58               | 14 | 0,994 | - 0,03616  | 5,784 | 27,6                 |
| 59               | 14 | 0,985 | - 0,052219 | 5,868 | 19,1                 |
| 60               | 14 | 0,978 | - 0,08653  | 5,713 | 11,5                 |

TABLEAU 25 : Données statistiques des courbes de survie de *Micrococcus varians* dans la terrine.



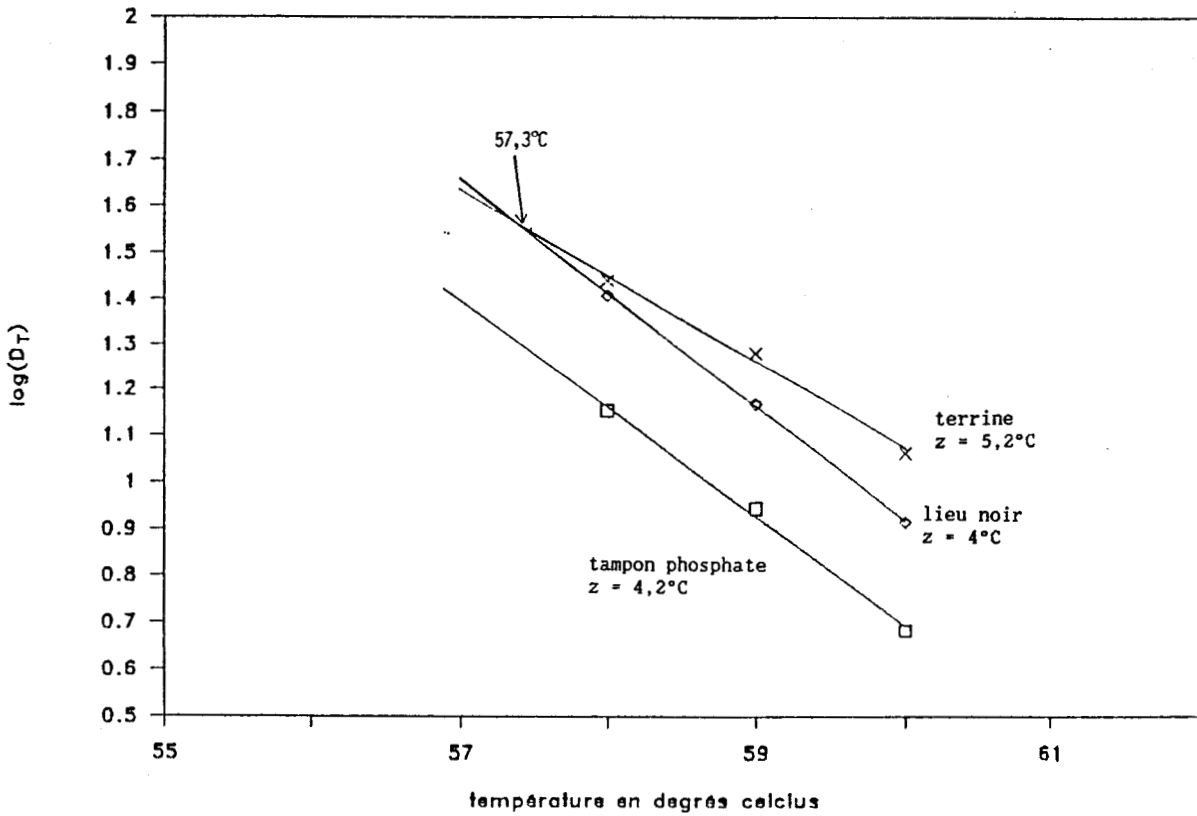


FIGURE 19: Courbes de destruction thermique de *Micrococcus varians* dans les différents milieux.

| MILIEU           | n | r     | a         | b      | Z (°C) |
|------------------|---|-------|-----------|--------|--------|
| TAMPON PHOSPHATÉ | 3 | 0,998 | - 0,23535 | 14,813 | 4,2    |
| LIEU NOIR        | 3 | 0,999 | - 0,2463  | 15,696 | 4      |
| TERRINE          | 3 | 0,995 | - 0,18945 | 12,439 | 5,2    |

TABLEAU 26 : Données statistiques des courbes de destruction thermique de *Micrococcus varians* dans les différents milieux.

Les valeurs de  $z$  de *Micrococcus varians* ne diffèrent pas significativement pour le risque 5 %, dans le tampon phosphate ( $z = 4,2^{\circ}\text{C}$ ) et la terrine ( $z = 5,2^{\circ}\text{C}$ ) et il en est de même dans le tampon phosphate ( $z = 4,2^{\circ}\text{C}$ ) et le lieu noir ( $z = 4^{\circ}\text{C}$ ). Par contre, elles diffèrent significativement dans le lieu noir ( $z = 4^{\circ}\text{C}$ ) et la terrine ( $z = 5,2^{\circ}\text{C}$ ) (annexe 5).

Par ailleurs, la courbe de TDT obtenue dans le tampon phosphate est nettement en dessous des autres courbes. *Micrococcus varians* est donc plus thermosensible dans le tampon phosphate que dans les autres milieux.

Les courbes de TDT obtenues dans le lieu noir et la terrine se croisent à la température  $T = 57,3^{\circ}\text{C}$ . *Micrococcus varians* est donc plus thermorésistant dans le lieu noir que dans la terrine aux températures strictement inférieures à  $57,3^{\circ}\text{C}$ .

#### 2.2.4. *Streptococcus faecium*

=====

Les courbes de survie obtenues dans les différents milieux sont représentées figures 20, 21 et 22. Dans les tableaux 27, 28 et 29, nous avons noté les caractéristiques des droites de régression (a et b), les données statistiques (n et r) et les temps de réduction décimale ( $D_T$ ).

Les courbes de destruction thermique (courbes de TDT) sont représentées figure 23. Dans le tableau 30, nous avons noté les caractéristiques des droites de régression, les données statistiques et les valeurs de  $z$ . Les résultats de la comparaison statistique des pentes des courbes de TDT sont notés en annexe 5.

Les survivants ont été dénombrés sur BEA et l'incubation a été réalisée à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48 h.

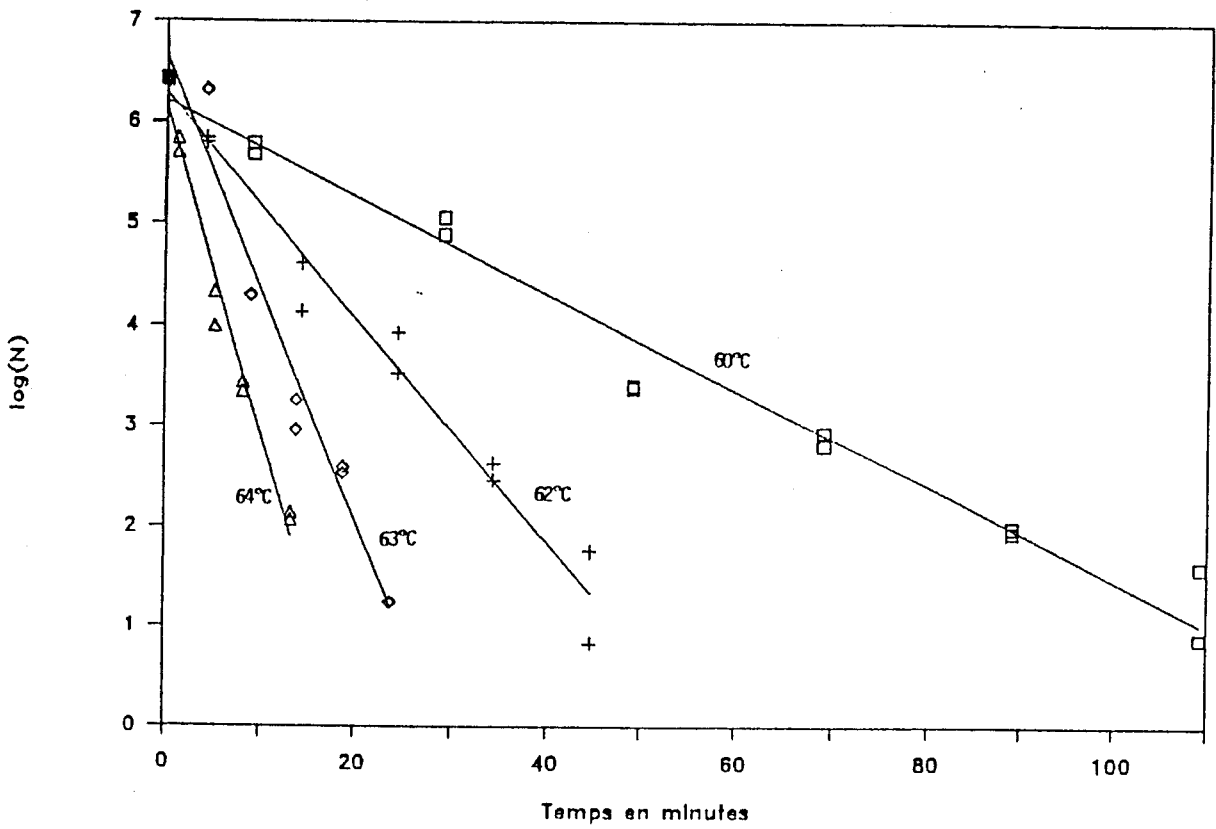


FIGURE 20 : Courbes de survie de *Streptococcus faecium* dans le tampon phosphate.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | $D_T$ (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|-------------|
| 60               | 14 | 0,990 | - 0,04715 | 6,230 | 21,2        |
| 62               | 12 | 0,988 | - 0,11018 | 6,335 | 9           |
| 63               | 12 | 0,981 | - 0,21677 | 6,729 | 4,6         |
| 64               | 10 | 0,993 | - 0,31095 | 6,301 | 3,2         |

TABLEAU 27 : Données statistiques des courbes de survie de *Streptococcus faecium* dans le tampon phosphate.

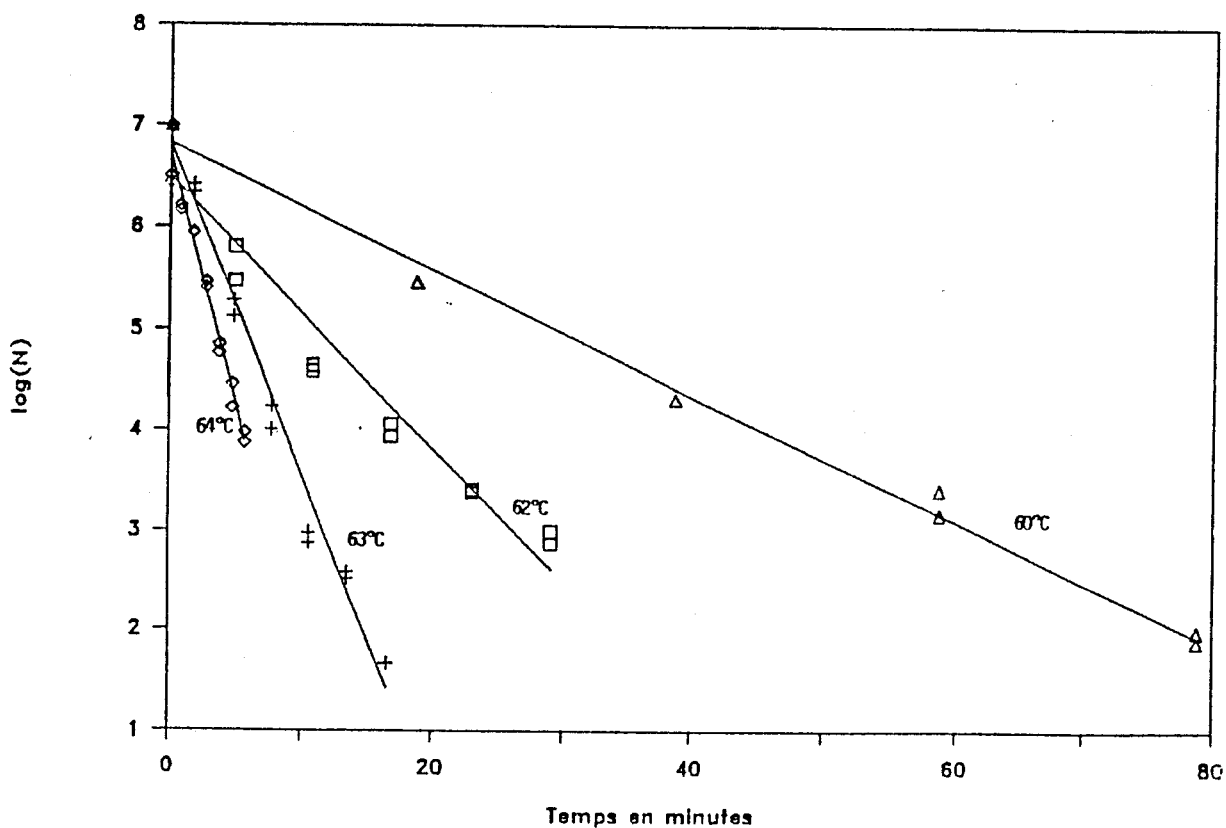


FIGURE 21 : Courbes de survie de *Streptococcus faecium* dans le lieu noir.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|----------------------|
| 60               | 10 | 0,996 | - 0,06204 | 6,825 | 16,1                 |
| 62               | 12 | 0,971 | - 0,13446 | 6,483 | 7,4                  |
| 63               | 14 | 0,992 | - 0,31991 | 6,824 | 3,1                  |
| 64               | 16 | 0,987 | - 0,48296 | 6,716 | 2                    |

TABLEAU 28 : Données statistiques des courbes de survie de *Streptococcus faecium* dans le lieu noir.

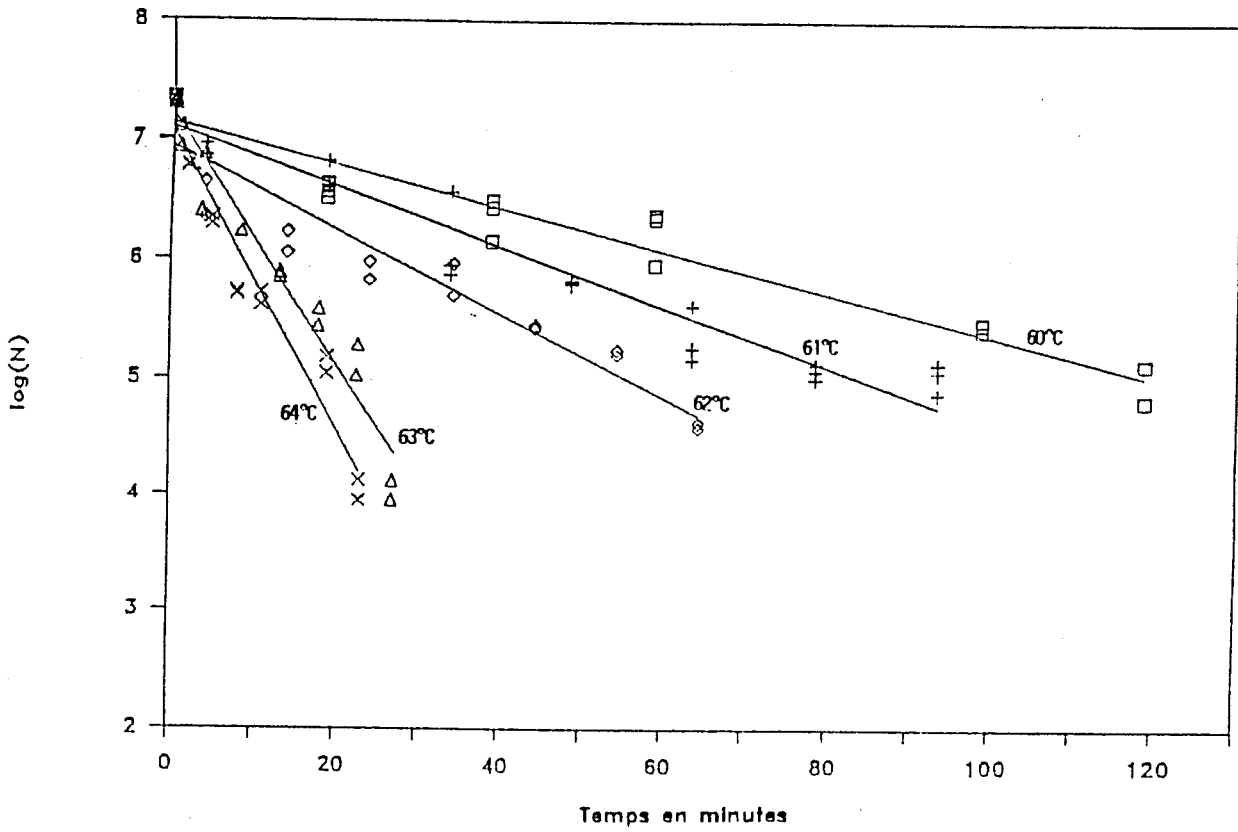


FIGURE 22 : Courbes de survie de *Streptococcus faecium* dans la terrine.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|----------------------|
| 60               | 16 | 0,965 | - 0,01778 | 7,134 | 56,2                 |
| 61               | 23 | 0,968 | - 0,02487 | 7,103 | 40,2                 |
| 62               | 17 | 0,952 | - 0,03551 | 6,934 | 28,1                 |
| 63               | 17 | 0,977 | - 0,09432 | 7,202 | 10,6                 |
| 64               | 15 | 0,972 | - 0,12531 | 7,083 | 7,9                  |

TABLEAU 29 : Données statistiques des courbes de survie de *Streptococcus faecium* dans la terrine.

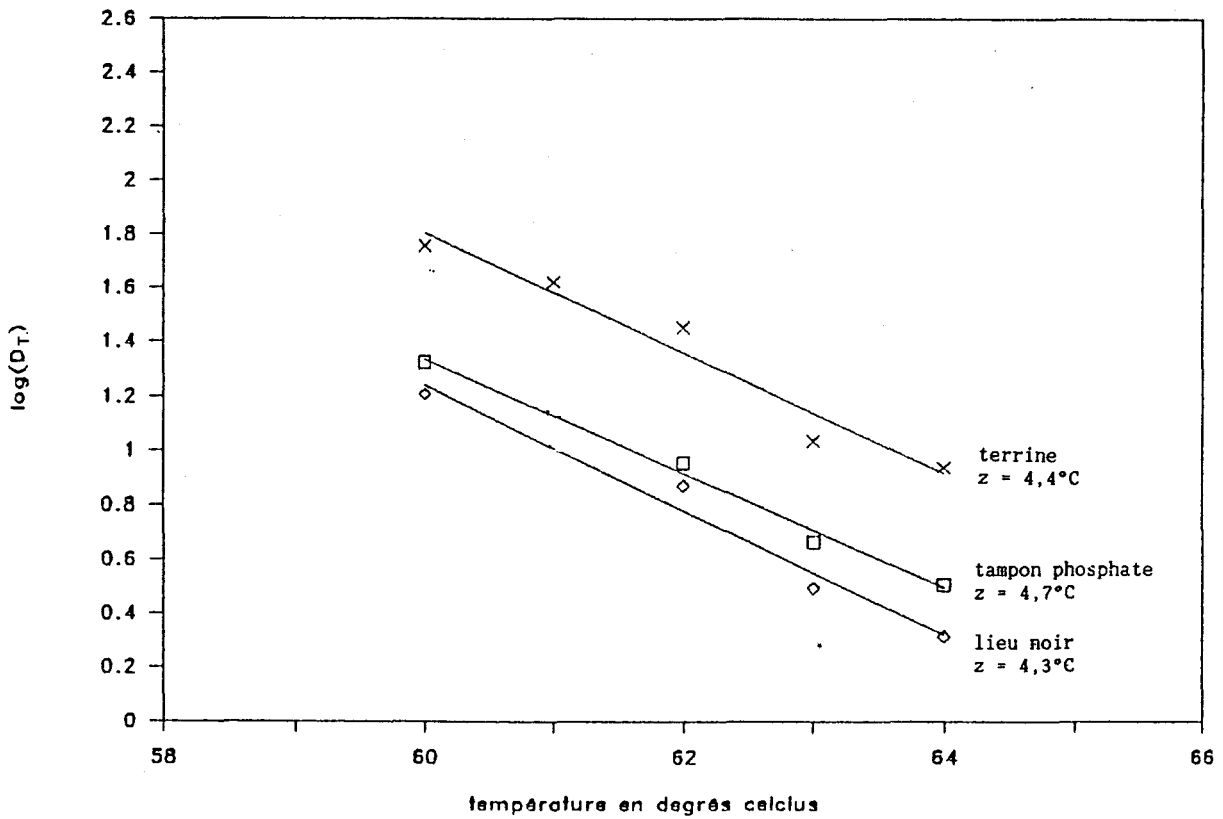


FIGURE 23 : Courbes de destruction thermique de *Streptococcus faecium* dans les différents milieux.

| MILIEU           | n | r     | a         | b      | Z (°C) |
|------------------|---|-------|-----------|--------|--------|
| TAMPON PHOSPHATE | 4 | 0,995 | - 0,20991 | 13,93  | 4,7    |
| LIEU NOIR        | 4 | 0,986 | - 0,2297  | 15,021 | 4,3    |
| TERRINE          | 5 | 0,977 | - 0,22289 | 15,18  | 4,4    |

TABLEAU 30 : Données statistiques des courbes de destruction thermique de *Streptococcus faecium* dans les différents milieux.

Les valeurs de  $z$  de *Streptococcus faecium* ne diffèrent pas significativement, pour le risque 5 %, dans les 3 milieux (annexe 5). Elles sont voisines de 4,5°C.

La courbe de TDT obtenue dans la terrine est nettement au dessus de celles obtenues dans le lieu noir et dans le tampon phosphate. *Streptococcus faecium* est donc plus thermorésistant dans la terrine.

Les différences sont d'ailleurs importantes puisqu'à 64°C, il faut 8 minutes environ pour réduire de 90 % la population de streptocoques dans la terrine, alors qu'il ne faut que 2 minutes dans le lieu noir, soit 4 fois moins de temps.

Magnus et al. (1986) ont étudié la thermorésistance de plusieurs souches de *Streptococcus faecium* dans du tampon phosphate et du bouillon de jambon. Ils ont obtenu des valeurs de  $D_{60}$  comprises entre 17 et 34 minutes dans le tampon et entre 17 et 36,5 minutes dans le bouillon de jambon. Ces valeurs correspondent à peu près à celles que l'on a déterminées dans le lieu noir et le tampon phosphate. Par contre la valeur trouvée dans la terrine est nettement supérieure.

En ce qui concerne les valeurs de  $z$ , Magnus et al. ont trouvé des valeurs plus élevées que les nôtres. Elles sont comprises entre 7 et 9,3°C dans le tampon phosphate et entre 9,6 et 12,8°C dans le bouillon de jambon.

Ott et al. (1960) ont étudié la thermorésistance de *Streptococcus faecalis* dans des pâtés de thon, pâtés de homard et pâtés de poisson blanc, ils ont trouvé des valeurs de  $D_{60}$  inférieures à celles que nous avons obtenues, celles-ci étaient en effet comprises entre 10,5 et 11,5 minutes et ils ont trouvé des valeurs de  $z$  voisines de 7°C, ce qui est supérieur à nos résultats.

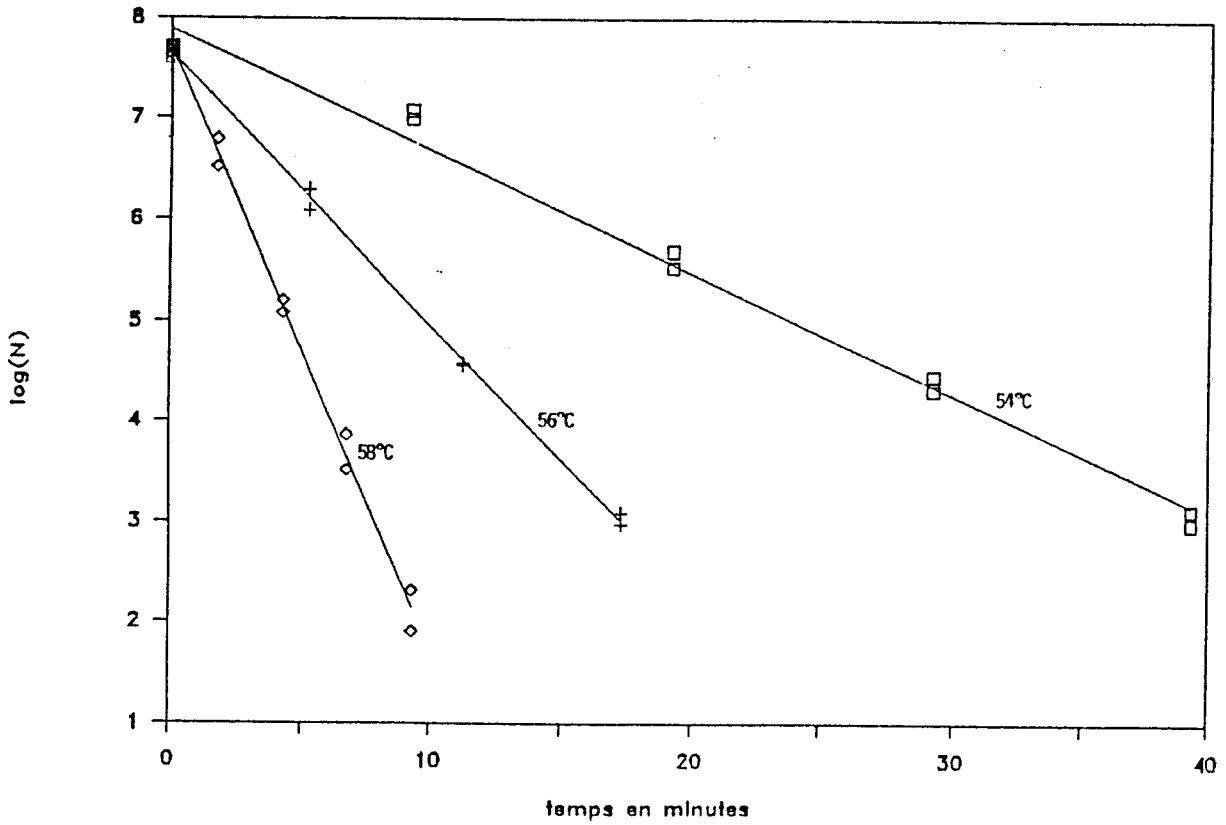
#### 2.2.5. *Yersinia enterocolitica*

=====

Les courbes de survie obtenues dans les différents milieux sont représentées figure 24, 25 et 26. Dans les tableaux 31, 32 et 33, nous avons noté les caractéristiques des droites de régression (a et b), les données statistiques (n et r) et les temps de réduction décimale ( $D_T$ ).

Les courbes de destruction thermique (courbes de TDT) sont représentées figure 27. Dans le tableau 34, nous avons noté les caractéristiques des droites de régression, les données statistiques et les valeurs de  $z$ . Les résultats de la comparaison statistique des pentes des courbes de TDT sont présentés en annexe 5.

Les survivants ont été dénombrés sur VRBG. L'incubation a été réalisée à 20°C pendant 24 h à 48 h.

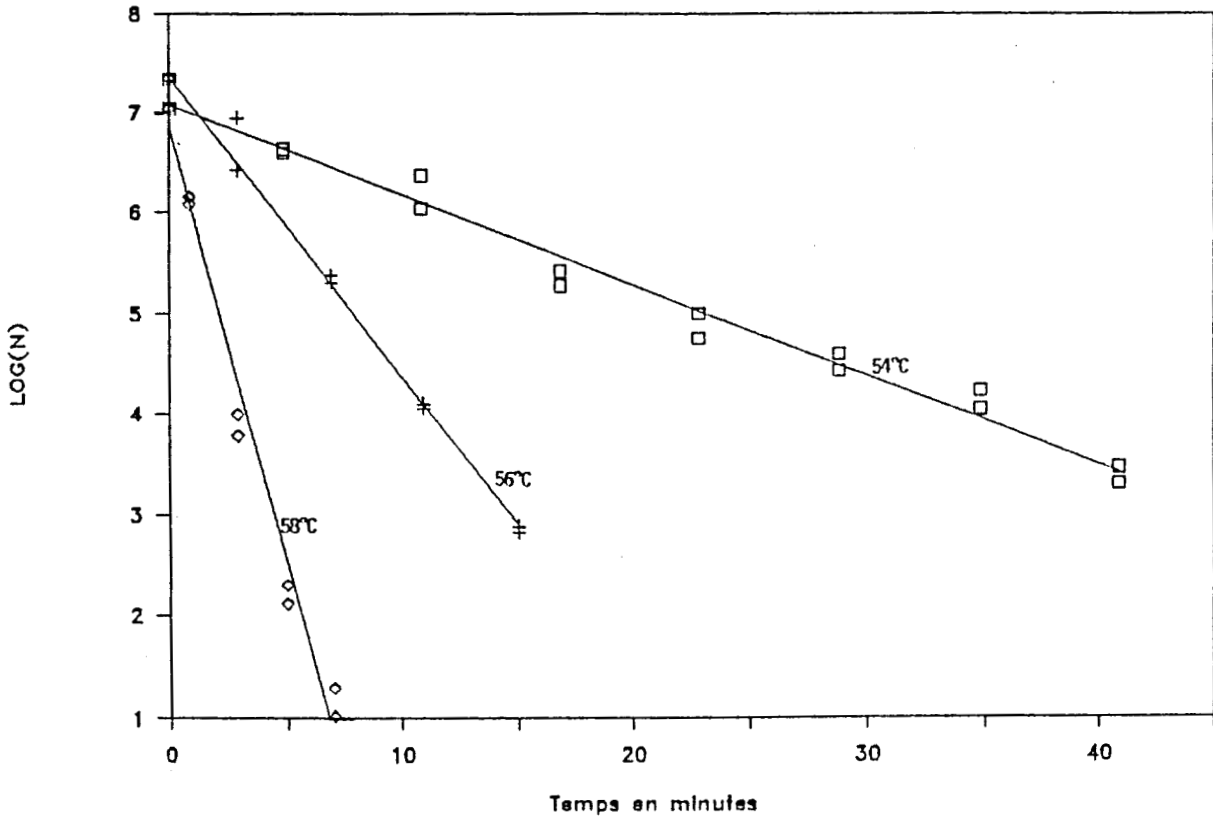


**FIGURE 24** : Courbes de survie de *Yersinia enterocolitica* dans le tampon phosphate.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|----------------------|
| 54               | 10 | 0,994 | - 0,12035 | 7,883 | 8,3                  |
| 56               | 8  | 0,999 | - 0,26632 | 7,622 | 3,7                  |
| 58               | 10 | 0,999 | - 0,59859 | 7,681 | 1,6                  |

**TABEAU 31** : Données statistiques des courbes de survie de *Yersinia enterocolitica* dans le tampon phosphate.

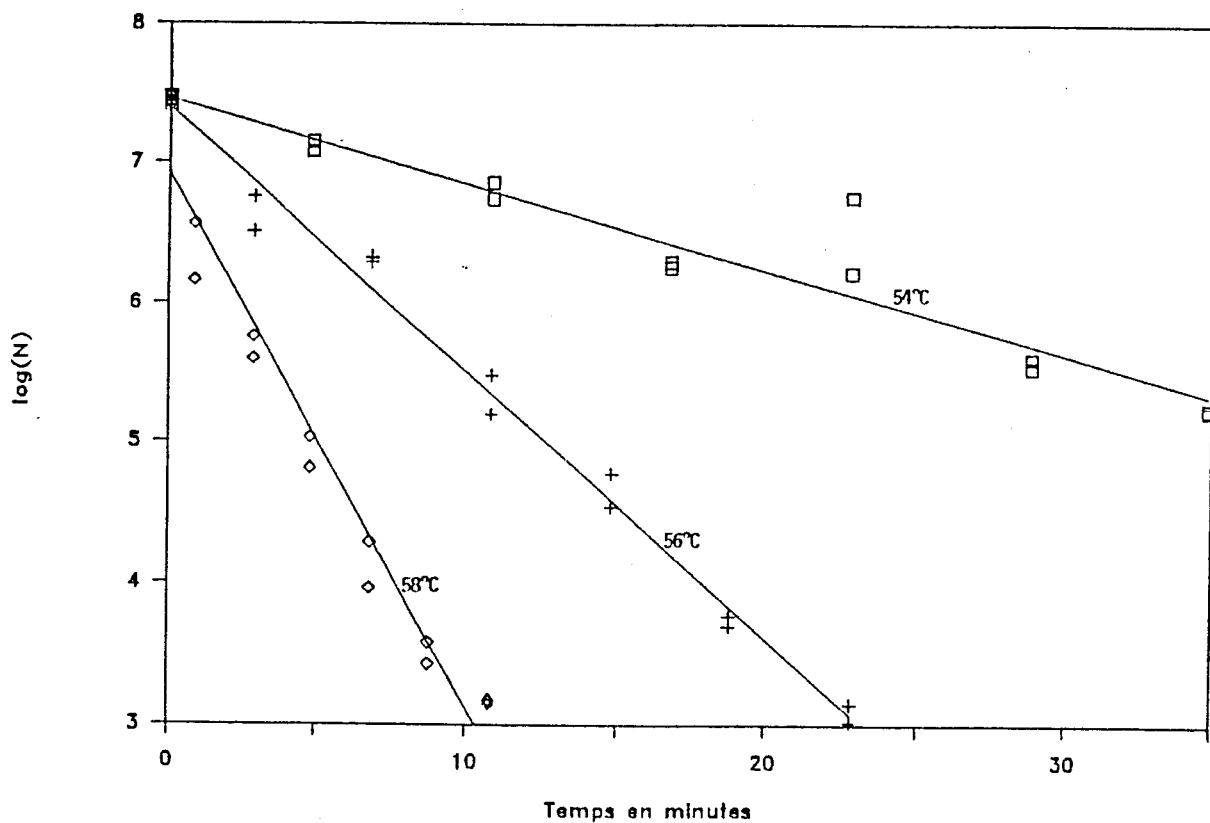




**FIGURE 25** : Courbes de survie de *Yersinia enterocolitica* dans le lieu noir.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|----------------------|
| 54               | 16 | 0,991 | - 0,0299  | 7,081 | 11,1                 |
| 56               | 10 | 0,993 | - 0,29944 | 7,365 | 3,3                  |
| 58               | 10 | 0,988 | -0,89046  | 6,863 | 1,1                  |

**TABLEAU 32** : Données statistiques des courbes de survie de *Yersinia enterocolitica* dans le lieu noir.



**FIGURE 26** : Courbes de survie de *Yersinia enterocolitica* dans la terrine.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|----------------------|
| 54               | 14 | 0,959 | - 0,06102 | 7,455 | 16,3                 |
| 56               | 14 | 0,994 | - 0,18655 | 7,392 | 5,3                  |
| 58               | 14 | 0,978 | - 0,37422 | 6,916 | 2,6                  |

**TABLEAU 33** : Données statistiques des courbes de survie de *Yersinia enterocolitica* dans la terrine.

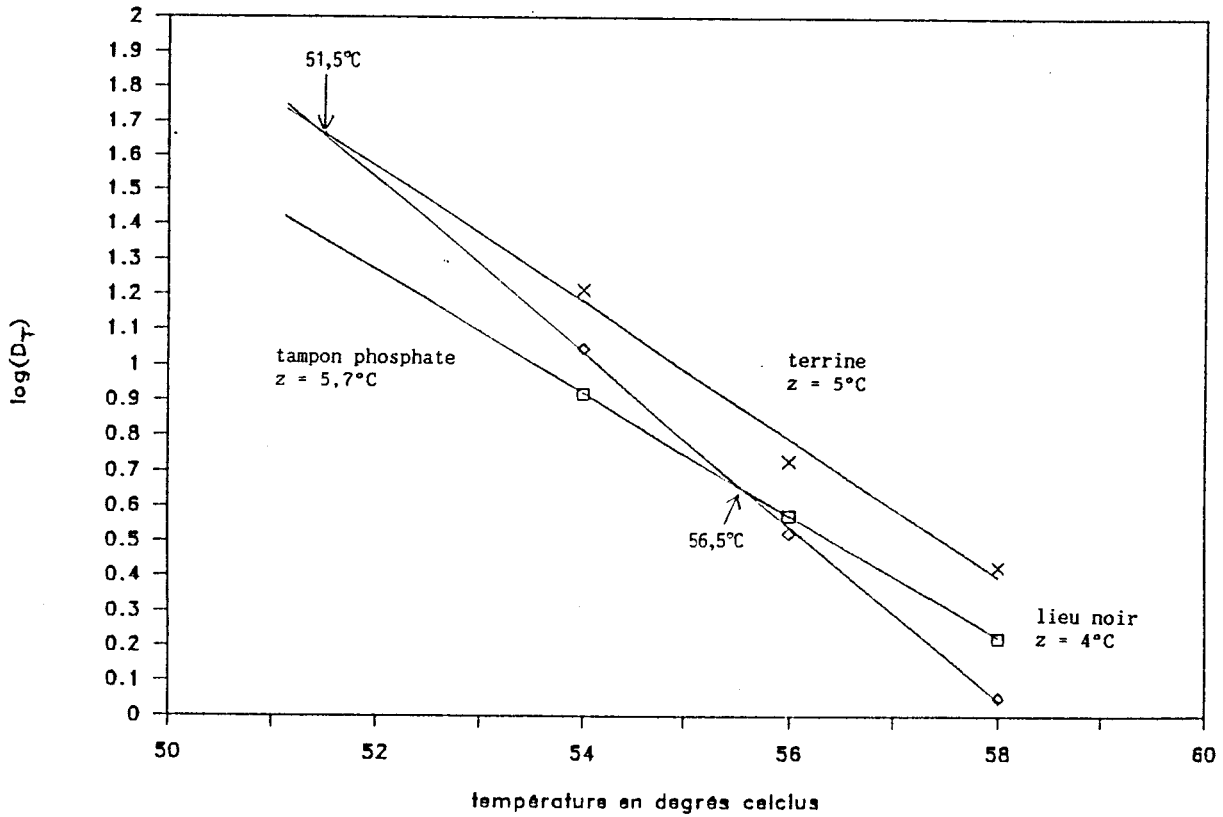


FIGURE 27 : Courbes de destruction thermique de *Yersinia enterocolitica* dans les différents milieux.

| MILIEU           | n | r     | a         | b      | Z (°C) |
|------------------|---|-------|-----------|--------|--------|
| TAMPON PHOSPHATE | 3 | 0,999 | - 0,17415 | 10,325 | 5,7    |
| LIEU NOIR        | 3 | 0,999 | - 0,24896 | 14,482 | 4      |
| TERRINE          | 3 | 0,991 | - 0,19690 | 11,817 | 5      |

TABLEAU 34 : Données statistiques des courbes de destruction thermique de *Yersinia enterocolitica* dans les différents milieux.

Les valeurs de  $z$  de *Yersinia enterocolitica* ne diffèrent pas significativement pour le risque 5 %, dans le tampon phosphate ( $z = 5,7^{\circ}\text{C}$ ) et la terrine ( $z = 5^{\circ}\text{C}$ ). Par contre, elles sont significativement différentes dans le lieu noir ( $z = 4^{\circ}\text{C}$ ) et les autres milieux (annexe 5).

La thermorésistance de *Yersinia enterocolitica* est plus faible dans le lieu noir que dans la terrine pour les températures supérieures à  $51,3^{\circ}\text{C}$ .

Dans la terrine, la thermorésistance est plus élevée que dans le tampon phosphate.

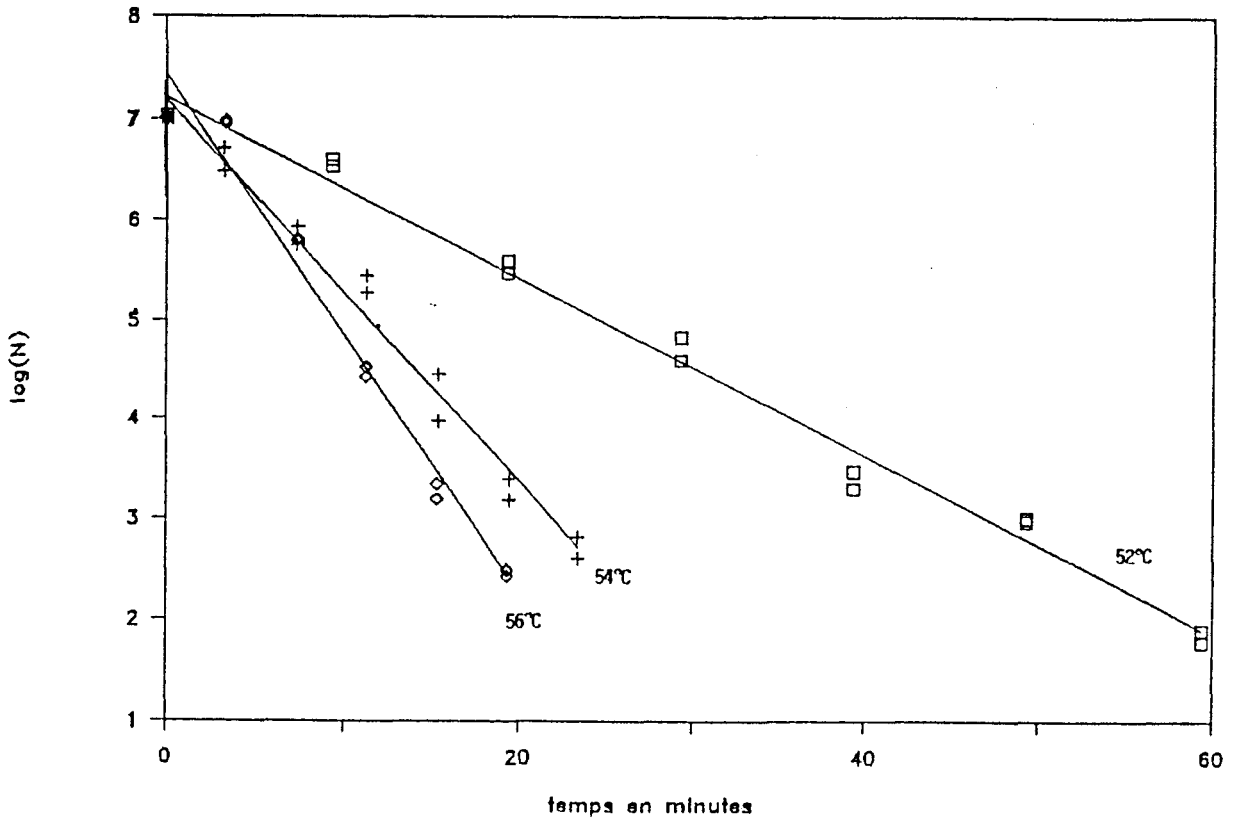
#### 2.2.6. *Staphylococcus aureus*

=====

Les courbes de survie obtenues dans les différents milieux sont représentées figures 28, 29 et 30. Dans les tableaux 35, 36 et 37, nous avons noté les caractéristiques des droites de régression ( $a$  et  $b$ ), les données statistiques ( $n$  et  $r$ ) et les temps de réduction décimale  $D_T$ .

Les courbes de destruction thermique (courbes de TDT) sont représentées figure 31. Dans le tableau 38, nous avons noté les caractéristiques des droites de régression, les données statistiques et les valeurs de  $z$ . Les résultats de la comparaison statistique des pentes des courbes de TDT sont notés en annexe 5.

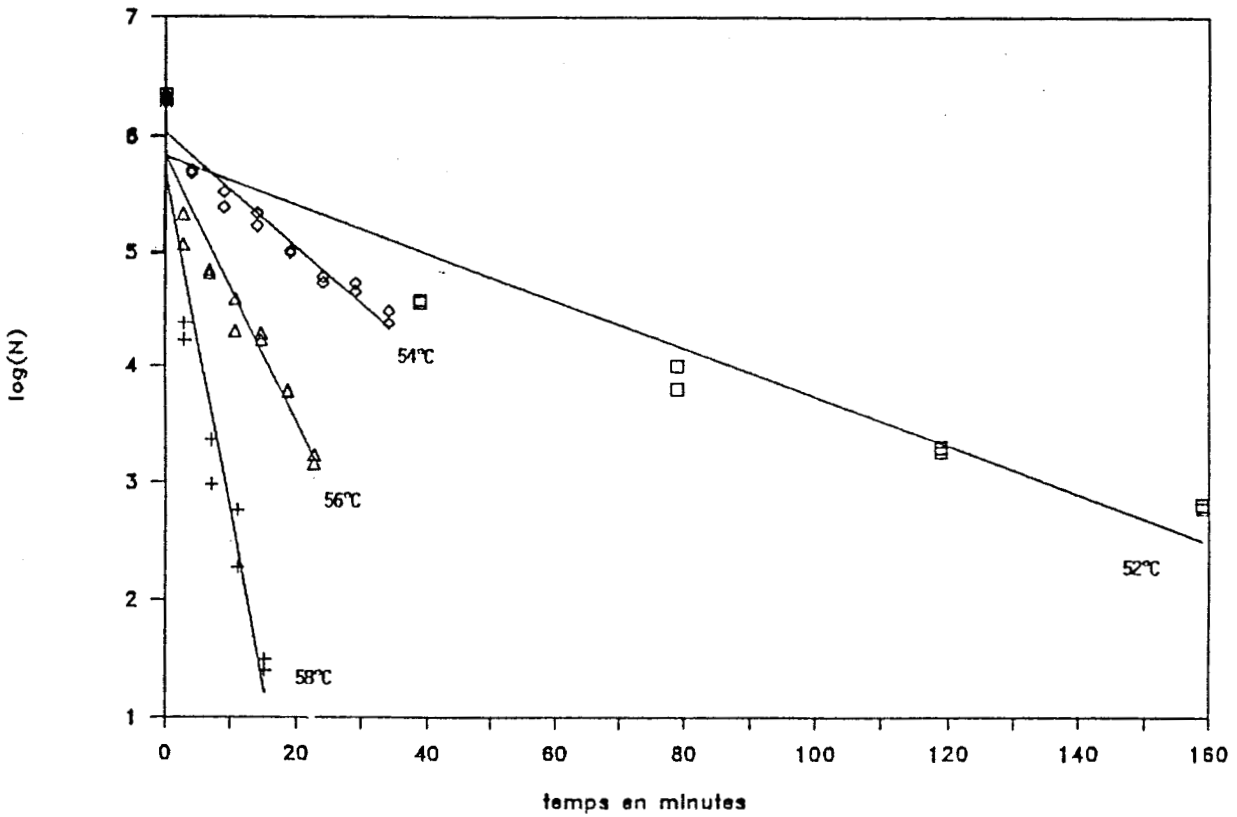
Les survivants ont été dénombrés sur Baird Parker, l'incubation a été réalisée à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures.



**FIGURE 28** : Courbes de survie de *Staphylococcus aureus* dans le tampon phosphate.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|----------------------|
| 52               | 14 | 0,994 | - 0,08945 | 7,213 | 11,1                 |
| 54               | 14 | 0,99  | - 0,19161 | 7,214 | 5,2                  |
| 56               | 12 | 0,987 | - 0,25655 | 7,442 | 3,8                  |

**TABLEAU 35** : Données statistiques des courbes de survie de *Staphylococcus aureus* dans le tampon phosphate.



**FIGURE 29** : Courbes de survie de *Staphylococcus aureus* dans le lieu noir.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r    | a         | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|------|-----------|-------|----------------------|
| 52               | 8  | 0,95 | - 0,02093 | 5,828 | 47,7                 |
| 54               | 16 | 0,96 | - 0,04930 | 6,029 | 20,2                 |
| 56               | 14 | 0,96 | - 0,11603 | 5,369 | 8,6                  |
| 58               | 10 | 0,96 | - 0,2093  | 5,697 | 4,7                  |

**TABLEAU 36** : Données statistiques des courbes de survie de *Staphylococcus aureus* dans le lieu noir.

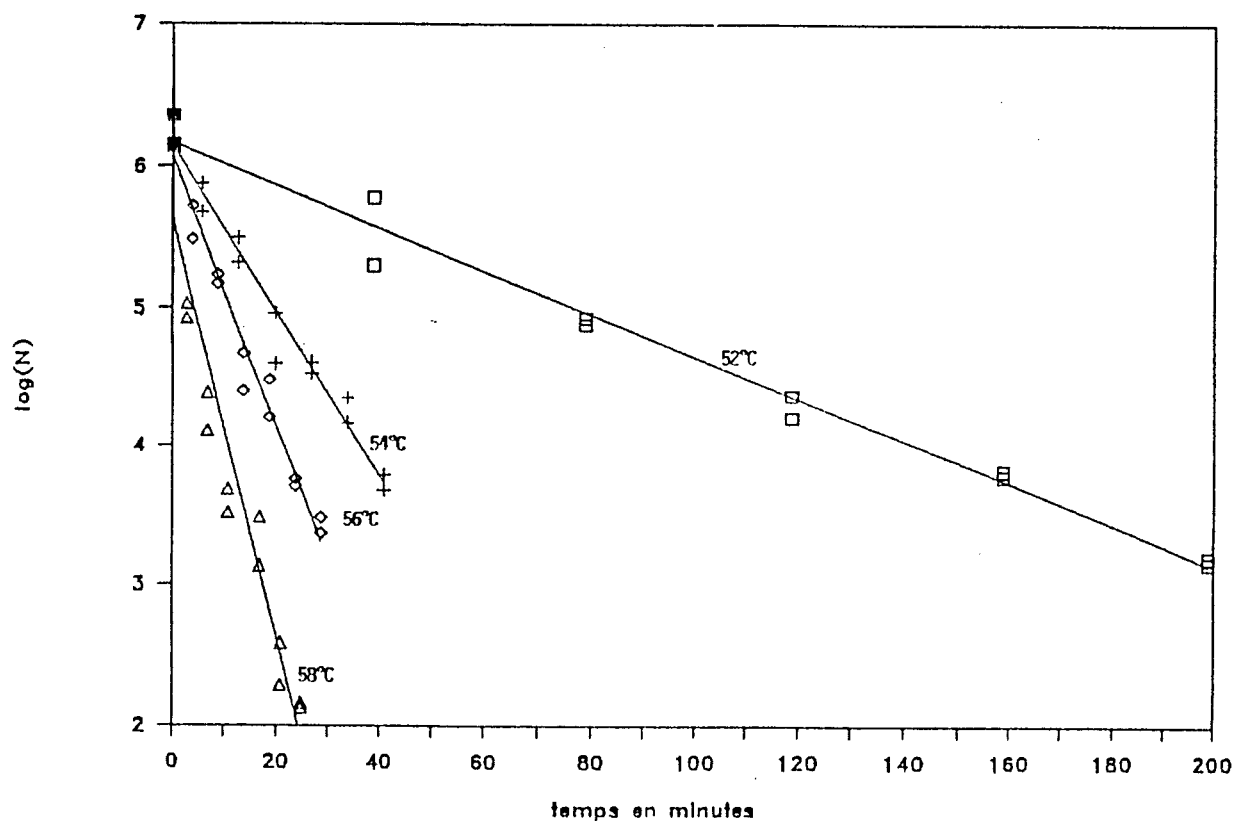


FIGURE 30 : Courbes de survie de *Staphylococcus aureus* dans la terrine.

| TEMPERATURE (°C) | n  | r     | a         | b     | D <sub>T</sub> (min) |
|------------------|----|-------|-----------|-------|----------------------|
| 52               | 12 | 0,992 | - 0,01518 | 6,166 | 65,8                 |
| 54               | 14 | 0,986 | - 0,05329 | 6,169 | 16,9                 |
| 56               | 14 | 0,986 | - 0,09488 | 6,072 | 10,5                 |
| 58               | 14 | 0,964 | - 0,1485  | 5,636 | 6,7                  |

TABLEAU 37 : Données statistiques des courbes de survie de *Staphylococcus aureus* dans la terrine.

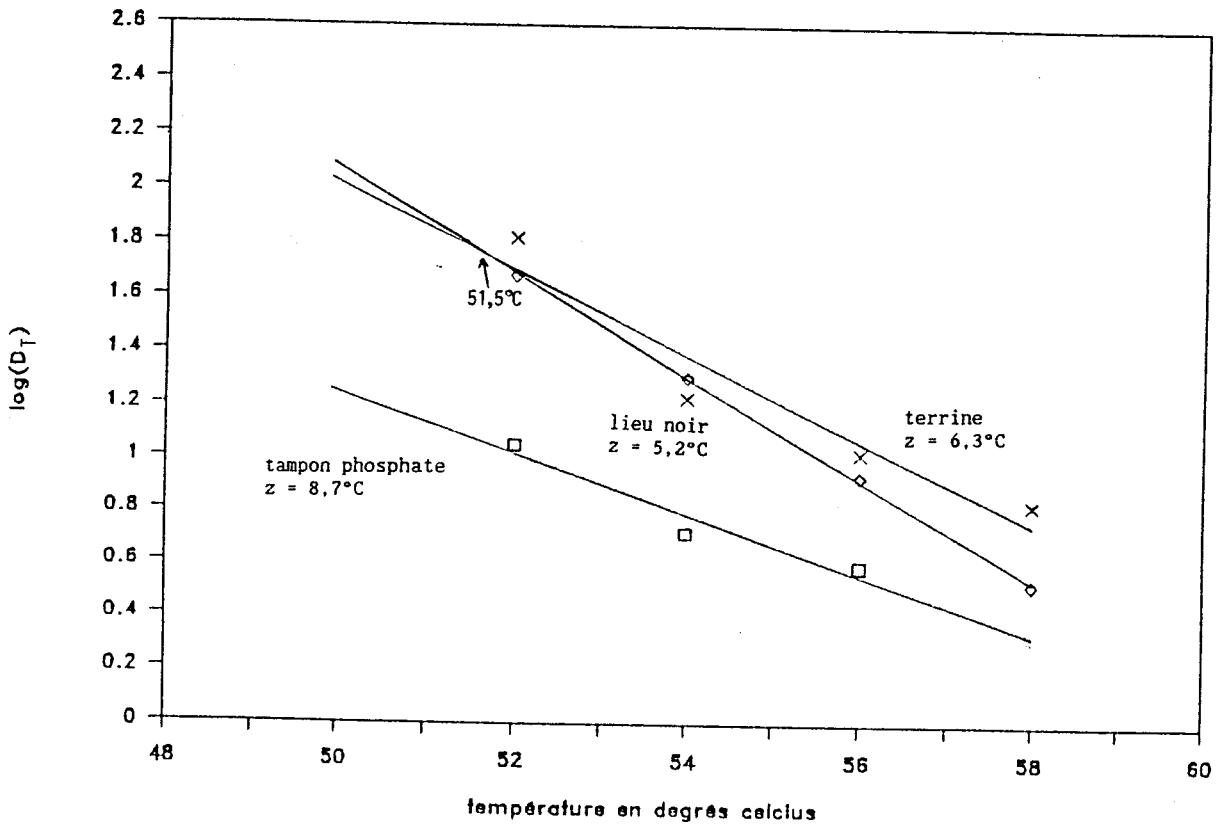


FIGURE 31 : Courbes de destruction thermique de *Staphylococcus aureus* dans les différents milieux.

| MILIEU           | n | r     | a         | b      | Z<br>(°C) |
|------------------|---|-------|-----------|--------|-----------|
| TAMPON PHOSPHATE | 3 | 0,968 | - 0,1144  | 6,963  | 8,7       |
| LIEU NOIR        | 4 | 0,99  | - 0,19193 | 11,663 | 5,2       |
| TERRINE          | 4 | 0,958 | - 0,1509  | 9,965  | 6,3       |

TABLEAU 38 : Données statistiques des courbes de destruction thermique de *Staphylococcus aureus* dans les différents milieux.



Les valeurs de  $z$  de *Staphylococcus aureus* sont significativement différentes pour le risque 5 %, dans les trois milieux (annexe 5).  $z$  est plus élevé dans le tampon phosphate ( $z = 8,7^{\circ}\text{C}$ ) que dans la terrine ( $z = 6,3^{\circ}\text{C}$ ) et dans le lieu noir ( $z = 5,2^{\circ}\text{C}$ ).

*Staphylococcus aureus* est plus thermosensible dans le tampon phosphate et il est plus thermorésistant dans le lieu noir que dans la terrine uniquement pour des températures inférieures à  $51,5^{\circ}\text{C}$ .

Les temps de réduction décimale à  $60^{\circ}\text{C}$ , déterminés à partir des courbes de TDT sont égaux à 1,2 minutes dans le tampon phosphate, 1,4 minutes dans le lieu noir, et 2,6 minutes dans la terrine. Ces valeurs sont légèrement inférieures à celles déterminées par Spencer (1967) dans diverses volailles. Celui-ci a en effet obtenu des temps de réduction décimale à  $60^{\circ}\text{C}$  compris entre 2,2 et 5,45 minutes.

Les valeurs de  $z$  sont par contre sensiblement voisines puisque nous avons obtenu des valeurs variant de  $5,2$  à  $8,7^{\circ}\text{C}$  et Spencer, des valeurs comprises entre 5 et  $6,83^{\circ}\text{C}$ .

Hurst et Hughes (1983), et Gaze (1985) ont également obtenu des valeurs de  $D_{60}$  sensiblement voisines des nôtres dans du tampon phosphate et de l'eau.

### 2.3. COMPARAISON DE LA THERMORESISTANCE DES GERMES

#### SELON LES MILIEUX ET SELON LES ESPECES

La thermorésistance des germes varie en fonction des milieux dans lesquels ils sont chauffés :

- *Pseudomonas putida* est plus thermorésistant dans le lieu noir que dans la terrine, alors que c'est l'inverse pour *Streptococcus faecium*.
- *Pseudomonas paucimobilis* est plus thermorésistant dans le lieu noir que dans la terrine aux températures inférieures à 65°C. *Micrococcus varians* est plus thermorésistant dans le lieu noir aux températures inférieures à 57,3°C et enfin *Staphylococcus aureus* et *Yersinia enterocolitica* sont plus thermorésistants dans le lieu noir aux températures inférieures à 51,5°C.
- *Pseudomonas paucimobilis*, *Micrococcus varians*, *Staphylococcus aureus* et *Yersinia enterocolitica* sont moins thermorésistants dans le tampon phosphate que dans les autres milieux. Pour *Streptococcus faecium*, la thermorésistance dans le tampon phosphate est plus importante que dans le lieu noir et moins importante que dans la terrine et pour *Pseudomonas putida*, c'est l'inverse.

Les valeurs de z sont significativement plus faibles (au risque 5 %), dans le lieu noir que dans la terrine, pour tous les germes excepté pour *Pseudomonas putida* et *Streptococcus faecium*. Pour ces germes, les valeurs sont les mêmes dans les deux milieux (tableau 39 et annexe 5). De même, les valeurs de z sont significativement plus faibles dans le lieu noir que dans le tampon phosphate, pour *Pseudomonas paucimobilis*, *Staphylococcus aureus* et *Yersinia enterocolitica*; pour les autres germes (*Streptococcus faecium*, *Pseudomonas putida* et *Micrococcus varians*), les valeurs sont les mêmes dans les deux milieux.

Par ailleurs, on observe que les valeurs de z sont moins dispersées dans le lieu noir que dans les autres milieux. En effet, dans le lieu noir, elles varient entre 4 et 5,8°C alors que dans la terrine elles varient entre 4,5 et 9,1°C et dans le tampon phosphate, entre 4,2 et 8,7°C.

En conclusion, d'une manière générale, les microorganismes sont plus sensibles à l'élévation de température dans le lieu noir que dans la terrine ; c'est pourquoi pour les températures inférieures à 51,5°C tous les germes excepté *Streptococcus faecium*, sont plus thermorésistants dans le lieu noir et quand la température s'élève, la tendance s'inverse ; ainsi pour les températures supérieures à 65°C tous les germes excepté *Pseudomonas putida* sont plus résistants dans la terrine.

|                           | <i>PSEUDOMONAS PAUCIMOBILIS</i> |      |      | <i>PSEUDOMONAS PUTIDA</i> |     |     | <i>MICROCOCCUS VARIANS</i> |     |      | <i>STREPTOCOCCUS FAECIUM</i> |      |     | <i>YERSINIA ENTEROCOLITICA</i> |     |   | <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> |     |     |
|---------------------------|---------------------------------|------|------|---------------------------|-----|-----|----------------------------|-----|------|------------------------------|------|-----|--------------------------------|-----|---|------------------------------|-----|-----|
|                           | A                               | B    | C    | A                         | B   | C   | A                          | B   | C    | A                            | B    | C   | A                              | B   | C | A                            | B   | C   |
| D <sub>60</sub><br>(min.) | 23,1                            | 83,9 | 41,2 | 0,2                       | 0,2 | 0,1 | 4,9                        | 8,2 | 11,8 | 21,6                         | 17,3 | 64  | 0,7                            | 0,3 | 1 | 1,2                          | 1,4 | 2,6 |
| Z<br>(°C)                 | 7,7                             | 5,8  | 9,1  | 5                         | 4,8 | 4,8 | 4,2                        | 4   | 5,2  | 4,7                          | 4,3  | 4,4 | 5,7                            | 4   | 5 | 8,7                          | 5,2 | 6,3 |

TABLEAU 39 : Valeurs de D<sub>60</sub> et de z des différents germes dans les milieux.  
(A : tampon phosphate, B : lieu noir, C : terrine)

Pour comparer la thermorésistance des germes entre eux, nous avons représenté pour les 3 milieux, les courbes de TDT de chacun des germes étudiés.

Dans le lieu noir (figure 32), la courbe de TDT de *Pseudomonas paucimobilis* est nettement au dessus de celles des autres germes. *Pseudomonas paucimobilis* est donc plus thermorésistant que les autres germes dans la zone de température étudiée. On trouve ensuite par ordre décroissant de thermorésistance : *Streptococcus faecium*, *Micrococcus varians*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* et *Pseudomonas putida*.

En comparant les temps de réduction décimale à 60°C (tableau 39), des 2 germes les plus thermorésistants, on observe une différence importante entre les deux.

En effet,  $D_{60} = 84$  minutes pour *Pseudomonas paucimobilis* et  $D_{60} = 17,3$  minutes pour *Streptococcus faecium*. Il faut donc environ 5 fois plus de temps à 60°C pour détruire *Pseudomonas paucimobilis* que *Streptococcus faecium*.

En ce qui concerne, les 2 germes pathogènes, les temps de réduction décimale à 60°C sont faibles comparés à celui de *Pseudomonas paucimobilis* :

$D_{60} = 0,3$  minutes pour *Yersinia enterocolitica* et  $D_{60} = 1,4$  minutes pour *Staphylococcus aureus*.

Dans la terrine (figure 33) *Pseudomonas paucimobilis* et *Streptococcus faecium* sont toujours les germes les plus thermorésistants, cependant *Pseudomonas paucimobilis* est plus thermorésistant que *Streptococcus faecium* uniquement pour des températures supérieures à 62°C.

Pour les autres germes, le classement en fonction de la thermorésistance est le même que dans le lieu noir. On trouve par ordre décroissant de thermorésistance : *Micrococcus varians*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* et *Pseudomonas putida*.

Les temps de réduction décimale à 60°C sont plus élevés dans la terrine que dans le lieu noir pour *Yersinia enterocolitica* et *Staphylococcus aureus* :  $D_{60} = 1$  minute pour *Yersinia enterocolitica* et  $D_{60} = 2,6$  minutes pour *Staphylococcus aureus*. Ces valeurs, malgré tout, restent faibles.

Enfin dans le tampon phosphate (figure 34), on observe sensiblement la même distribution que dans les autres milieux.

*Pseudomonas paucimobilis* et *Streptococcus faecium* sont toujours les plus thermorésistants. Ce dernier est plus thermorésistant que *Pseudomonas paucimobilis* uniquement pour des températures inférieures à 60°C.

*Staphylococcus aureus* est plus thermorésistant que *Yersinia enterocolitica*, uniquement pour des températures inférieures à 56°C.

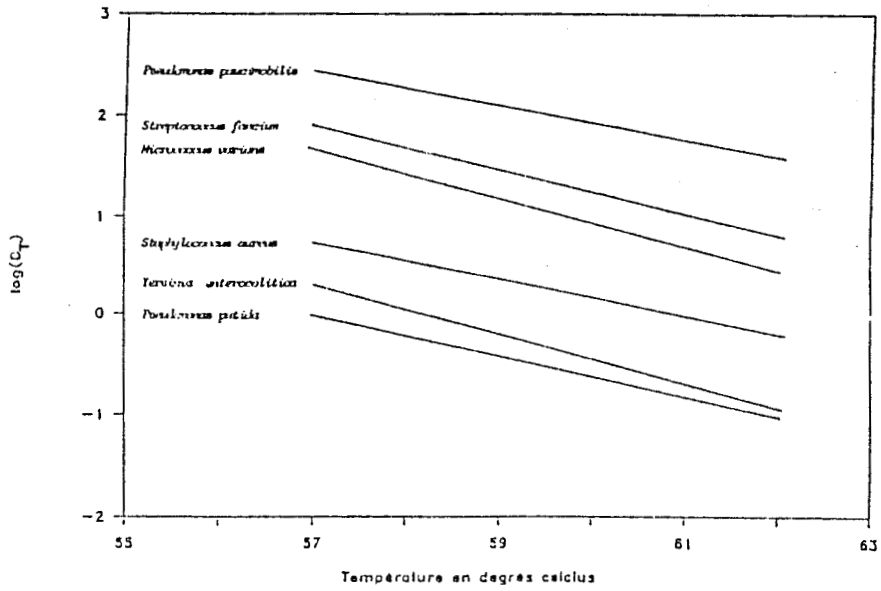


FIGURE 32 : Courbes de destruction thermique des différents germes dans le lieu noir.

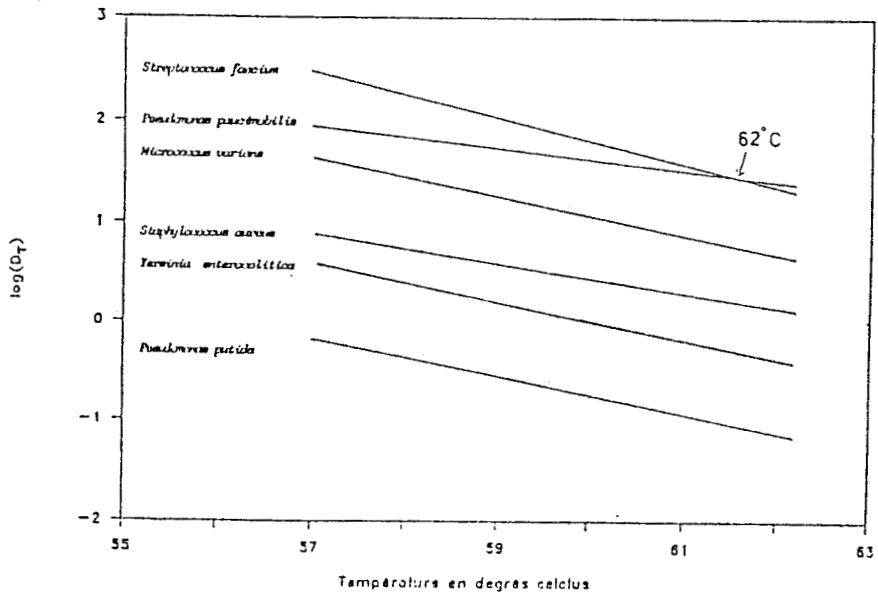


FIGURE 33 : Courbes de destruction thermique des différents germes dans la terrine.

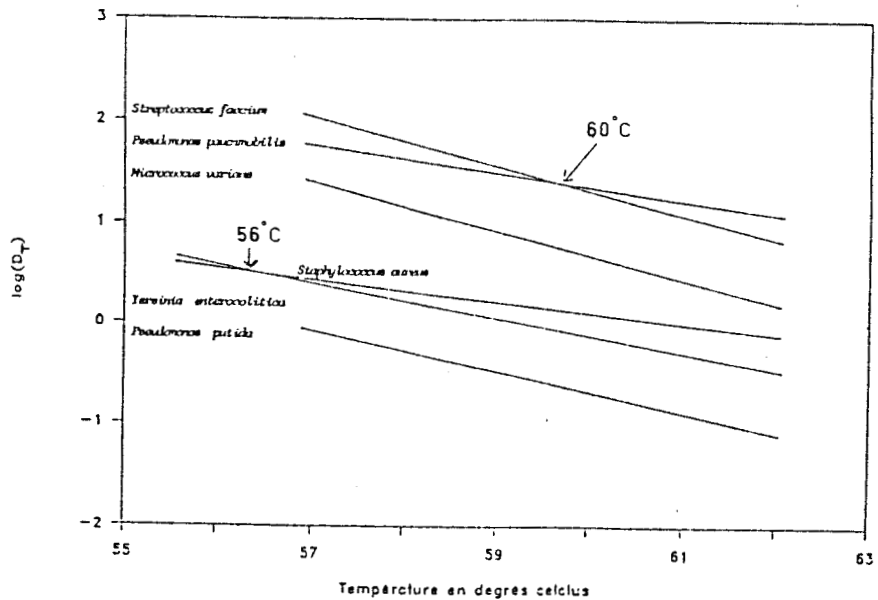


FIGURE 34 : Courbes de destruction thermique des différents germes dans le tampon phosphate.

Ces résultats sont un peu surprenants, car dans les gammes habituelles de température de pasteurisation (65 à 90°C), le germe le plus thermorésistant est un *Pseudomonas* : *Pseudomonas paucimobilis*. Ce germe est plus thermorésistant que *Streptococcus faecium* qui est pourtant connu pour sa thermorésistance élevée dans les produits carnés (Magnus et al. 1986, Reickert et al. 1979).

Les streptocoques fécaux : *Streptococcus faecium* et surtout *Streptococcus faecalis* sont trouvés abondamment dans les viandes salaisonnées et dans le jambon notamment. Reickert et al. (1979) ont montré qu'ils étaient apparemment les germes non sporulés les plus thermorésistants présents naturellement dans le jambon. Ils ont étudié la thermorésistance de *Streptococcus faecalis* qui est le plus souvent rencontré, et ils ont trouvé que  $z$  était égal à 10°C et que le temps de réduction décimale à 70°C était égal à 2,93 minutes.

En conséquence, *Streptococcus faecalis* a été choisi comme germe de référence pour la pasteurisation du jambon. C'est-à-dire que les valeurs pasteurisatrices ont été définies par rapport à ce germe, avec les paramètres de référence suivants :  $z = 10^\circ\text{C}$ ,  $T = 70^\circ\text{C}$  ( $D_{70} = 2,93$  minutes).

De même, sur le plan réglementaire, la durée de conservation des plats cuisinés tels que les produits cuits sous vide, est déterminée en fonction de la valeur pasteurisatrice appliquée. Dans l'attente de notion plus précise sur la flore spécifique des produits, les services officiels ont retenu *Streptococcus faecalis* comme germe de référence pour le calcul des valeurs pasteurisatrices.

Dans les produits de la mer : filets de poisson et terrines de poisson, pour s'assurer de la destruction en proportion suffisante, de la plupart des formes végétatives des bactéries, il n'est pas justifié de prendre les streptocoques fécaux comme germes de référence. Par contre, en s'assurant de la destruction de *Pseudomonas paucimobilis* en proportion satisfaisante, on devrait être assuré de celle de la quasi-totalité des autres germes non sporulés.

Ceci n'est vrai cependant, dans le cas des terrines de poisson, que si les températures à coeur en fin de cuisson sont supérieures à 62°C car si celles-ci ne dépassent pas 62°C, *Streptococcus faecium* est plus difficilement détruit par la chaleur que *Pseudomonas paucimobilis*. C'est donc ce germe qu'il faudrait prendre comme référence.

#### 2.4. DETERMINATION DES VALEURS PASTEURISATRICES MINIMALES A APPLIQUER

La valeur pasteurisatrice  $P_{T_{ref}}^z$  est définie par la relation.

$$P_{T_{ref}}^z = \log(N_0/N) \cdot D_{T_{ref}}$$

.  $z$  et  $D_{T_{ref}}$  sont les paramètres de thermorésistance du microorganisme considéré.

.  $T_{ref}$  est la température à laquelle est définie le temps de réduction décimale.

.  $\log(N_0/N)$  est le taux de destruction.

Nous avons calculé les valeurs pasteurisatrices minimales à appliquer pour détruire les différents germes étudiés.

Pour cela nous avons considéré 2 températures : 65°C, qui a été proposée comme température de référence pour la pasteurisation par Olhsson (1978), et 70°C qui est la température de référence officielle en France.

Pour définir les taux de destruction, nous avons tenu compte du niveau de contamination initial et du taux final de germes qu'il serait souhaitable d'avoir dans les produits :

- pour les 2 germes pathogènes, *Staphylococcus aureus* et *Yersinia enterocolitica*, nous avons considéré que dans les cas les plus défavorables, on pourrait avoir initialement  $10^4$  germes/g de produit et afin d'avoir une marge de sécurité importante, nous avons pensé qu'il faudrait avoir  $10^{-6}$  germes/g en fin de cuisson, soit 1 germe par tonne.

- pour *Streptococcus faecium*, d'après les analyses bactériologiques effectuées sur les filets de lieu noir et les terrines crues, dans les cas les plus défavorables on pourrait avoir  $10^5$  germes/g dans les terrines, et  $10^4$  germes/g dans les poissons.

Les streptocoques n'étant pas des germes pathogènes, il n'est pas nécessaire d'exiger un taux aussi faible après traitement thermique que dans le cas des germes pathogènes : nous avons donc défini le taux de streptocoques après traitement thermique à  $10^{-5}$  germes/g.

- pour les *Pseudomonas* et *Micrococcus varians*, nous avons défini arbitrairement que dans les cas les plus défavorables, on pourrait avoir  $10^4$  germes/g et qu'il faudrait exiger  $10^{-5}$  germes/g après cuisson.

Dans le tableau 40, nous avons indiqué les valeurs pasteurisatrices minimales à appliquer pour détruire les germes sur lesquels nous avons travaillé.

Ces valeurs ont été calculées à 65°C et 70°C avec les taux de destruction définis précédemment. (les valeurs de  $D_{65}$  et  $D_{70}$  indiquées dans le tableau ont été déduites des courbes de TDT).

Pour tous les germes, excepté *Pseudomonas paucimobilis* et *Staphylococcus aureus* dans la terrine, les valeurs pasteurisatrices calculées à 65°C sont environ 10 fois plus élevées que celles calculées à 70°C.

Les valeurs pasteurisatrices à appliquer pour détruire *Pseudomonas paucimobilis* sont nettement plus importantes que celles à appliquer pour détruire les autres germes.

En s'assurant de la destruction de *Pseudomonas paucimobilis*, plus thermorésistant apparemment que la plupart des formes végétatives rencontrées dans les produits de la mer, on devrait être assuré de la destruction en proportion satisfaisante de tous les microorganismes non sporulés pathogènes et responsables de l'altération.

Dans les filets de lieu noir et d'une manière plus générale, dans les poissons, il faudrait appliquer une valeur pasteurisatrice minimale :

$P_{70}^6 = 15$  minutes, pour être assuré de la destruction de la quasi-totalité des formes végétatives des bactéries.

Dans les terrines de poisson, il faudrait une valeur pasteurisatrice minimale :

$P_{70}^9 = 30$  minutes.

Rappelons que dans le cas des terrines de poisson, une valeur pasteurisatrice  $P_{70}^9 = 30$  minutes n'assurera pas la destruction de *Streptococcus faecium* en proportion suffisante si les températures à coeur en fin de cuisson sont inférieures à 62°C. Si les cuissons étaient effectuées à des températures voisines de 60°C, il faudrait appliquer une valeur pasteurisatrice minimale :  $P_{70}^{4,5} = 4$  minutes.



|                                           | <i>PSEUDOMONAS PAUCIMOBILIS</i> |           | <i>PSEUDOMONAS PUTIDA</i> |           | <i>MICROCOCCUS VARIANS</i> |           | <i>STREPTOCOCCUS FAECIUM</i> |           | <i>YERSINIA ENTEROCOLITICA</i> |           | <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> |           |
|-------------------------------------------|---------------------------------|-----------|---------------------------|-----------|----------------------------|-----------|------------------------------|-----------|--------------------------------|-----------|------------------------------|-----------|
|                                           | B                               | C         | B                         | C         | B                          | C         | B                            | C         | B                              | C         | B                            | C         |
| N<br>(nombre final de germes/g)           | $10^{-5}$                       | $10^{-5}$ | $10^{-5}$                 | $10^{-5}$ | $10^{-5}$                  | $10^{-5}$ | $10^{-5}$                    | $10^{-5}$ | $10^{-6}$                      | $10^{-6}$ | $10^{-6}$                    | $10^{-6}$ |
| No<br>(nombre initial de germes/g)        | $10^4$                          | $10^4$    | $10^4$                    | $10^4$    | $10^4$                     | $10^4$    | $10^4$                       | $10^5$    | $10^4$                         | $10^4$    | $10^4$                       | $10^4$    |
| $\log(N_0/N)$                             | 9                               | 9         | 9                         | 9         | 9                          | 9         | 9                            | 10        | 10                             | 10        | 10                           | 10        |
| z (°C)                                    | 5,8                             | 9,1       | 4,3                       | 4,3       | 4                          | 5,2       | 4,3                          | 4,4       | 4                              | 5         | 5,2                          | 6,3       |
| D <sub>65</sub><br>(minutes)              | 11,7                            | 11,7      | 0,323                     | 0,315     | 0,48                       | 1,33      | 1,23                         | 4,92      | 0,019                          | 0,1       | 0,154                        | 0,43      |
| D <sub>70</sub><br>(minutes)              | 1,54                            | 3,32      | 0,002                     | 0,001     | 0,023                      | 0,15      | 0,087                        | 0,38      | 0,001                          | 0,01      | 0,017                        | 0,069     |
| P <sub>65</sub> <sup>z</sup><br>(minutes) | 105,48                          | 105,39    | 0,21                      | 0,144     | 4,32                       | 11,97     | 11,07                        | 49,2      | 0,19                           | 1         | 1,54                         | 4,3       |
| P <sub>70</sub> <sup>z</sup><br>(minutes) | 14,76                           | 29,38     | 0,018                     | 0,009     | 0,25                       | 1,35      | 0,78                         | 3,3       | 0,01                           | 0,1       | 0,17                         | 0,69      |

**TABLEAU 40** : Valeurs pasteurisatrices minimales à appliquer à 65°C et 70°C pour détruire les germes dans le lieu noir (B) et la terrine (C).

\*\*\*\*\*  
 \*  
 - 3 - \* EVOLUTION AU COURS DU TEMPS DES FLORES BACTERIENNES \*  
 \* DE FILETS DE LIEU NOIR ET TERRINES DE POISSON CUITS SOUS VIDE \*  
 \*  
 \*\*\*\*\*

Nous avons cuit sous vide à différents barèmes des filets de lieu noir et des terrines Saint-Jacques et nous avons suivi l'évolution de la flore bactérienne mésophile aéro-anaérobie au cours de la conservation à +2 et +8°C. Par ailleurs, nous avons également recherché les anaérobies sulfito-réducteurs et les germes mésophiles anaérobies stricts.

3.1. LIEU NOIR  
 ~~~~~

Six traitements thermiques ont été réalisés. Dans le tableau 41 nous avons noté leurs caractéristiques. (En annexe 6, nous donnons un exemple de courbes d'évolution de la température à coeur des produits et des températures des enceintes de cuisson et de refroidissement en fonction du temps.)

Les valeurs pasteurisatrices ont été déterminées avec les paramètres de référence suivants :

- température de référence : 70°C (température de référence officielle en France).
- z = 6°C, cette valeur est celle de *Pseudomonas paucimobilis* dans le lieu noir.
- z = 4,5°C, cette valeur correspond au Z moyen dans le lieu noir, des germes sur lesquels nous avons travaillé, excepté *Pseudomonas paucimobilis*.
- z = 10°C, il s'agit de la valeur de référence officielle correspondant à *Streptococcus faecalis*.

Nous avons déterminé les valeurs pasteurisatrices avec z = 10°C afin de pouvoir comparer les traitements effectués sur les filets de poisson et ceux effectués sur les terrines.

Dans ce tableau, nous avons également noté, compte tenu de la quantité Q de poisson par échantillon (Q = 300 g), les nombres NQ de germes subsistant théoriquement après traitement thermique par échantillon et les nombres NQ de *Streptococcus faecium* et de *Pseudomonas paucimobilis* qu'il serait souhaitable d'avoir (N étant le nombre de germes par gramme). Les valeurs de N₀ prises en considération ont été celles définies paragraphe 2.4, tableau 40.

		TRAITEMENT 1	TRAITEMENT 2	TRAITEMENT 3	TRAITEMENT 4	TRAITEMENT 5	TRAITEMENT 6
TEMPERATURE DE CUISSON (°C)		80	80	80	85	85	85°C pendant 60 minutes puis 90°C pendant 33 minutes
TEMPS DE CUISSON (minutes)		28	33	45	59	70	90
TEMPERATURE A COEUR EN FIN DE CUISSON (°C)		60	65	72	76	80	88
VALEUR PASTEURISATRICE TOTALE A COEUR (°C)	$P_{70}^{4,5}$	0,08	0,33	36,6	34,6	1 743	113 185
	P_{70}^6	0,3	0,93	27,39	174	612	13 954
	P_{70}^{10}	1,2	2,1	23	71	191	1 321
NOMBRES NQ de germes subsistant après traitement thermique par échantillon	<i>Pseudomonas putida</i>	négligeable ($< 10^{-10}$)	négligeable	négligeable	négligeable	négligeable	négligeable
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$6 \cdot 10^1$	négligeable	négligeable	négligeable	négligeable	négligeable
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	négligeable	négligeable	négligeable	négligeable	négligeable	négligeable
	<i>Micrococcus varians</i>	$4 \cdot 10^3$	$8 \cdot 10^{-8}$	négligeable	négligeable	négligeable	négligeable
	<i>Streptococcus faecium</i>	$3 \cdot 10^5$	10^2	négligeable	négligeable	négligeable	négligeable
	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	$2 \cdot 10^6$	10^6	négligeable	négligeable	négligeable	négligeable
VALEUR PASTEURISATRICE à appliquer pour détruire <i>Streptococcus faecium</i> ($\log(N_0/N) = 9$)		$P_{10}^{4,5} = 0,8$ minutes					
NOMBRE NQ de <i>Streptococcus faecium</i> que l'on souhaite avoir par échantillon après traitement thermique		$NQ = 3 \cdot 10^{-3}$ germes / échantillon					
VALEUR PASTEURISATRICE à appliquer pour détruire <i>Pseudomonas paucimobilis</i> ($\log(N_0/N) = 9$)		$P_{10}^6 = 15$ minutes					
NOMBRE NQ de <i>Pseudomonas paucimobilis</i> que l'on souhaite avoir par échantillon après traitement thermique		$NQ = 3 \cdot 10^{-3}$ germes / échantillon					

TABLEAU 41 : Valeurs pasteurisatrices des cuissons sous vide des filets de lieu noir et nombres NQ de germes après traitement thermique. Comparaison avec les valeurs à atteindre, pour les germes les plus thermorésistants.

Le traitement 1 ne devrait pas être suffisant pour détruire de façon significative *Pseudomonas paucimobilis*, *Streptococcus faecium*, *Micrococcus varians* et *Staphylococcus aureus*, puisque les quantités NQ théoriques de germes subsistant après traitement thermique par échantillon sont supérieures à 10 (pour $N_0 = 10^4$ germes/g).

Le traitement 2 devrait théoriquement permettre la destruction de tous les germes non sporulés en proportion satisfaisante, excepté celle de *Pseudomonas paucimobilis* et *Streptococcus faecium*.

Enfin, les autres traitements ne devraient laisser subsister que des germes sporulés.

3.1.1. Qualité initiale des filets avant traitement thermique

Les résultats des analyses microbiologiques et des dosages d'ABVT effectués sur les filets de lieu noir sont notés tableau 42.

ANALYSES	1	2	3	4
ABVT (µg d'azote/100 g de chair)	23	21,5	25	22
FLORE AEROBIE MESOPHILE TOTALE (/g)	1 000 000	3 170 000	500 000	300 000
FLORE AEROBIE PSYCHROTROPHE (/g)	5 500 000	1 000 000	1 800 000	1 800 000
STREPTOCOQUES FECALUX (/g)	400	400	100	90
ENTEROBACTERIES (/g)	500	800	750	1 000
STAPHYLOCOQUES PATHOGENES (/g)	< 50	< 50	< 50	< 50
MICROCOQUES STAPHYLOCOQUES (/g)	500	900	1 000	33 000
GERMES SPORULES AEROBIES (/g)	8	5	5	6
ANAEROBIES SULFITE REDUCTEURS (/g)	0	0	0	0

TABLEAU 42 : Résultats des analyses microbiologiques et des dosages d'ABVT effectués sur les filets de lieu noir frais.

3.1.2. Evolution quantitative

3.1.2.1. Flore mésophile aéro-anaérobie facultative

Les analyses effectuées à un rythme d'une fois par semaine ont porté en moyenne sur 4 échantillons, car des essais préliminaires avaient montré qu'au cours de la conservation, la multiplication des germes ne débutait pas en même temps dans tous les échantillons.

Sur les figures 35 à 46, nous avons représenté l'évolution de la flore totale des échantillons au cours du temps, en fonction de la température de conservation et du traitement thermique. Etant données les fluctuations importantes du nombre de germes selon les échantillons, sur chaque figure nous avons représenté 2 courbes : l'une correspond à l'évolution de la flore totale des échantillons les plus contaminés, l'autre à l'évolution de la flore totale des échantillons les moins contaminés.

Pour exploiter les résultats et comparer l'influence de la température de conservation et du traitement thermique sur le développement des germes thermorésistants, nous avons repéré sur chaque courbe 2 temps :

- le temps nécessaire pour que le premier échantillon analysé ait une flore totale égale à 10^5 germes/g.
- le temps nécessaire pour que tous les échantillons analysés aient une flore totale au moins égale à 10^5 germes/g.

Les résultats sont notés dans le tableau 43.

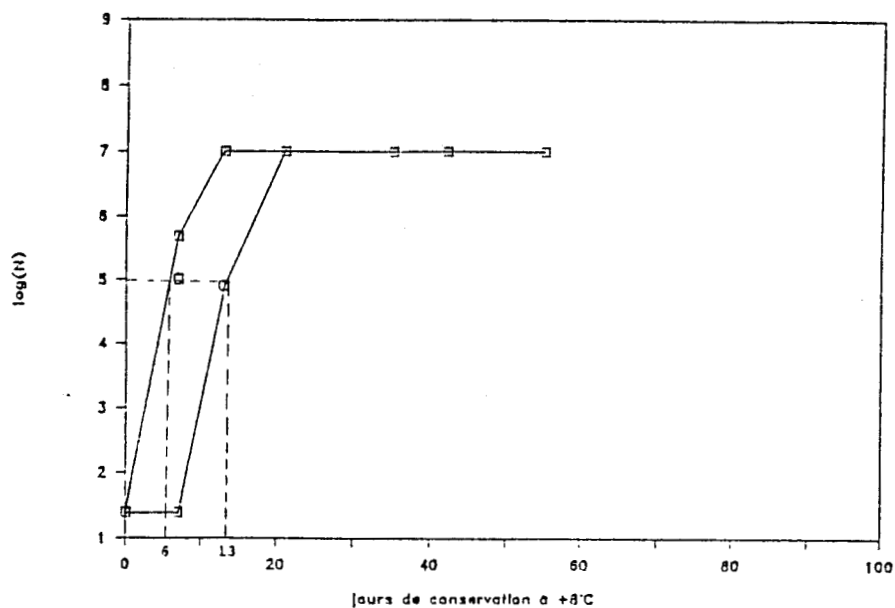


FIGURE 35 : Evolution, au cours de la conservation à +8°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 60°C à coeur (traitement 1).

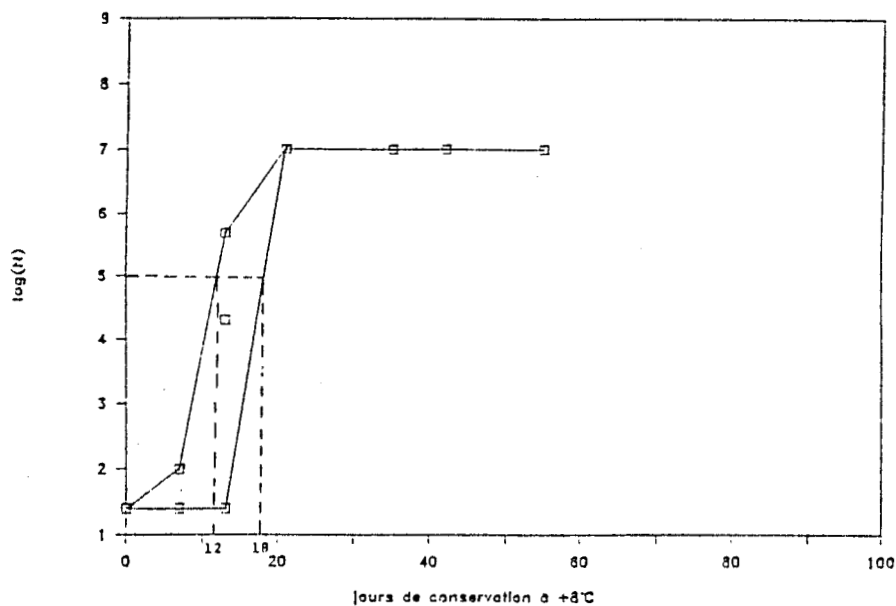


FIGURE 36 : Evolution, au cours de la conservation à +8°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 65°C à coeur (traitement 2).

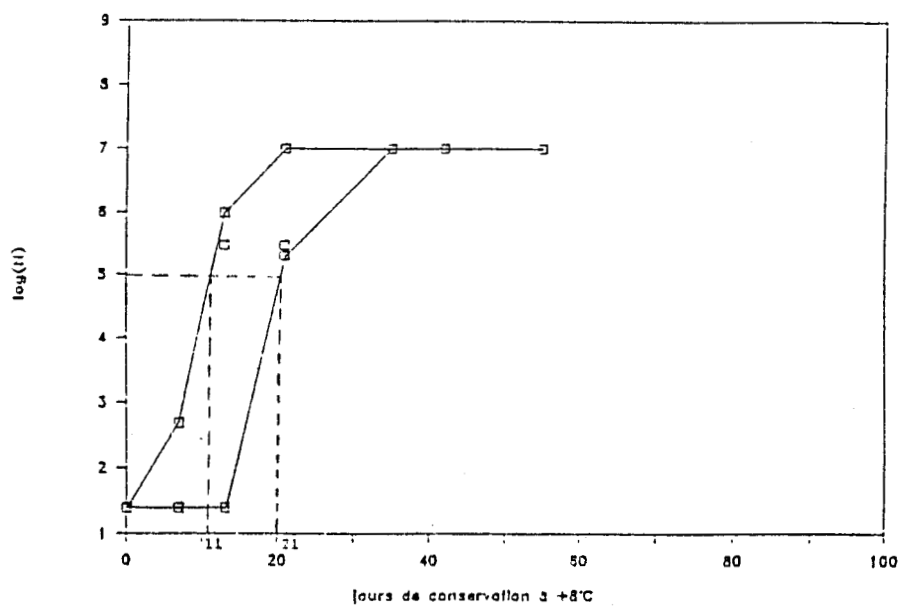


FIGURE 37 : Evolution, au cours de la conservation à +8°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 72°C à coeur (traitement 3).

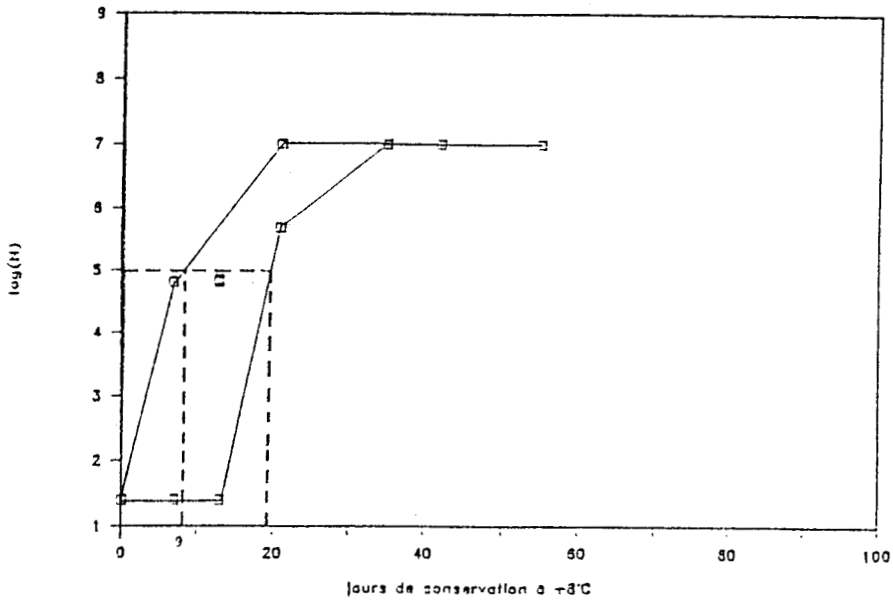


FIGURE 38 : Evolution, au cours de la conservation à +8°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 76°C à coeur (traitement 4).

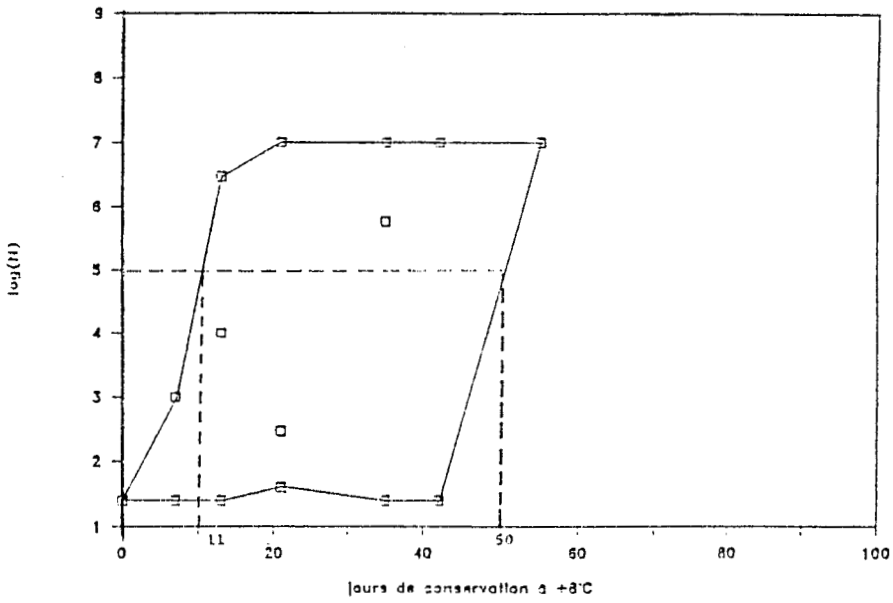


FIGURE 39 : Evolution, au cours de la conservation à +8°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 80°C à coeur (traitement 5).

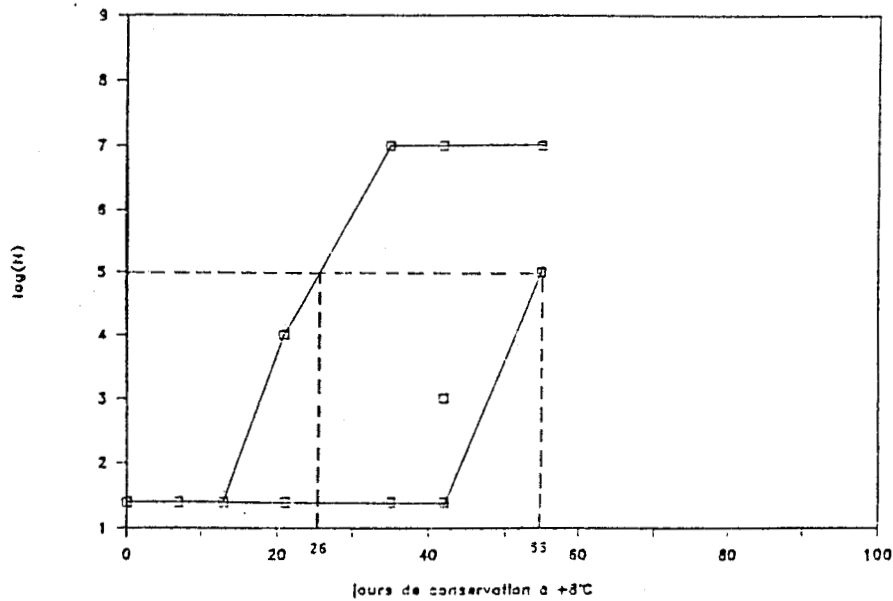


FIGURE 40 : Evolution, au cours de la conservation à +8°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 88°C à coeur (traitement 6).

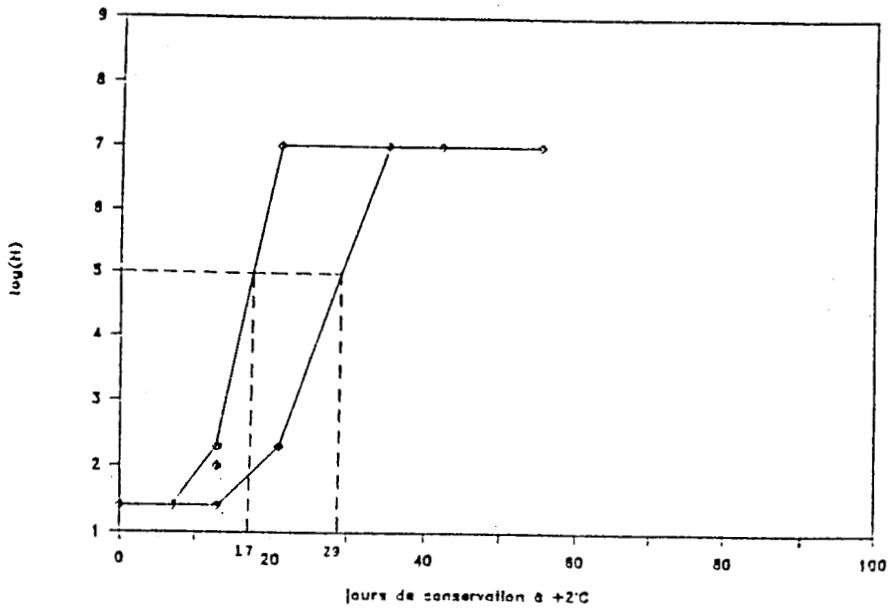


FIGURE 41 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 60°C à coeur (traitement 1).

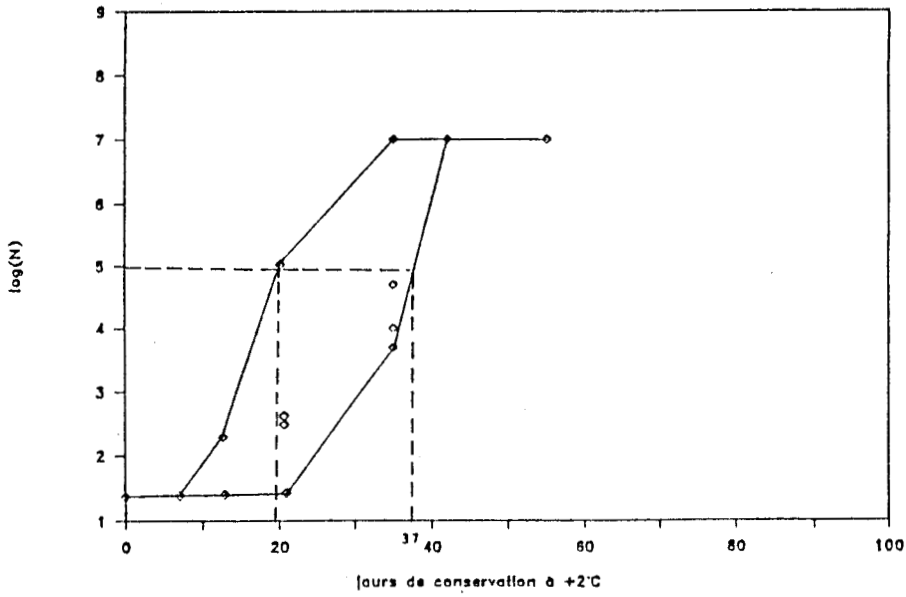


FIGURE 42 : Evolution au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 65°C à coeur (traitement 2).

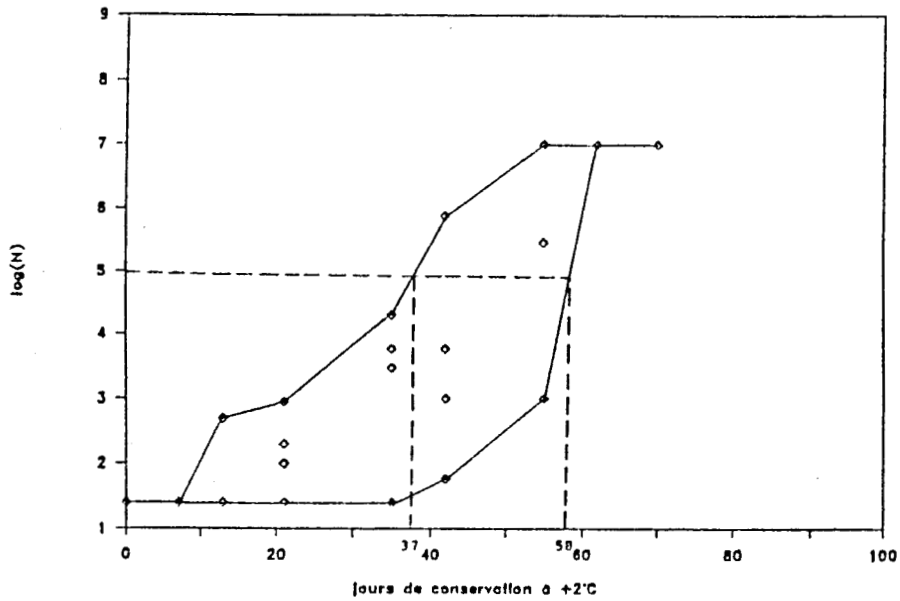


FIGURE 43 : Evolution au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 72°C à coeur (traitement 3).

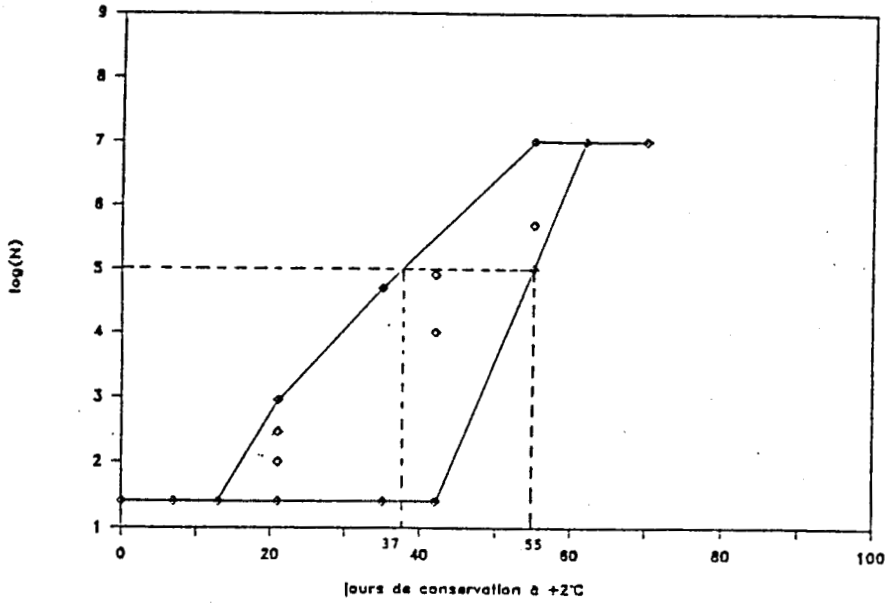


FIGURE 44 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 76°C à coeur (traitement 4).

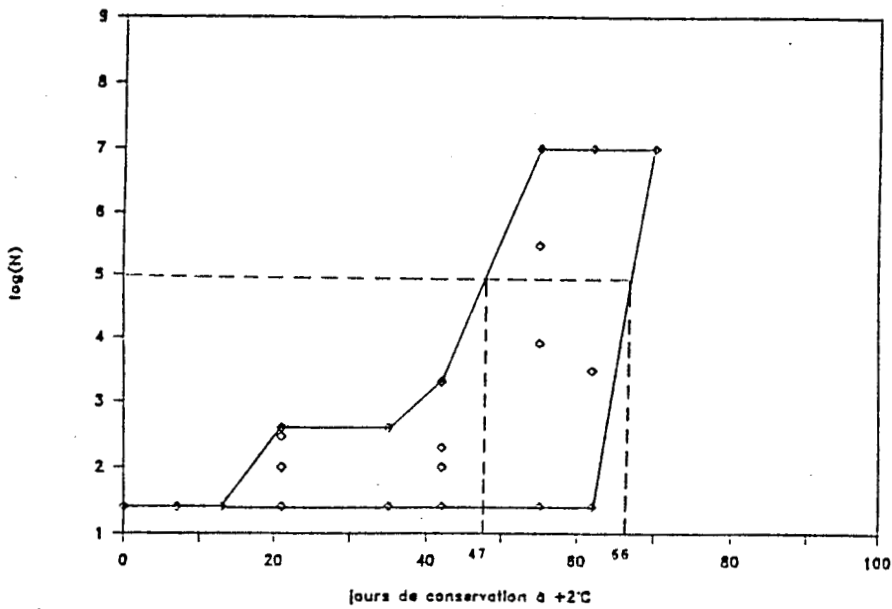


FIGURE 45 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 80°C à coeur (traitement 5).

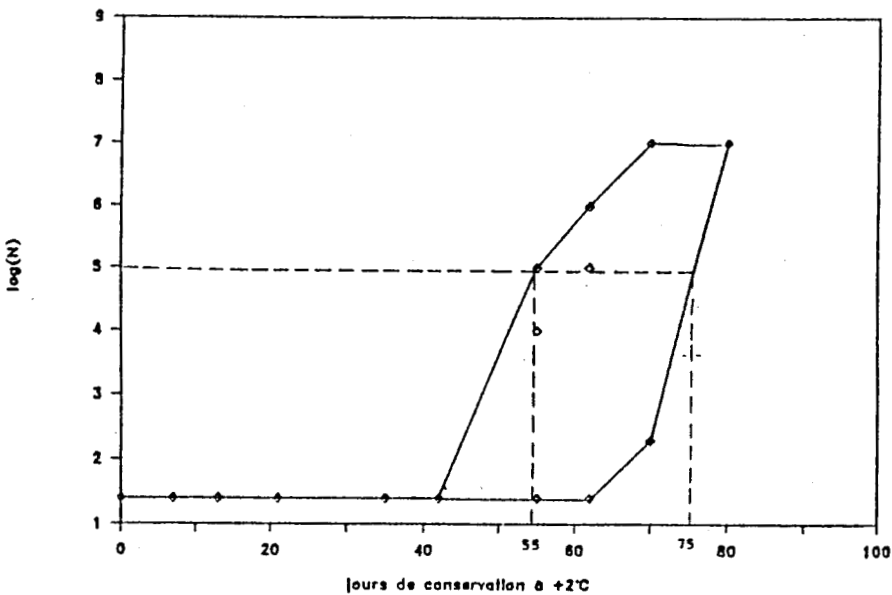


FIGURE 46 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 88°C à coeur (traitement 6).

	TEMPS (EN JOURS) POUR QU'AU MOINS UN ECHANTILLON AIT UNE FLORE TOTALE EGALE A 10^5 GERMES/g		TEMPS (EN JOURS) POUR QUE TOUS LES ECHANTILLONS AIENT UNE FLORE TOTALE AU MOINS EGALE A 10^5 GERMES/g	
	CONSERVATION A +2°C	CONSERVATION A +8°C	CONSERVATION A +2°C	CONSERVATION A +8°C
TRAIITEMENT 1 (60°C à coeur)	17	6	29	13
TRAIITEMENT 2 (65°C à coeur)	20	12	37	18
TRAIITEMENT 3 (72°C à coeur)	37	11	58	21
TRAIITEMENT 4 (76°C à coeur)	37	9	55	20
TRAIITEMENT 5 (80°C à coeur)	47	11	66	50
TRAIITEMENT 6 (88°C à coeur)	55	26	75	55

TABLEAU 43 : Nombre de jours de conservation à +2 et +8°C pour que les échantillons de lieu noir cuits sous vide aient une flore totale au moins égale à 10^5 germes/g.

A +8°C, la multiplication bactérienne est nettement plus rapide qu'à +2°C. Il faut environ deux fois plus de temps à +2°C qu'à +8°C pour que tous les échantillons ayant été soumis aux traitements 1 (60°C à coeur) et 2 (65°C à coeur), aient une flore totale au moins égale à 10^5 germes/g. Pour les échantillons ayant été cuits à coeur à 72°C (traitement 3) et 76°C (traitement 4), il faut environ 2,7 fois plus de temps, enfin pour ceux ayant été cuits à coeur à 80°C (traitement 4) et 88°C (traitement 5), il faut 1,3 fois plus de temps.

Pour les échantillons ayant subi les traitements 1, 2, 3 et 4, on observe un décalage plus important à +2°C qu'à +8°C entre le moment où au moins 1 échantillon atteint une flore totale de 10^5 germes/g et celui où tous atteignent au moins ce taux. Par exemple, si l'on considère les échantillons du traitement 3, à +8°C ce décalage est de 11 jours alors qu'à +2°C, il est de 21 jours.

Pour les échantillons ayant été soumis aux traitements 5 et 6, la tendance est inversée c'est-à-dire que le décalage est plus important à +8°C qu'à +2°C, entre le moment où au moins 1 échantillon atteint une flore totale de 10^5 germes/g et celui où tous les échantillons ont au moins 10^5 germes/g.

Outre la température de conservation, le traitement thermique a également une influence sur le comportement des germes : plus le traitement est important, plus la phase de latence qui précède la phase de multiplication des germes, est longue.

A +8°C, après 13 jours de conservation, tous les échantillons ayant été cuits à coeur à 60°C ont une flore totale au moins égale à 10^5 germes/g. Pour les échantillons ayant été cuits à coeur à 65, 72 et 76°C, il faut 18 à 21 jours. Enfin, pour les échantillons ayant été cuits à coeur à 80 et 88°C, il faut 50 et 55 jours.

A +2°C, l'influence du traitement est tout aussi significative. Tous les échantillons ayant été cuits à coeur à 60°C ont une flore totale au moins égale à 10^5 germes/g après 29 jours de conservation, ceux ayant été cuits à coeur à 65, 72, 76, 80 et 88°C, après respectivement, 37, 55, 58, 66 et 75 jours.

3.1.2.2. Flore mésophile anaérobie stricte

Nous n'avons jamais dénombré d'anaérobies sulfito-réducteurs sur SPS. Sur milieu viande levure, nous avons parfois dénombré des germes mais ceux-ci étaient également capables de se multiplier en aérobiose, il s'agissait donc de germes aéro-anaérobies facultatifs.

3.1.3. Identifications

=====

Nous avons identifié les germes qui se sont multipliés dans les échantillons présentant des flores totales élevées ($> 10^5$ germes/g).

Pour cela, après avoir examiné l'aspect des colonies, celles-ci ont été prélevées et mises en suspension dans du diluant. Nous avons alors examiné au microscope l'aspect des germes ; au total 150 observations microscopiques correspondant à 150 échantillons ont été réalisées. Des repiquages ont ensuite été effectués sur différents milieux (BEA, VRBG, Baird Parker) afin de rechercher si des streptocoques fécaux, entérobactéries, microcoques ou staphylocoques s'étaient développés dans les produits.

Dans le tableau 44, nous avons noté les résultats des identifications en fonction du traitement thermique. Nous n'avons pas différencié la conservation à +2 et +8°C car nous avons identifié les mêmes germes.

	TRAITEMENT 1 (60°C à cœur)	TRAITEMENT 2 (65°C à cœur)	TRAITEMENT 3 (72°C à cœur) TRAITEMENT 4 (76°C à cœur) TRAITEMENT 5 (80°C à cœur) TRAITEMENT 6 (88°C à cœur)
ASPECT DES COLONIES	5 à 6 types de colonies différentes ont été observées : - colonies pigmentées : . beaucoup pigmentées en rose . quelques unes pigmentées en jaune - colonies non pigmentées	3 à 4 types de colonies différentes ont été identifiées : - colonies pigmentées : . beaucoup pigmentées en rose . quelques unes pigmentées en jaune - colonies non pigmentées	2 à 3 types de colonies ont été observées : - colonies pigmentées : . colonies pigmentées en rose - colonies non pigmentées
EXAMENS MICROSCOPICIQUES	- beaucoup de bacilles Gran +, pour toutes les observations microscopiques - quelques bacilles Gran -, pour 25% des observations microscopiques - quelques coques Gran + : pour 10% des observations microscopiques	- beaucoup de bacilles Gran +, pour toutes les observations microscopiques - quelques bacilles Gran -, pour 15% des observations microscopiques	- que des bacilles Gran + pour toutes les observations microscopiques.
IDENTIFICATION DES ESPECES	- bacilles Gran + : La quasi totalité correspondent à l'une des trois espèces suivantes : . <i>Bacillus sphaericus</i> . <i>Bacillus brevis</i> . <i>Bacillus circulans</i> - coques Gran + : <i>Micrococcus varians</i> - bacilles Gran - : . <i>Pseudomonas paucimobilis</i> . <i>Enterobacter</i>		- la quasi totalité des bacilles Gran + correspondent à l'une des espèces suivantes : . <i>Bacillus sphaericus</i> . <i>Bacillus brevis</i> . <i>Bacillus circulans</i> - d'autres espèces se sont multipliées de façon moins importante, elles n'ont pu être identifiées

TABLEAU 44 : Résultats des identifications des germes aéro-anaérobies facultatifs dénombrés dans les filets de lieu noir cuits sous vide, au cours de la conservation à +2 et +8°C.

Dans les échantillons ayant été cuits à coeur à 60 et 65°C, les germes qui se sont développés sont essentiellement des *Bacillus* : *Bacillus sphaericus*, *Bacillus brevis* et *Bacillus circulans*. Des germes non sporulés ont été rencontrés dans certains échantillons ayant été cuits à coeur à 60°C : *Pseudomonas paucimobilis*, *Micrococcus varians* et *Enterobacter* et également dans certains échantillons ayant été cuits à coeur à 65°C : *Pseudomonas paucimobilis*. Enfin, dans les échantillons ayant été cuits à coeur à 72, 76, 80 et 88°C, on n'a identifié que des *Bacillus* (Mulak 1988).

Ces résultats étaient tout à fait prévisibles. En effet, d'après les quantités NQ de germes subsistant théoriquement après traitement thermique, le traitement 1 n'est pas suffisant pour détruire *Pseudomonas paucimobilis*, *Streptococcus faecium*, *Micrococcus varians* et *Staphylococcus aureus*, il n'est donc pas surprenant que nous ayons rencontré certains de ces germes dans plusieurs échantillons.

De même, le traitement 2 ne permet théoriquement pas la destruction en proportion suffisante, de *Pseudomonas paucimobilis* et de *Streptococcus faecium*. Là encore, il n'est pas étonnant que nous ayons identifié dans certains échantillons, *Pseudomonas paucimobilis*.

Enfin, les valeurs pasteurisatrices des autres traitements ne doivent théoriquement laisser subsister que des germes sporulés. Cette fois encore, les résultats confirment nos prévisions.

Dans tous les échantillons, même dans ceux ayant été cuits à coeur à 60 et 65°C, les germes qui se sont abondamment développés sont des *Bacillus*. On remarque qu'ils se sont multipliés à +8°C, et également à +2°C, ce sont donc des germes psychrotrophes si l'on se réfère à la définition donnée de ce terme, par Ingraham et Stockes (1959).

Les 3 principales espèces qui se sont multipliées sont *Bacillus brevis*, *Bacillus circulans* et *Bacillus sphaericus*.

Bacillus brevis a été trouvé dans les produits de la mer (Shewan 1971), *Bacillus sphaericus* contamine les eaux marines (Bergey's manual), et par conséquent les produits de la mer. Quand à *Bacillus circulans*, il a été isolé principalement du sol (Bergey's manual).

Shehata et Collins (1971 et 1972) ont montré que *Bacillus brevis* et *Bacillus circulans*, isolés du lait, étaient capables de se multiplier à des températures voisines de 0°C. De même Larkin et Stokes (1966) ont montré que certaines souches de *Bacillus sphaericus* pouvaient également se multiplier à des températures de l'ordre de 0°C. Ces résultats confirment ceux que nous avons obtenus.

Bien que les spores psychrotrophes soient initialement présentes dans les filets à des taux très faibles, elles finissent toutes par germer après un temps plus ou moins long, selon la température de conservation et le traitement thermique appliqué.

3.2. TERRINES

Trois traitements thermiques ont été effectués. Les caractéristiques des traitements sont notés tableau 45.

Les valeurs pasteurisatrices ont été calculées avec les paramètres de référence suivants :

- la température de référence a été la même que pour le lieu noir, c'est-à-dire 70°C.
- $z = 9^{\circ}\text{C}$, il s'agit de la valeur de *Pseudomonas paucimobilis* dans la terrine.
- $z = 5^{\circ}\text{C}$, cette valeur correspond au z moyen dans la terrine, des autres germes sur lesquels nous avons travaillé.
- $z = 10^{\circ}\text{C}$, ceci est la valeur de référence officielle.

Les quantités NQ (Q = 200 g) de germes subsistant après traitement thermique ont été calculées ainsi que les nombres NQ de *Streptococcus faecium* et *Pseudomonas paucimobilis* qu'il serait souhaitable d'avoir. Ces valeurs sont reprises dans le tableau 45. (Les valeurs de N_0 prises en considération ont été celles définies paragraphe 2.4. tableau 40).

		TRAITEMENT 1	TRAITEMENT 2	TRAITEMENT 3
TEMPERATURE DE CUISSON CUISSON (°C)		85	85	85
TEMPS DE CUISSON (minutes)		30	43	100
TEMPERATURE A COEUR EN FIN DE CUISSON (°C)		73	78	84
VALEUR PASTEURISATRICE (PASTEURISATRICE TOTALE A COEUR (minutes))	P_{70}^5	34,82	360	16 885
	P_{70}^9	24	112	1 427
	P_{70}^{10}	20,76	90	1 058
NOMBRES NQ de germes subsistant (après trai- tement thermique par échan- tillon)	<i>Pseudomonas putida</i>	négligeable ($< 10^{-10}$);	négligeable	négligeable
	<i>Staphylococcus aureus</i>	négligeable	négligeable	négligeable
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	négligeable	négligeable	négligeable
	<i>Micrococcus varians</i>	négligeable	négligeable	négligeable
	<i>Streptococcus faecium</i>	négligeable	négligeable	négligeable
	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	1	négligeable	négligeable
VALEUR PASTEURISATRICE à appli- quer pour détruire <i>Streptococcus</i> <i>faecium</i> ($\log(N_0/N) = 9$)		$P_{70}^5 = 4$ minutes		
NOMBRE NQ de <i>Streptococcus</i> <i>faecium</i> que l'on souhaite avoir par échantillon après traite- ment thermique		NQ = $2 \cdot 10^{-3}$ germes/g		
VALEUR PASTEURISATRICE à appli- quer pour détruire <i>Pseudomonas</i> <i>paucimobilis</i> ($\log(N_0/N) = 9$)		$P_{70}^9 = 30$ minutes		
NOMBRE NQ de <i>Pseudomonas</i> <i>paucimobilis</i> que l'on souhaite avoir par échantillon après traitement thermique		NQ = $2 \cdot 10^{-3}$ germes/g		

TABLEAU 45 : Valeurs pasteurisatrices des cuissons sous vide des terrines et nombres NQ de germes après traitement thermique. Comparaison avec les valeurs à atteindre, pour les germes les plus thermorésistants.

Le traitement 1 devrait permettre de détruire en proportion suffisante la plupart des formes végétatives des bactéries, excepté cependant *Pseudomonas paucimobilis*. Les traitements 2 et 3 ne devraient laisser subsister que des germes sporulés.

3.2.1. Qualité initiale des terrines avant traitement thermique

Les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les terrines avant traitement thermique sont notés dans le tableau 46.

ANALYSES	1	2
FLORE AEROBIE MESOPHILE TOTALE (/g)	500 000	700 000
STREPTOCOQUES FECALIS (/g)	8 500	9 800
ENTEROBACTERIES (/g)	100	200
STAPHYLOCOQUES PATHOGENES (/g)	< 50	< 50
STAPHYLOCOQUES MICROCOQUES (/g)	10 000	17 000
GERMES SPOULES AEROBIES (/g)	200	150
ANAEROBIES SULFITE REDUCTEURS (/g)	3	4

TABLEAU 46 : Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur la terrine Saint-Jacques avant traitement thermique.

3.2.2. Evolution quantitative

=====

3.2.2.1. Flore mésophile aéro-anaérobie facultative

Les analyses ont été effectuées tous les 7 jours environ et elles ont été réalisées sur 2 échantillons.

Sur les figures 47 à 52, nous avons représenté l'évolution de la flore totale au cours du temps, en fonction de la température de conservation et du traitement thermique. La germination des spores et la multiplication des germes ont débuté pratiquement au même moment dans les différents échantillons, c'est pourquoi sur les figures nous avons tracé une courbe qui représente l'évolution moyenne du nombre de germes totaux.

Sur ces courbes, nous avons noté le temps qu'il fallait pour avoir 10^5 germes/g. Les résultats sont repris dans le tableau 47.

A $+8^{\circ}\text{C}$, la multiplication bactérienne est beaucoup plus rapide qu'à $+2^{\circ}\text{C}$. De même, plus le traitement thermique est faible, plus la multiplication des germes est rapide.

Par rapport aux filets de lieu noir, la flore évolue beaucoup plus lentement, puisqu'après 75 jours de conservation à $+2^{\circ}\text{C}$ tous les filets de lieu noir ayant été cuits sous vide à une valeur pasteurisatrice $P_{70} = 1058$ minutes ont une flore totale au moins égale à 10^5 germes/g alors que pour les terrines ayant subi pratiquement le même traitement : $P_{70} = 1321$ minutes, ce n'est qu'au bout de 121 jours que l'on atteint 10^5 germes/g.

De même, il faut 55 jours à $+2^{\circ}\text{C}$ pour que les filets ayant été cuits à une valeur pasteurisatrice $P_{70} = 71$ minutes aient tous une flore totale au moins égale à 10^5 germes/g alors qu'il faut 116 jours pour les terrines ayant été cuites à une valeur pasteurisatrice $P_{70} = 90$ minutes.

3.2.2.2. Flore mésophile anaérobie stricte

Nous avons souvent dénombré des anaérobies sulfite-réducteurs, mais jamais plus de 10 par gramme. De même, nous avons parfois dénombré des germes anaérobies sur milieu viande levure mais ceux-ci étaient également capables de se multiplier en aérobiose, il ne s'agissait donc pas de germes anaérobies stricts.

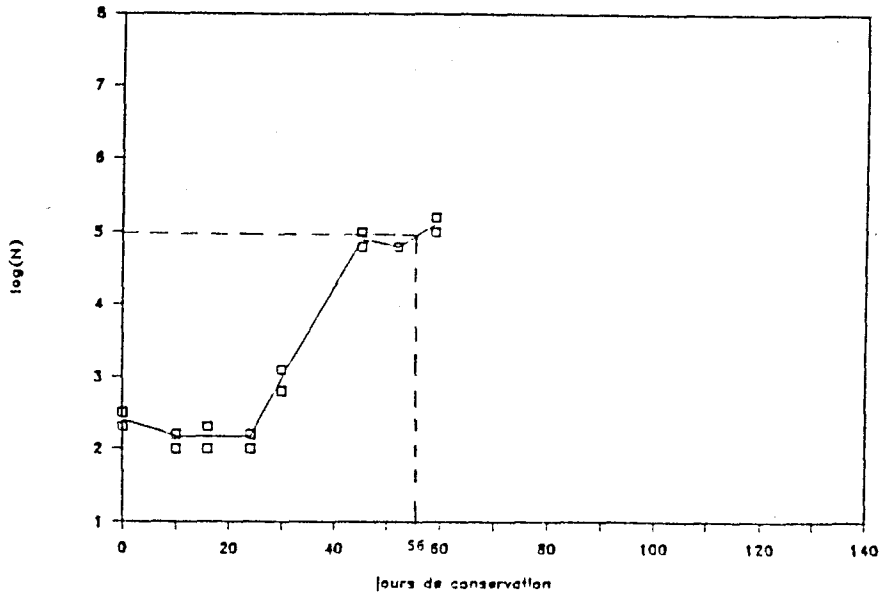


FIGURE 47 : Evolution, au cours de la conservation à +8°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de terrine cuits sous vide à 73°C à coeur (traitement 1).

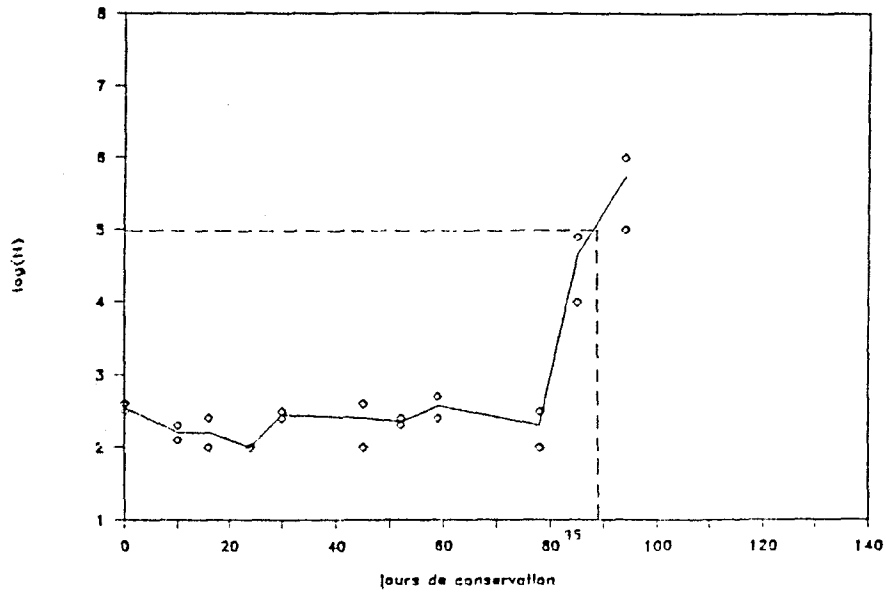


FIGURE 48 : Evolution, au cours de la conservation à +8°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de terrine cuits à coeur à 78°C (traitement 2).

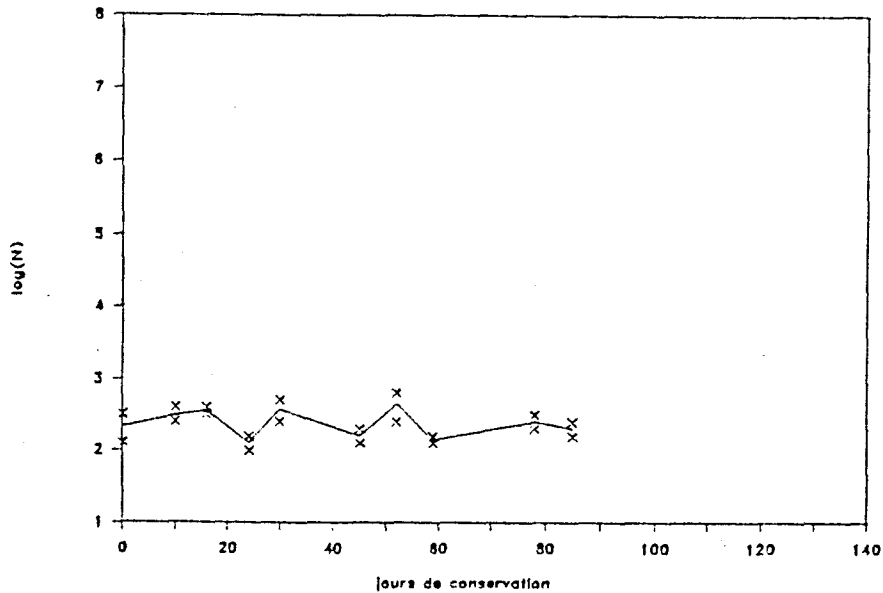


FIGURE 49 : Evolution, au cours de la conservation à +8°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de terrine cuits sous vide à 84°C à coeur (traitement 3).

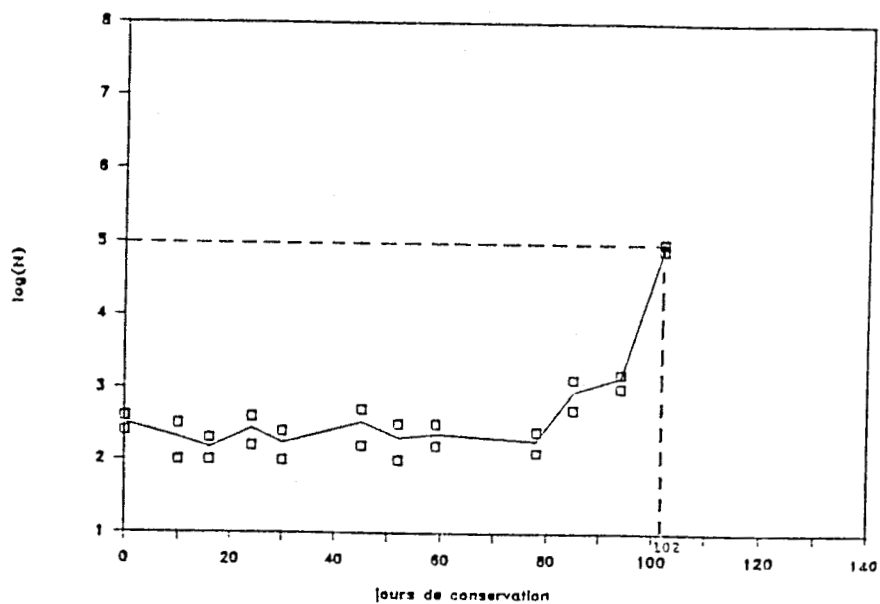


FIGURE 50 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de terrine cuits sous vide à 73°C à coeur (traitement 1).

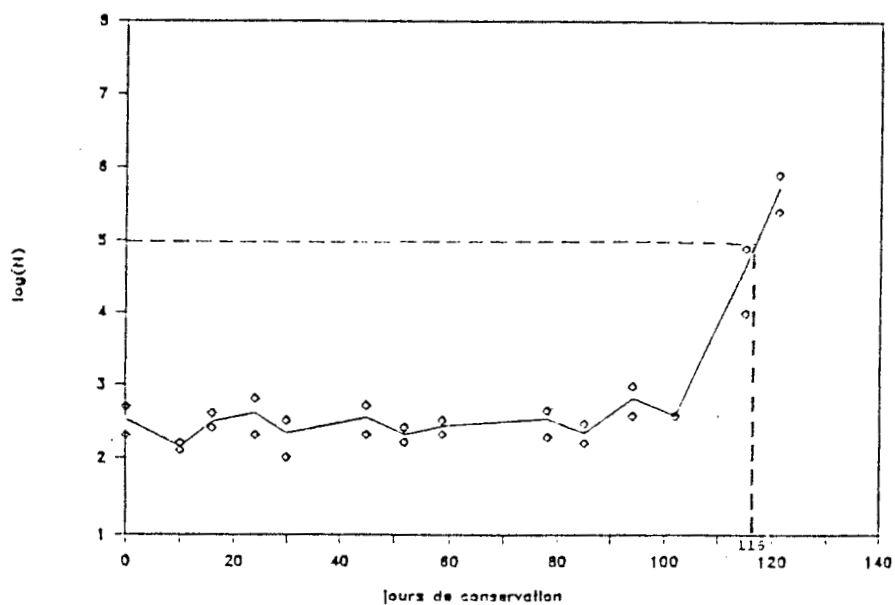


FIGURE 51 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de terrine cuits sous vide à 78°C à coeur (traitement 2).

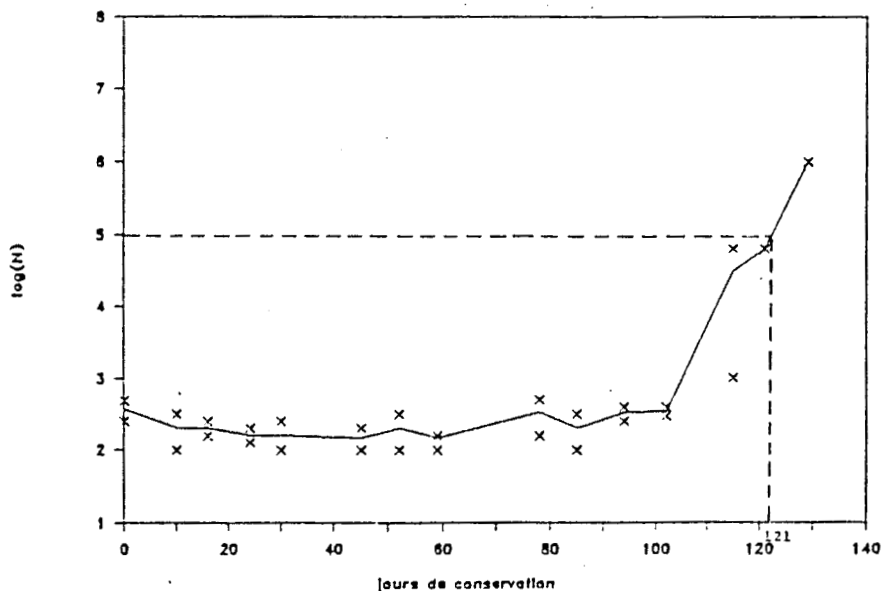


FIGURE 52 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de terrine cuits sous vide à 84°C à coeur (traitement 3).

	TEMPS (EN JOURS) POUR AVOIR EN MOYENNE 10 ⁵ GERMES/g	
	CONSERVATION A +2°C	CONSERVATION A +8°C
TRAITEMENT 1 (73°C à coeur)	102	56
TRAITEMENT 2 (78°C à coeur)	116	85
TRAITEMENT 3 (84°C à coeur)	121	> 85

TABLEAU 47 : Nombre de jours de conservation à +2°C et +8°C pour avoir en moyenne 10⁵ germes/g dans les terrines.

3.2.3. Identifications =====

Pour identifier les germes qui se sont développés dans les terrines, nous avons procédé de la même façon que dans le lieu noir (cf. para. 3.1.3.).

Nous n'avons observé au microscope que des bacilles Gram + parfois sporulés. Les germes qui se sont développés sont uniquement des *Bacillus*. Les mêmes *Bacillus* que dans les filets de lieu noir ont été identifiés : *Bacillus brevis* et *Bacillus circulans*. D'autres *Bacillus* se sont développés, mais ils n'ont pu être identifiés.

Ces résultats ne sont pas surprenants car les valeurs pasteurisatrices des traitements 2 et 3 étaient bien supérieures à la valeur minimale à appliquer ($P_{70}^9 = 30$ minutes) pour détruire les germes non sporulés en proportion satisfaisante. La valeur pasteurisatrice du traitement 1 était légèrement inférieure à 30 minutes, ce qui est théoriquement insuffisant pour détruire de façon significative *Pseudomonas paucimobilis*. Nous n'en avons cependant pas dénombrés, probablement parcequ'ils étaient initialement présents en faible quantité.

*
- 4 - * DETERMINATION DE LA DATE LIMITE DE CONSOMMATION *
* DE FILETS DE POISSONS CUIITS SOUS VIDE. *
*

L'étude a été réalisée sur 3 espèces : lieu noir, julienne, cabillaud.

5 essais ont été effectués. Les caractéristiques des traitements thermiques sont notés tableau 48. Les barèmes ont été choisis pour comparer entre eux :

- . Des traitements basse température (traitements 1 et 2).
- . Des traitements moyenne température (traitements 3 et 4).
- . Des traitements haute température (traitement 5).

Sur le plan réglementaire, les produits doivent rester conformes aux critères microbiologiques définis par l'arrêté du 21 décembre 1979 pour les plats cuisinés à l'avance, jusqu'à 48 heures après la date limite de consommation (DLC), lors d'une conservation permanente à 0/+3°C. De plus, pour tenir compte d'éventuelles ruptures de la chaîne du froid, ils doivent également être conformes à la DLC, lors d'une conservation à +4°C pendant les deux tiers de la durée de conservation et à +8°C pendant le dernier tiers.

En conséquence pour les essais, les suivis ont été réalisés à +2°C et également à +4 et +8°C. Les analyses ont été effectuées à J₁₁, J₁₄, J₁₇, J₂₀ et J₂₃ pour les échantillons conservés +2°C, et à J₉, J₁₂, J₁₅, J₁₈ et J₂₁ pour les échantillons conservés à +4°C pendant les deux tiers de la durée de conservation et à +8°C pendant le dernier tiers.

Nous ne sommes pas allés au-delà de 21 et 23 jours car dans la majorité des cas les fabricants ne souhaitent pas avoir une durée de conservation plus longue.

Les analyses ont porté sur 3 à 5 échantillons pour chaque durée de conservation. Nous avons dénombré la flore mésophile aéro-anaérobie facultative et nous avons dégusté les produits.

		TRAITEMENT 1	TRAITEMENT 2	TRAITEMENT 3	TRAITEMENT 4	TRAITEMENT 5
TEMPERATURE DE CUISSON (°C)		65	75	80	85	90
TEMPS DE CUISSON (minutes)		94	44	59	43	53
TEMPERATURE A COEUR EN FIN DE CUISSON (°C)		65	70	80	82	87
VALEUR RISATRICE TOTALE A COEUR (minutes)	P_{70}^6	6,4	11,6	418	579	5 819
	P_{70}^{10}	14,36	14,17	137	144	646

TABLEAU 48 : Valeurs pasteurisatrices des cuissons sous vide des filets de lieu noir, de cabillaud et de julienne.

4.1. QUALITE INITIALE DES FILETS AVANT TRAITEMENT THERMIQUE

Les résultats sont notés tableau 49. D'une manière générale, les poissons utilisés pour les essais avaient tous une flore totale comprise entre 2.10^5 et 9.10^5 germes/g. Les filets de lieu noir utilisés pour les traitements 3 et 5 présentaient un taux d'ABVT important, traduisant un état de fraîcheur non satisfaisant.

		LIEU NOIR		CARILLAUD		JULIENNE	
		ABVT (mg d'azote/ 100g de chair)	FLORE MESO- PHILE TOTALE /g	ABVT (mg d'azote/ 100g de chair)	FLORE MESO- PHILE TOTALE /g	ABVT (mg d'azote/ 100g de chair)	FLORE MESO- PHILE TOTALE /g
TRAITE- MENT 1	ECH/WNTIL- LON 1	20,5	700 000	14	600 000	11,3	320 000
	ECH/WNTIL- LON 2	22	720 000	16	550 000	14	660 000
	ECH/WNTIL- LON 3	17	850 000	12,4	820 000	13,2	200 000
TRAITE- MENT 2	ECH/WNTIL- LON 1	21	100 000	12	150 000	14,8	200 000
	ECH/WNTIL- LON 2	18,5	550 000	10,4	120 000	11,2	115 000
	ECH/WNTIL- LON 3	22,4	800 000	11,3	99 000	12,5	100 000
TRAITE- MENT 3	ECH/WNTIL- LON 1	36	900 000	14	400 000	14	900 000
	ECH/WNTIL- LON 2	25	850 000	16,2	500 000	13,4	650 000
	ECH/WNTIL- LON 3	28	950 000	15,4	320 000	15,3	800 000
TRAITE- MENT 4	ECH/WNTIL- LON 1	19,4	100 000	13,3	90 000	22	100 000
	ECH/WNTIL- LON 2	12,5	200 000	10,8	300 000	14	200 000
	ECH/WNTIL- LON 3	16,4	350 000	12,5	450 000	18,4	350 000
TRAITE- MENT 5	ECH/WNTIL- LON 1	23	200 000	25	200 000	17	300 000
	ECH/WNTIL- LON 2	28	300 000	18	400 000	18	500 000
	ECH/WNTIL- LON 3	25	600 000	18	500 000	15,5	400 000

TABLEAU 49 : Résultats des analyses microbiologiques et des dosages d'ABVT effectués sur les filets de poisson frais.

4.2. EVOLUTION DE LA FLORE MESOPHILE AERO-ANAEROBIE FACULTATIVE

=====

Sur les figures 53 à 82, nous avons représenté l'évolution de la flore totale pour chaque espèce, en fonction de la température de conservation et du traitement thermique.

Sur chaque figure, 2 traits délimitent 3 zones :

- les points situés dans la zone inférieure correspondent à des échantillons ayant une flore totale inférieure à la norme de l'arrêté du 21 décembre 1979, soit : $< 3.10^5$ germes/g.
- ceux dans la zone intermédiaire correspondent à des échantillons ayant une flore totale comprise entre 3.10^5 et 3.10^6 germes/g qui est le seuil limite d'acceptabilité sur le plan réglementaire.
- ceux dans la zone supérieure, correspondent à des échantillons ayant plus de 3.10^6 germes/g.

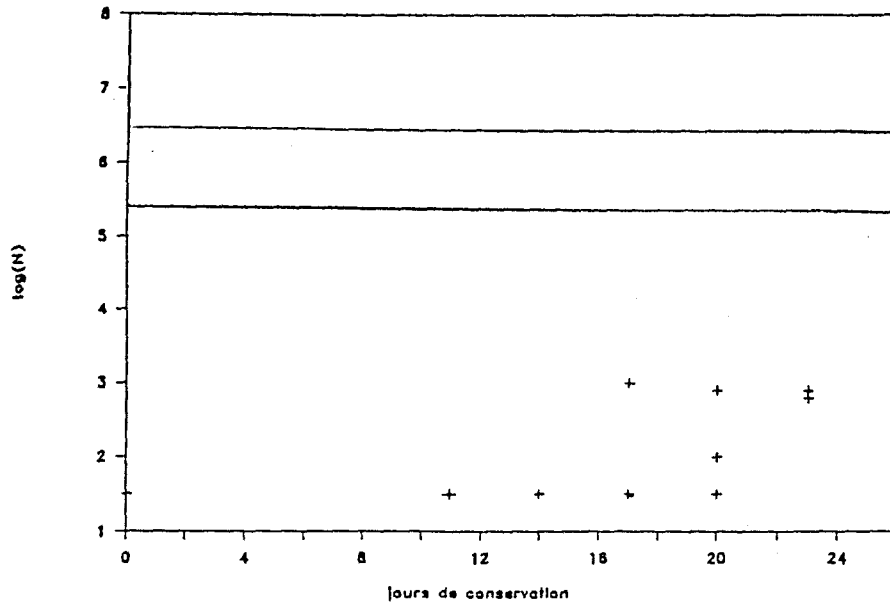


FIGURE 56 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C de la flore totale aéro-anaérobie facultative, des échantillons de cabillaud cuits sous vide à 65°C à coeur (traitement 1).

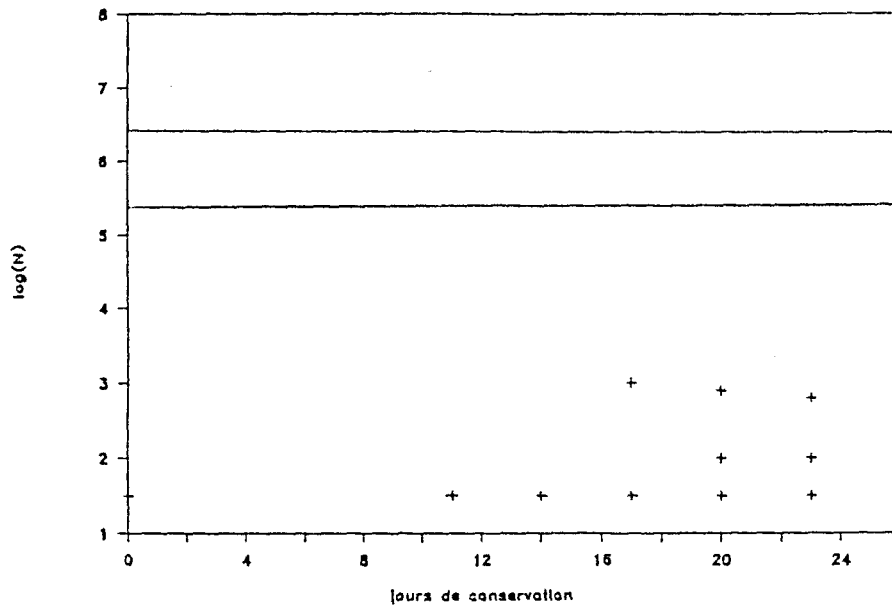


FIGURE 57 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 65°C à coeur (traitement 1).

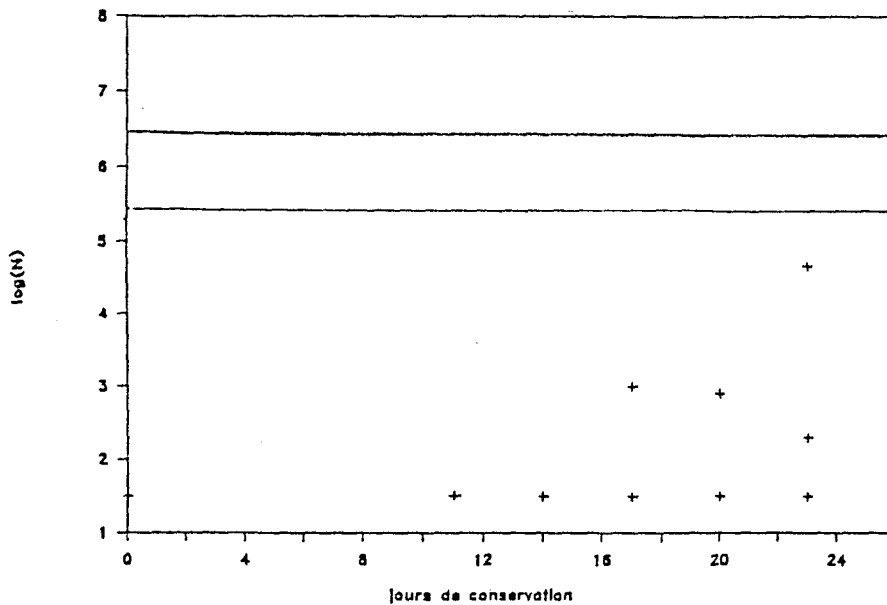


FIGURE 58 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 65°C à coeur (traitement 1).

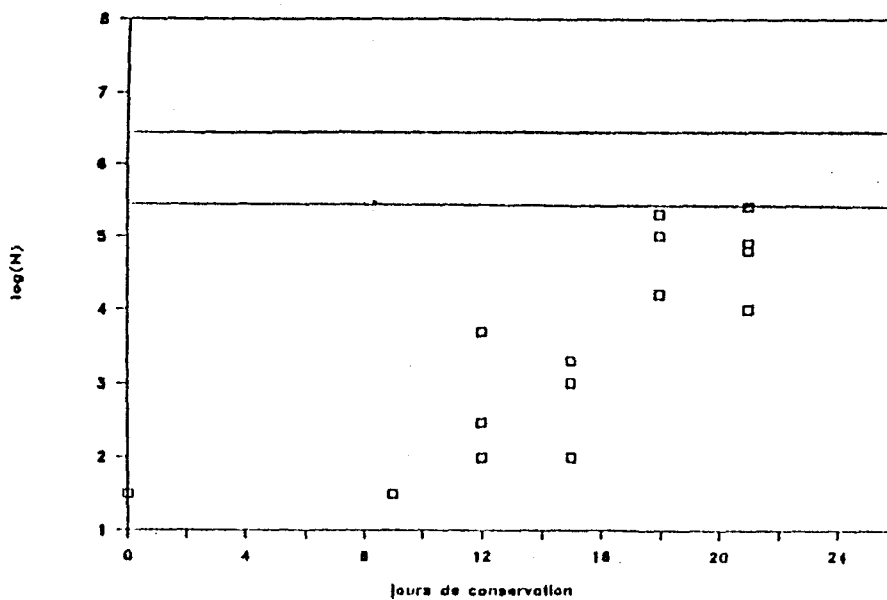


FIGURE 59 : Evolution, au cours de la conservation à +4°C (pendant les 2/3 du temps) et +8°C (pendant le dernier 1/3), de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de cabillaud cuits sous vide à 70°C à coeur (traitement 2).

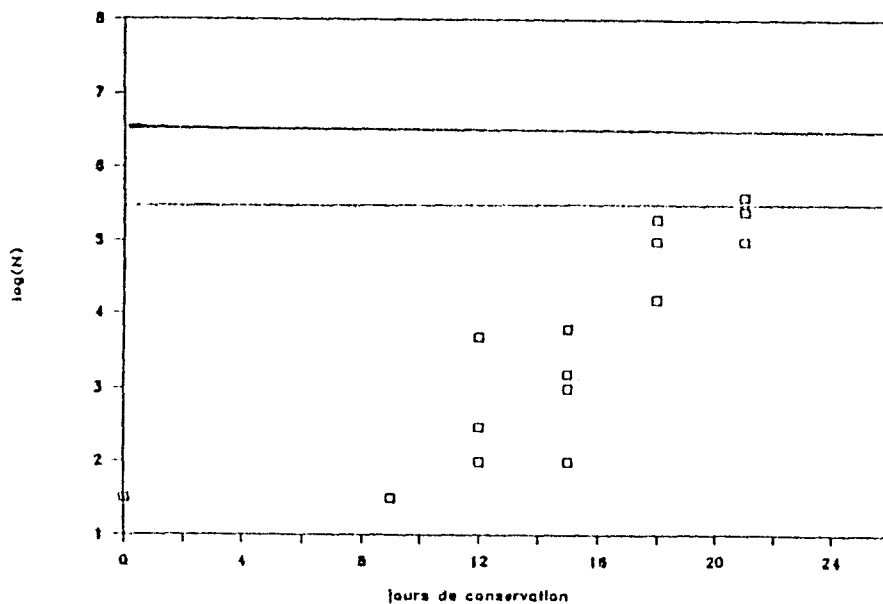


FIGURE 60 : Evolution, au cours de la conservation à +4°C (pendant les 2/3 du temps) et +8°C (pendant le dernier 1/3) de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de julienne cuits sous vide à 70°C à coeur (traitement 2).

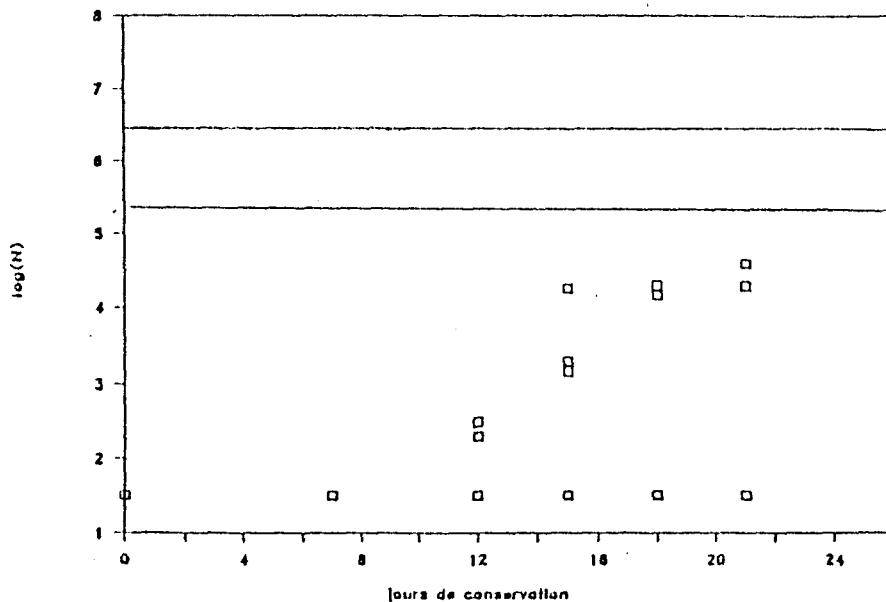


FIGURE 61 : Evolution, au cours de la conservation à +4°C (pendant les 2/3 du temps) et +8°C (pendant le dernier 1/3) de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 70°C à coeur (traitement 2).

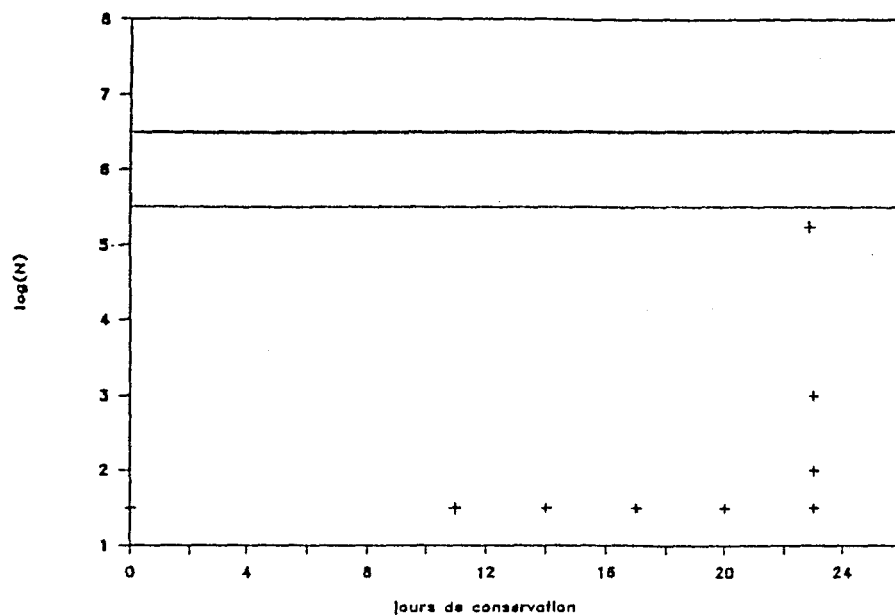


FIGURE 62 : Evolution au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de cabillaud cuits sous vide à 70°C à coeur (traitement 2).

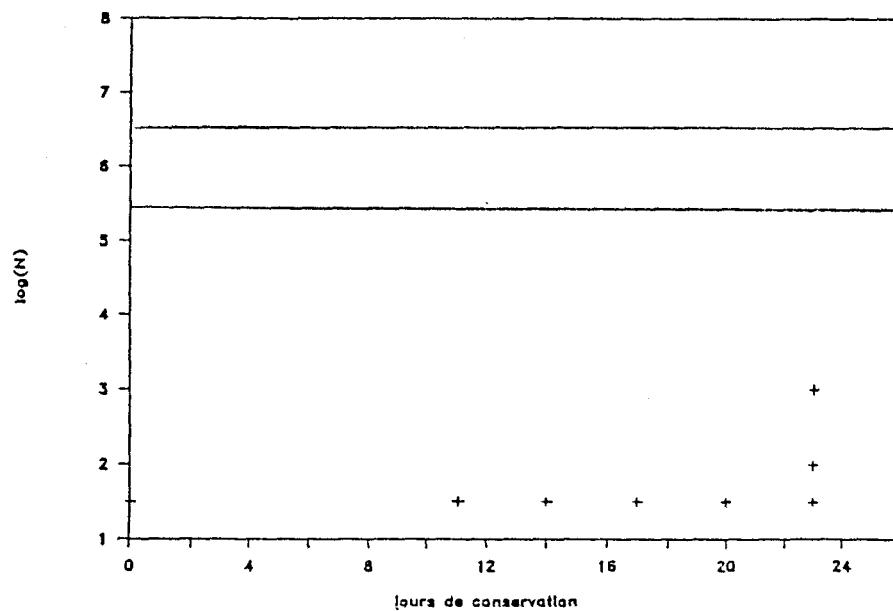


FIGURE 63 : Evolution au cours de la conservation +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de julienne cuits sous vide à 70°C à coeur (traitement 2).

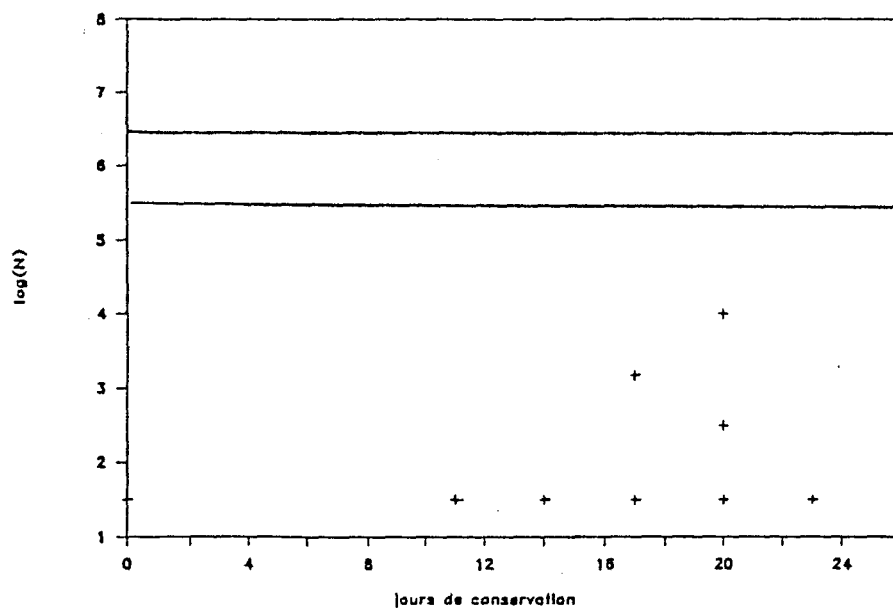


FIGURE 64 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 70°C à coeur (traitement 2).

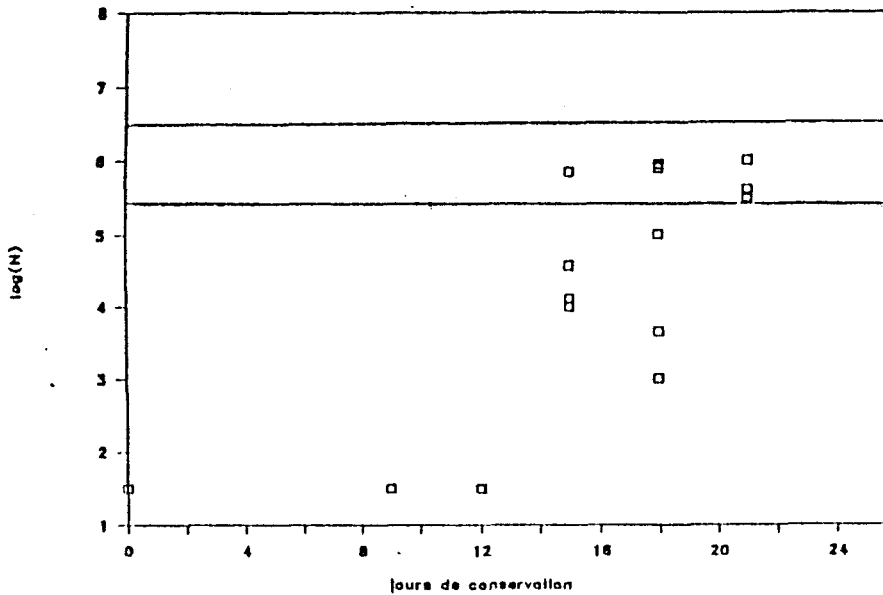


FIGURE 65 : Evolution, au cours de la conservation à +4 °C (pendant les 2/3 du temps) et +8 °C (pendant le dernier 1/3), de la flore totale aéro-aérobie facultative des échantillons de cabillaud cuits sous vide à 80 °C à coeur (traitement 3).

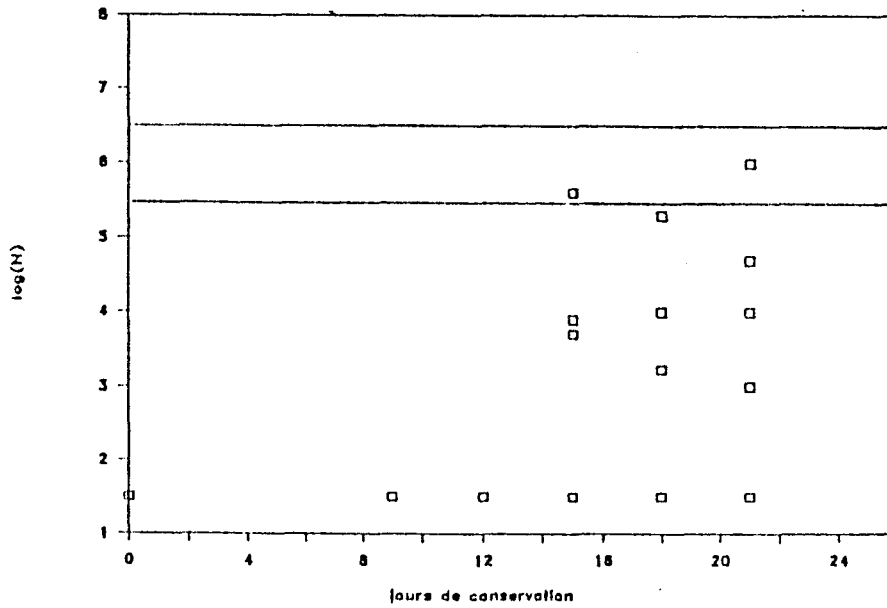


FIGURE 66 : Evolution, au cours de la conservation à +4 °C (pendant les 2/3 du temps) et +8 °C (pendant le dernier 1/3), de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de julienne cuits sous vide à 80 °C à coeur (traitement 3).

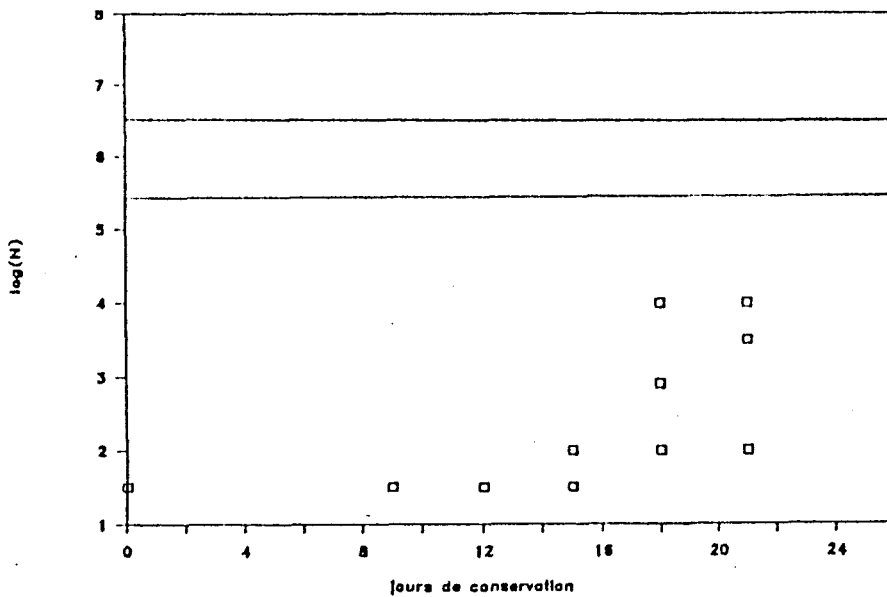


FIGURE 67 : Evolution, au cours de la conservation à +4 °C (pendant les 2/3 du temps) et +8 °C (pendant le dernier 1/3), de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 80 °C à coeur (traitement 3).

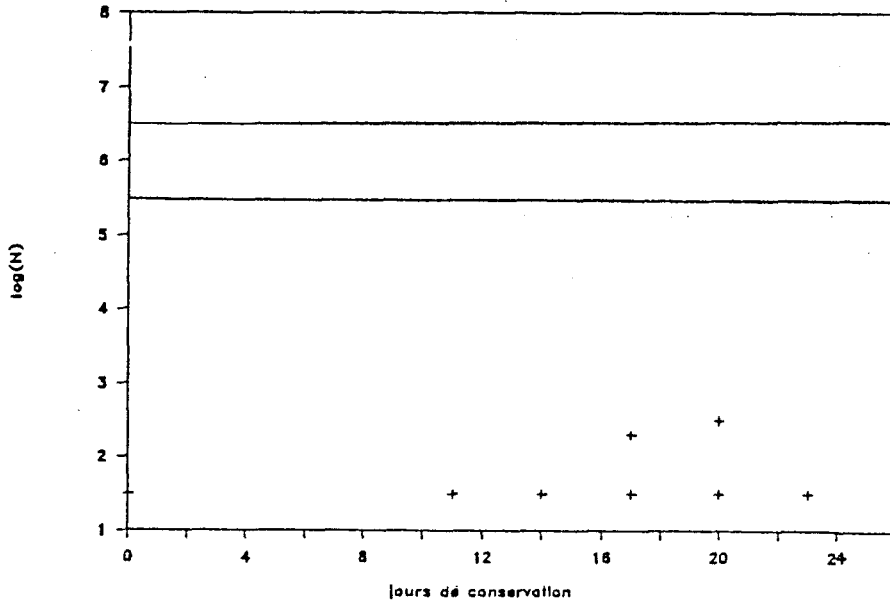


FIGURE 68 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de cabillaud cuits sous vide à 80°C à coeur (traitement 3).

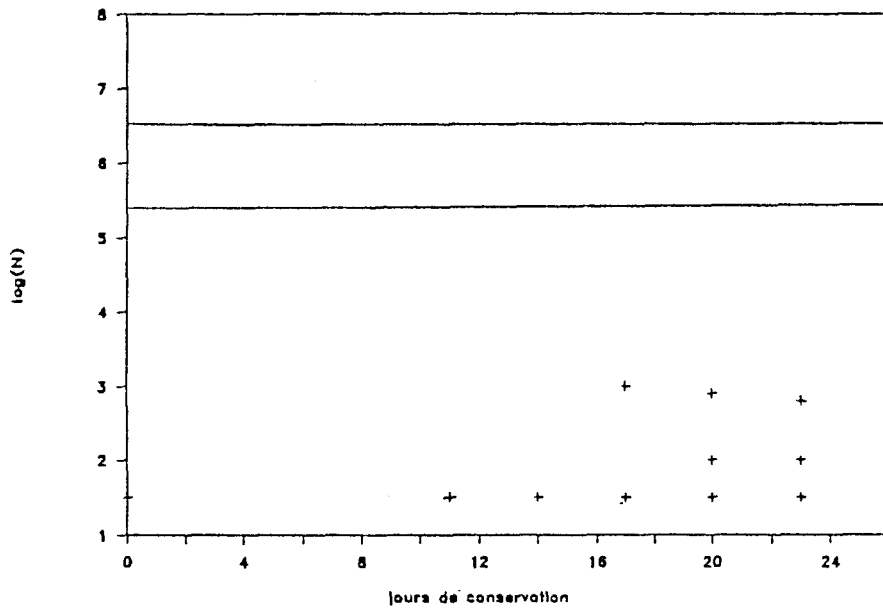


FIGURE 69 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de julienne cuits sous vide à 80°C à coeur (traitement 3).

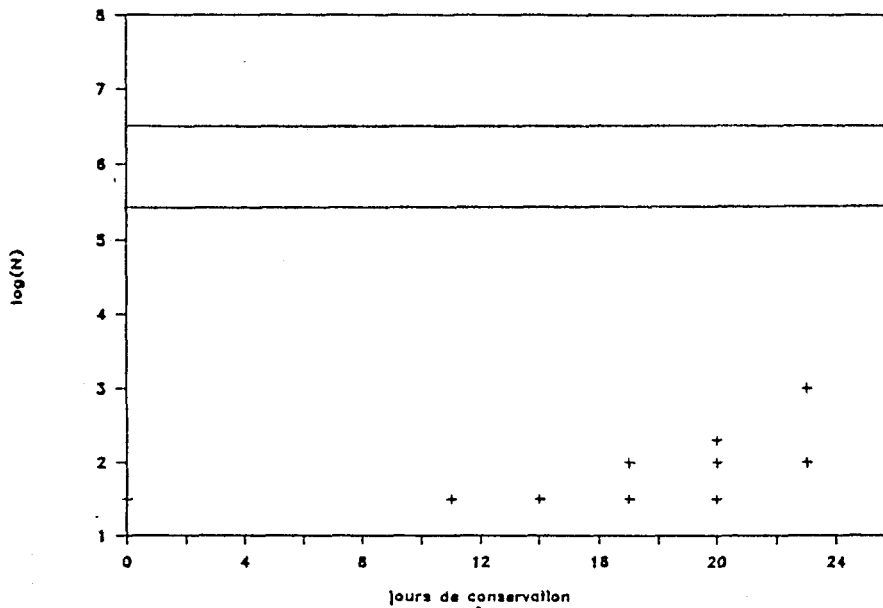


FIGURE 70 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 80°C à coeur (traitement 3).

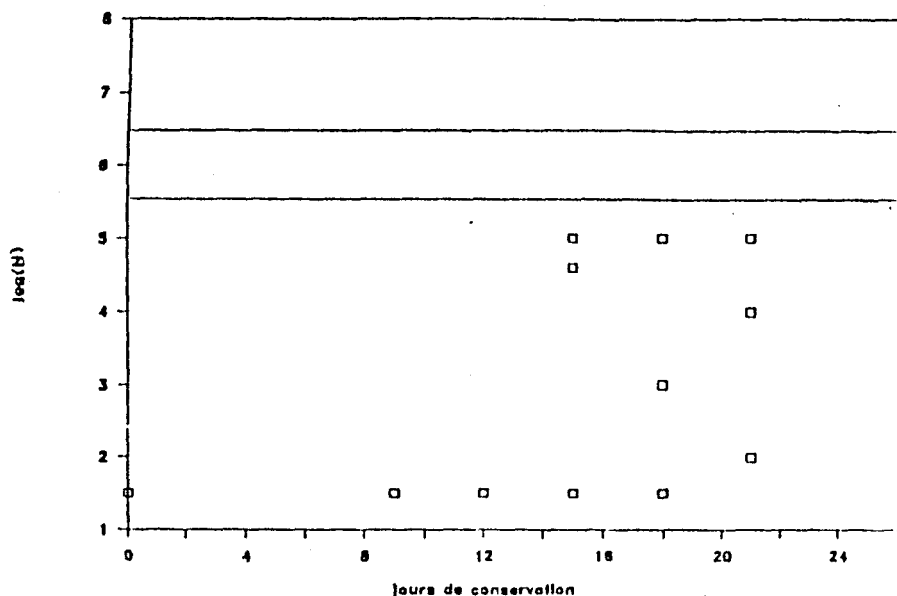


FIGURE 71 : Evolution, au cours de la conservation à +4 °C (pendant les 2/3 du temps) et +8 °C (pendant le dernier 1/3), de la flore aéro-anaérobie facultative des échantillons de cabillaud cuits sous vide à 85 °C à coeur (traitement 4).

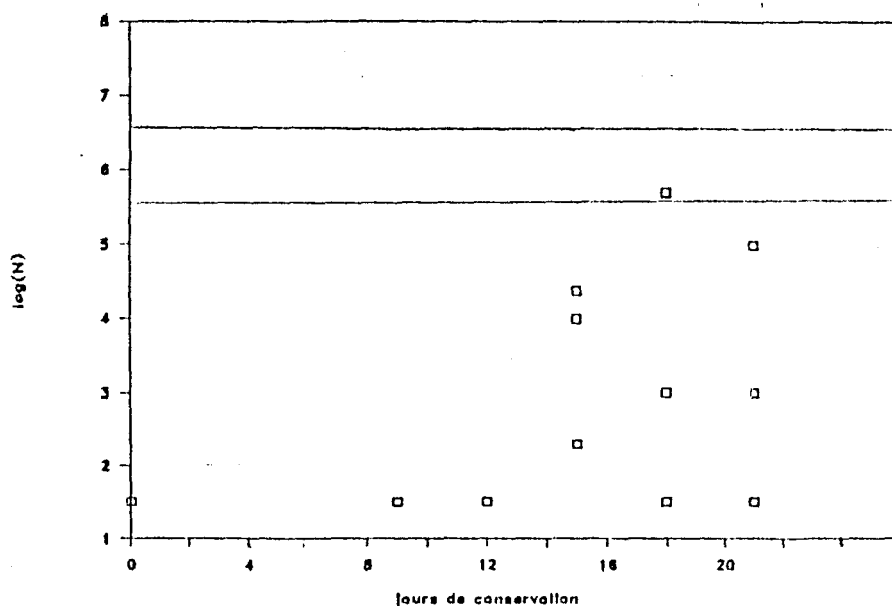


FIGURE 72 : Evolution, au cours de la conservation à +4 °C (pendant les 2/3 du temps) et +8 °C (pendant le dernier 1/3), de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de julienne cuits sous vide à 85 °C à coeur (traitement 4).

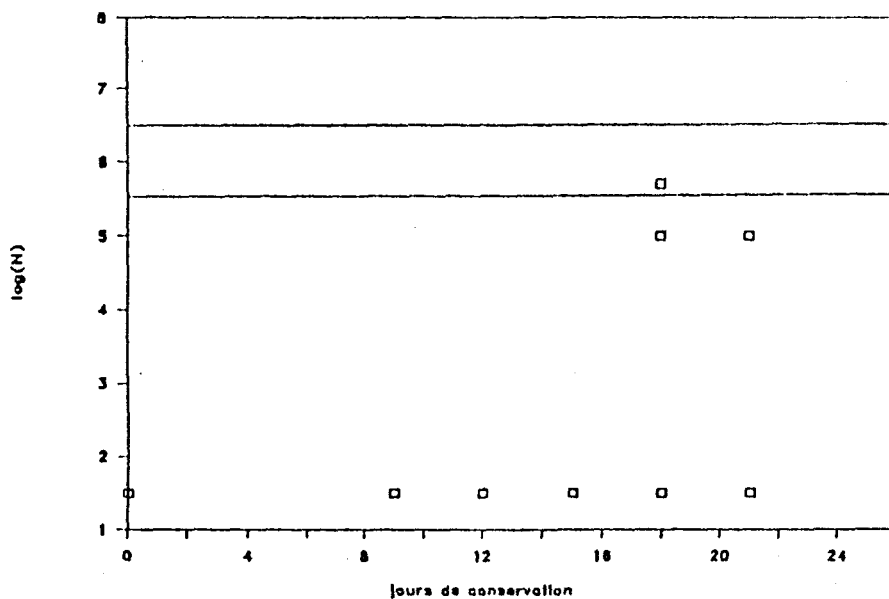


FIGURE 73 : Evolution, au cours de la conservation à +4 °C (pendant les 2/3 du temps) et +8 °C (pendant le dernier 1/3), de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 85 °C à coeur (traitement 4).

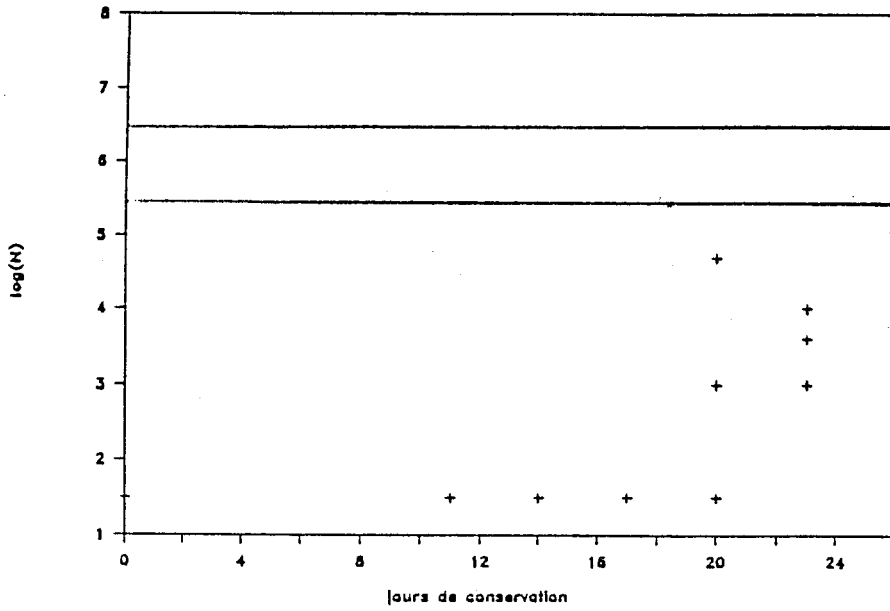


FIGURE 74 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de cabillaud cuits sous vide à 85°C à coeur (traitement 4).

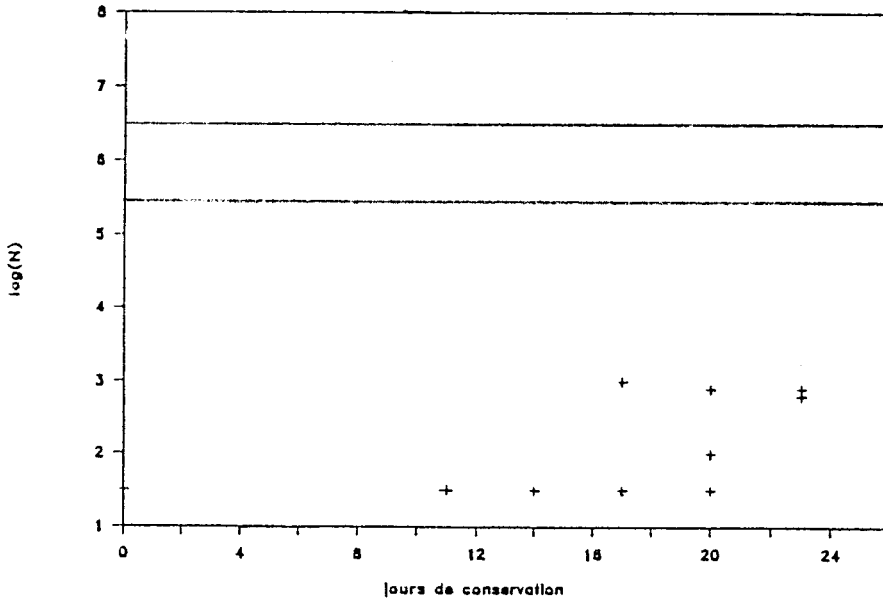


FIGURE 75 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de julienne cuits sous vide à 85°C à coeur (traitement 4).

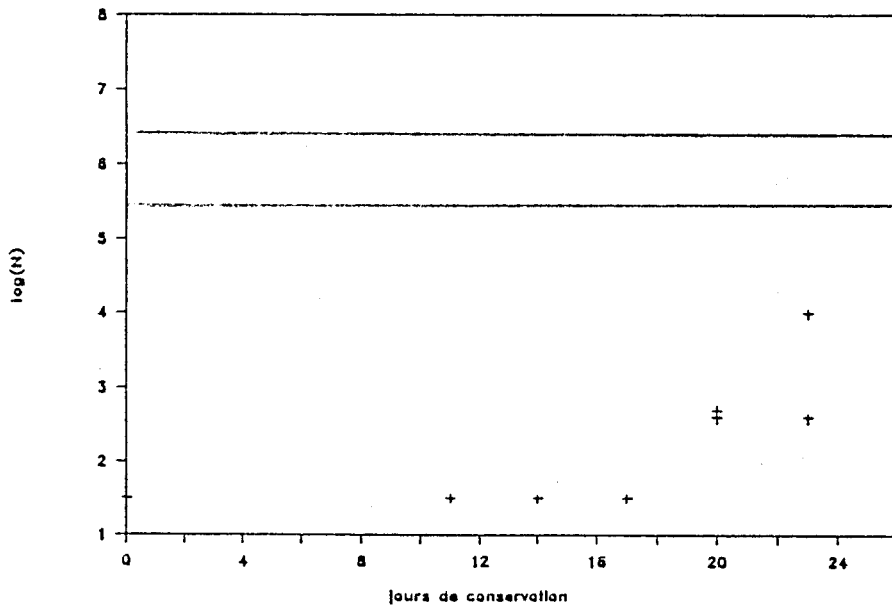


FIGURE 76 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 85°C à coeur (traitement 4).

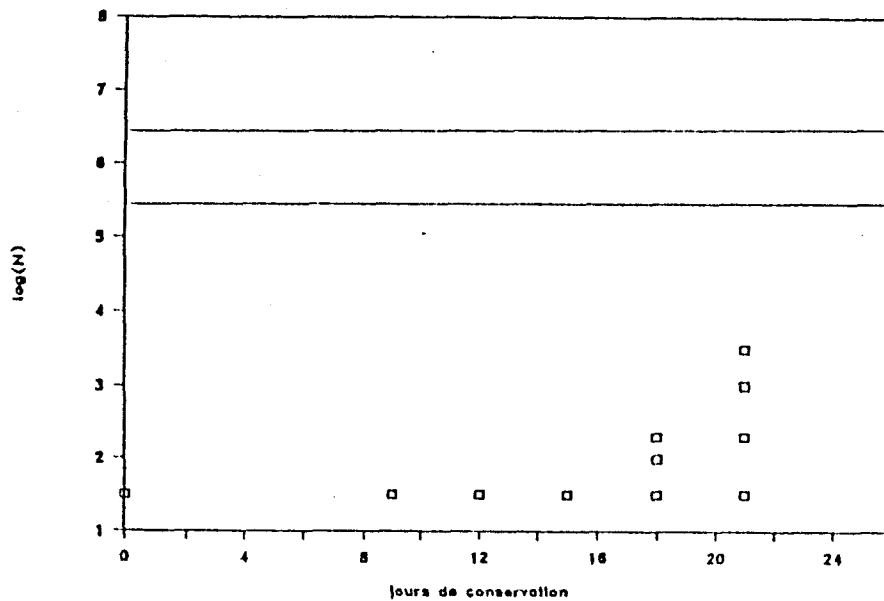


FIGURE 77 : Evolution, au cours de la conservation à +4 °C (pendant les 2/3 du temps) et +8 °C (pendant le dernier 1/3), de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de cabillaud cuits sous vide à 90 °C à coeur (traitement 5).

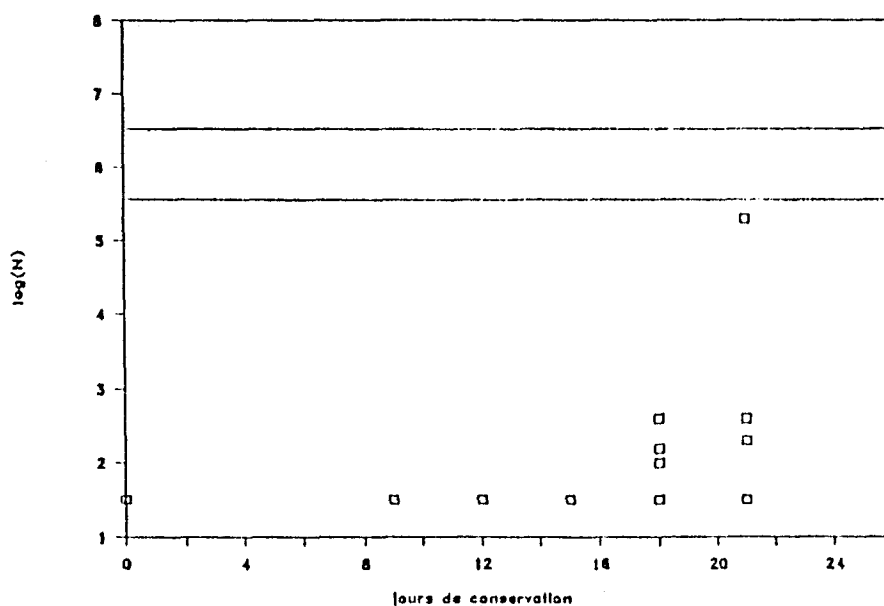


FIGURE 78 : Evolution, au cours de la conservation à +4 °C (pendant les 2/3 du temps) et +8 °C (pendant le dernier 1/3), de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de julienne cuits sous vide à 90 °C à coeur (traitement 5).

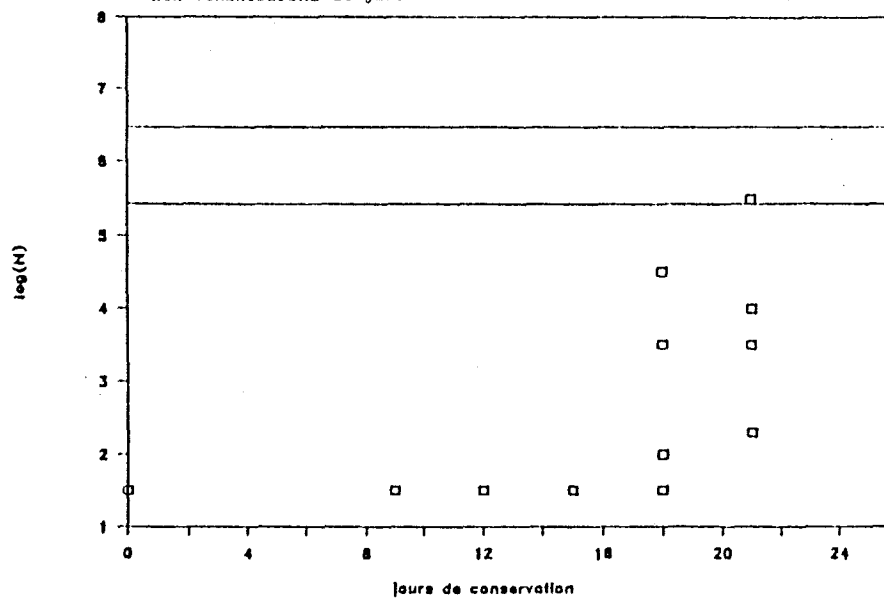


FIGURE 79 : Evolution, au cours de la conservation à +4 °C (pendant les 2/3 du temps) et +8 °C (pendant le dernier 1/3), de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 90 °C à coeur (traitement 5).

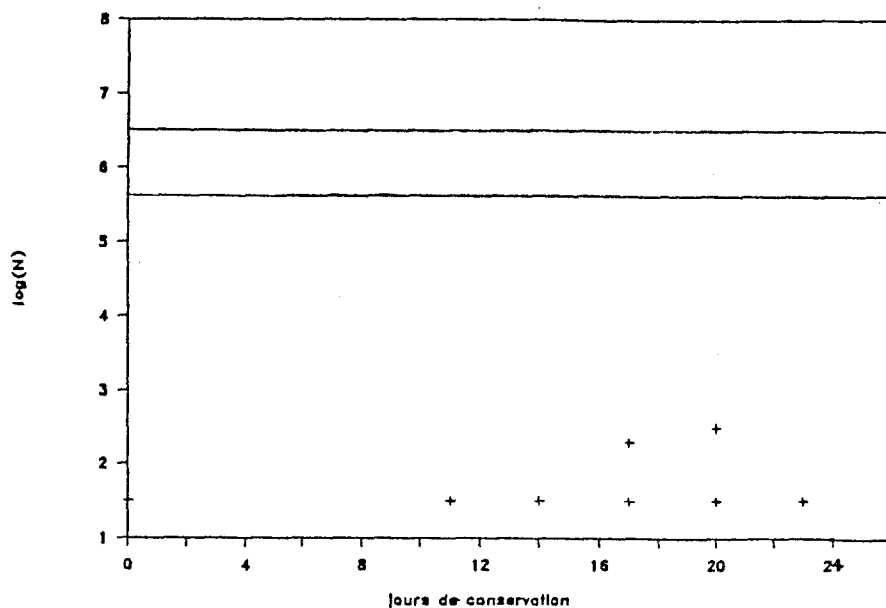


FIGURE 80 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de cabillaud cuits sous vide à 90°C à coeur (traitement 5).

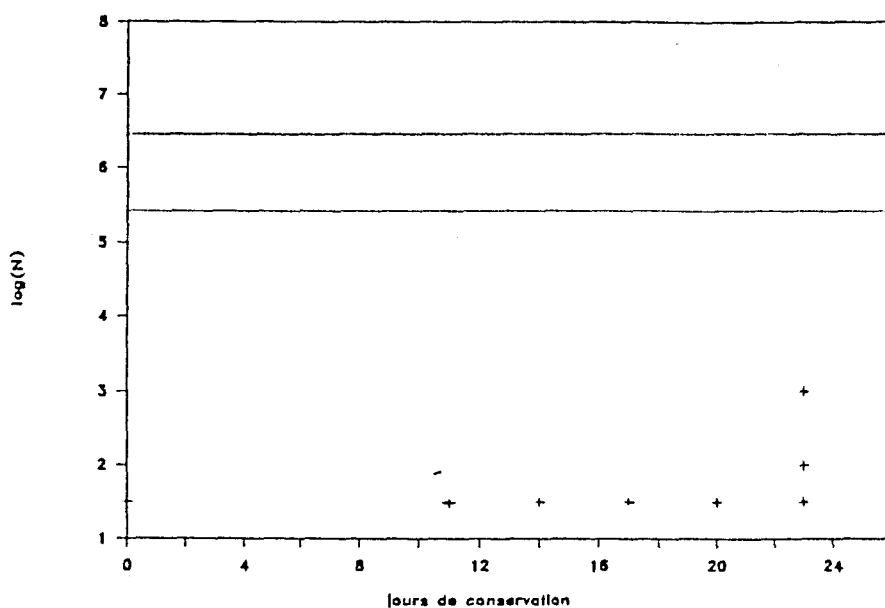


FIGURE 81 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de julienne cuits sous vide à 90°C à coeur (traitement 5).

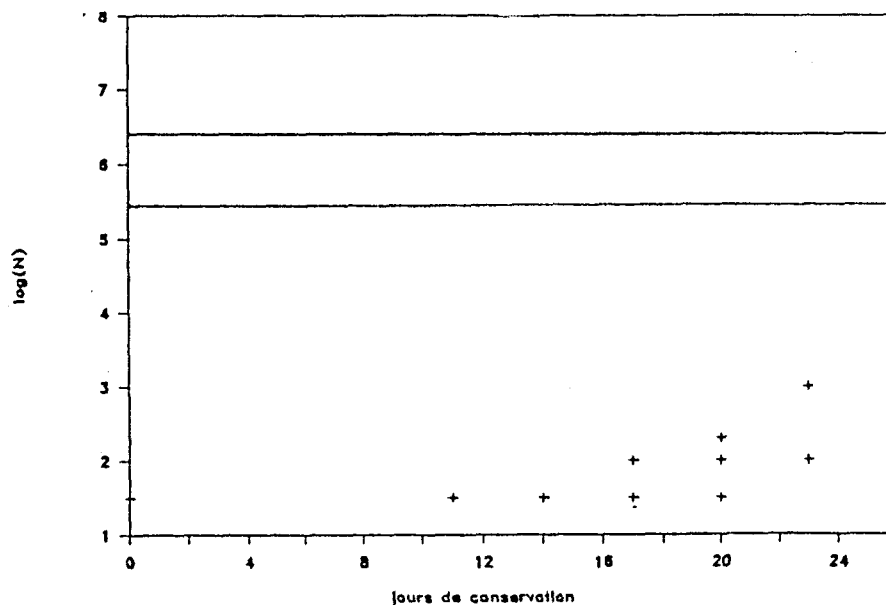


FIGURE 82 : Evolution, au cours de la conservation à +2°C, de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 90°C à coeur (traitement 5).

Les germes évoluent de la même façon dans le lieu noir, la julienne et le cabillaud. D'après les identifications que nous avons réalisées, les germes qui se sont multipliés sont uniquement des *Bacillus* même dans les échantillons ayant été cuits à coeur à 65°C où pourtant la valeur pasteurisatrice P_{70}^6 était inférieure à la valeur seuil de 15 minutes (cf. para. 2.4.).

Nous avons identifié les mêmes *Bacillus*, dans les 3 espèces de poisson : *Bacillus circulans* et *Bacillus brevis*. D'autres *Bacillus* se sont développés mais ils n'ont pu être identifiés précisément.

A +2°C, la flore totale évolue très lentement. Nous n'avons jamais dénombré plus de 3.10^5 germes/g.

Par contre, lors de la conservation à +4°C (pendant les 2/3 du temps) et +8°C (pendant le dernier 1/3), le développement des germes est nettement plus rapide :

. Excepté dans les filets de lieu noir ayant été cuits à coeur à 70°C, la multiplication bactérienne débute à peu près en même temps dans tous les échantillons ayant été cuits à coeur à 65°C (traitement 1) et 70°C (traitement 2), soit après 12 jours de conservation.

. Dans les échantillons ayant été cuits à coeur à 80°C (traitement 3), 82°C (traitement 4) et 87°C (traitement 5), la multiplication débute à des temps qui peuvent être différents selon les échantillons. C'est pourquoi à J_{21} certains échantillons ont plus de 3.10^5 germes, alors que d'autres en ont moins de 30/g. La qualité microbiologique est très variable d'un échantillon à l'autre après 12 jours de conservation.

4.3. ANALYSES SENSORIELLES

=====

Les résultats ont été les suivants :

Les échantillons ayant été soumis aux traitements basse température (traitements 1 et 2) et conservés à +2°C présentaient, à J₁₇, une saveur agréable. Par contre à J₂₀ et J₂₃, ils présentaient tous des odeurs de putréfaction et ils avaient une forte saveur ammoniacale.

De même les échantillons conservés à +4 et +8°C étaient corrects sur le plan gustatif à J₁₅ alors qu'à J₁₈ et J₂₁, ils présentaient des odeurs de putréfaction.

Les échantillons ayant été soumis aux traitements moyenne température (traitements 3 et 4) et conservés à +2°C étaient corrects sur le plan gustatif à J₁₇ et J₂₀, et à J₂₃ ils présentaient une saveur légèrement aigre.

Les échantillons conservés à +4 et +8°C étaient corrects sur le plan gustatif à J₁₅ et J₁₈, excepté les échantillons de lieu noir ayant été cuits à coeur à 80°C (traitement 3). Ceux-ci présentaient un mauvais goût de vieux, probablement du à la mauvaise qualité de la matière première. A J₂₁, les échantillons avaient une saveur légèrement aigre.

Enfin, les échantillons ayant été cuits à coeur à 88°C (traitement 5) ne présentaient aucune saveur anormale après 21 jours de conservation à +4 et +8°C et après 23 jours de conservation à +2°C.

Ces résultats sont un peu surprenants, en particulier ceux obtenus avec les échantillons ayant été soumis aux traitements basse température. En effet, nous n'avons observé aucune corrélation entre les dénombrements de la flore aéro-anaérobie facultative et les analyses sensorielles : la plupart des échantillons conservés à +2°C présentaient des odeurs de putréfaction à J₂₀ et J₂₃ et cependant ils étaient très peu contaminés en germes aéro-anaérobies facultatifs (< 30 germes/g).

Les germes aéro-anaérobies facultatifs, ne sont donc pas responsables de la dégradation des produits. Nous avons recherché si celle-ci n'était pas due à des *Clostridium*. Après ensemencement d'une dizaine de suspensions sur milieu viande levure et incubation en anaérobiose pendant le temps nécessaire, nous n'avons observé aucune colonie sur les boîtes de Petri. Les *Clostridium* ne sont donc pas non plus à l'origine de l'altération.

On peut donc penser que celle-ci est le fait d'enzymes bactériens ou tissulaires ayant résisté au traitement thermique. Nous n'avons malheureusement pas pu faire d'analyses permettant de vérifier cette hypothèse.

Outre l'appréciation de l'odeur et de la saveur, nous avons également observé la texture afin de voir s'il y avait des différences selon les traitements. D'une manière générale, nous n'avons observé aucune différence de texture liée au barème après réchauffage, qu'il s'agisse du lieu noir, du cabillaud ou de la julienne. Tous les poissons sont apparus généralement moelleux, dégustés bien chauds, alors que dégustés tièdes, ils étaient peu moelleux et même secs, dans le cas de la julienne.

En conclusion, dans les gammes de température de cuisson et valeurs pasteurisatrices testées, il n'y a pas de différence très marquée de texture selon les traitements, après réchauffage.

4.4. CONCLUSION

=====

Les produits cuits sous vide se conservent d'autant mieux que la température de conservation est basse et que le traitement thermique est important.

Ainsi, les durées de conservation que l'on pourrait établir en fonction de la valeur pasteurisatrice calculée avec les paramètres de référence officiels et en tenant compte de la conservation à +4 et +8°C sont les suivantes :

- Pour les échantillons cuits à une valeur pasteurisatrice P_{70}^{10} voisine de 600 minutes, elle pourrait être fixée jusqu'à 21 jours.

- Pour les échantillons cuits à une valeur pasteurisatrice P_{70}^{10} voisine de 140 minutes, elle pourrait être fixée jusqu'à 18 jours.

- Enfin, pour les échantillons cuits à une valeur pasteurisatrice P_{70}^{10} voisine de 15 minutes, elle ne devrait pas être supérieure à 15 jours.

L'application de valeurs pasteurisatrices P_{70}^{10} voisines de 15 minutes n'assure pas une durée de conservation très longue aux filets de poisson car les germes sporulés psychrotrophes se multiplient rapidement au cours de la conservation, surtout si celle-ci n'est pas rigoureusement réalisée à 0/+3°C, et de plus, les enzymes et en particulier les protéases, ne sont probablement pas détruits en proportion satisfaisante.

Pour avoir une durée de conservation d'environ 3 semaines, il est nécessaire d'appliquer des valeurs bien supérieures qui assurent la destruction des enzymes en proportion suffisante et qui inhibent suffisamment longtemps le développement des spores.

CONCLUSION GENERALE

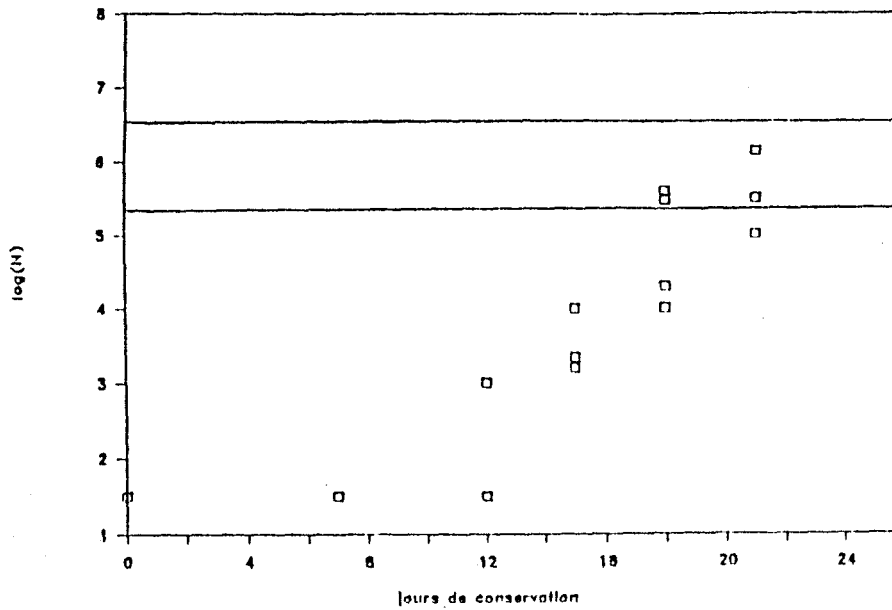


FIGURE 53 : Evolution, au cours de la conservation à +4 °C (pendant les 2/3 du temps) et +8 °C (pendant le dernier 1/3), de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de cabillaud cuits sous vide à 65 °C à coeur (traitement 1).

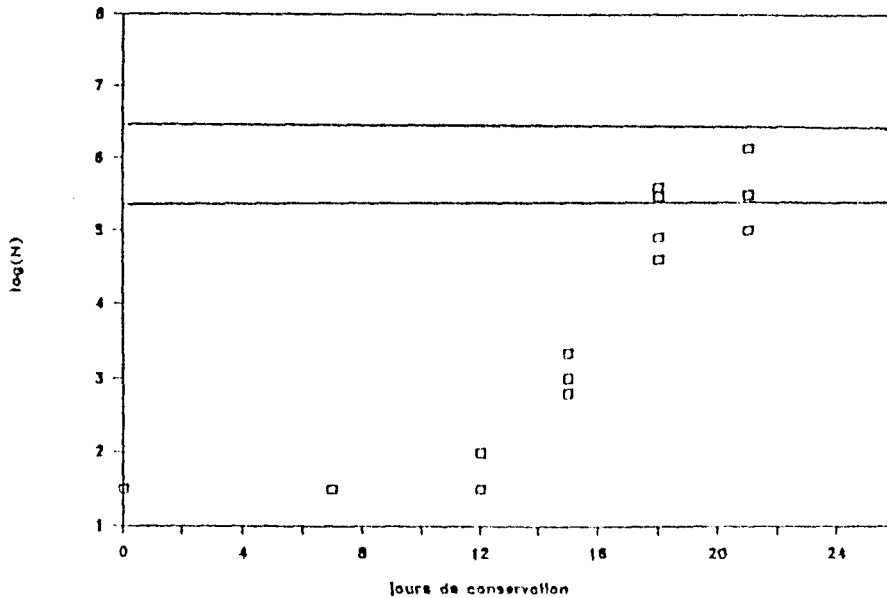


FIGURE 54 : Evolution, au cours de la conservation à +4 °C (pendant les 2/3 du temps) et +8 °C (pendant le dernier 1/3), de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de julienne cuits sous vide à 65 °C à coeur (traitement 1).

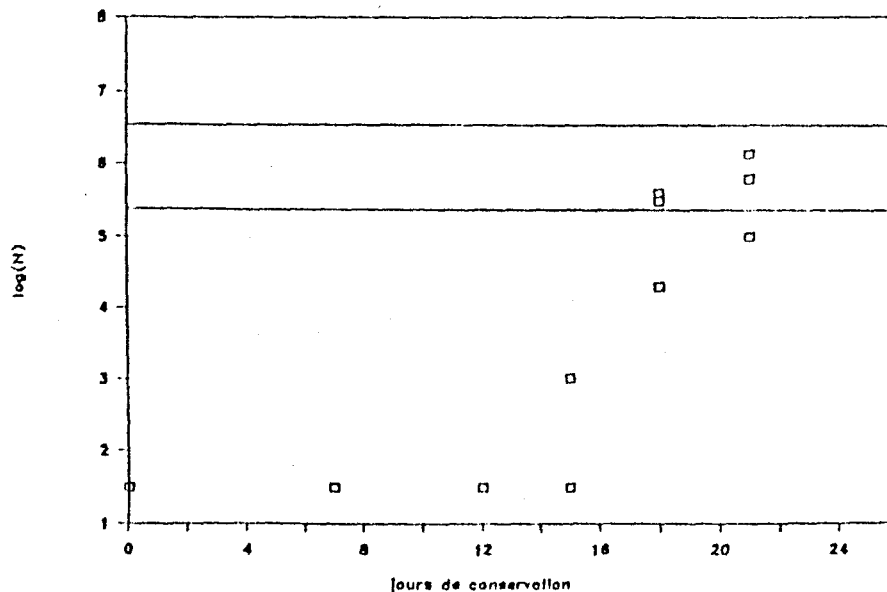


FIGURE 55 : Evolution, au cours de la conservation à +4 °C (pendant les 2/3 du temps) et +8 °C (pendant le dernier 1/3), de la flore totale aéro-anaérobie facultative des échantillons de lieu noir cuits sous vide à 65 °C à coeur (traitement 1).

Notre travail de recherche a permis de sélectionner les germes non sporulés les plus thermorésistants isolés de filets et terrines de poisson.

Parmi ceux-ci, les deux germes les plus thermorésistants sont *Pseudomonas paucimobilis* et *Streptococcus faecium*. Sur les figures 83 et 84, nous avons représenté les courbes de TDT de chacun de ces germes, dans le lieu noir et la terrine. Par ailleurs, nous y avons également fait figurer les courbes de TDT de *Streptococcus faecalis*, le germe de référence officiel en France.

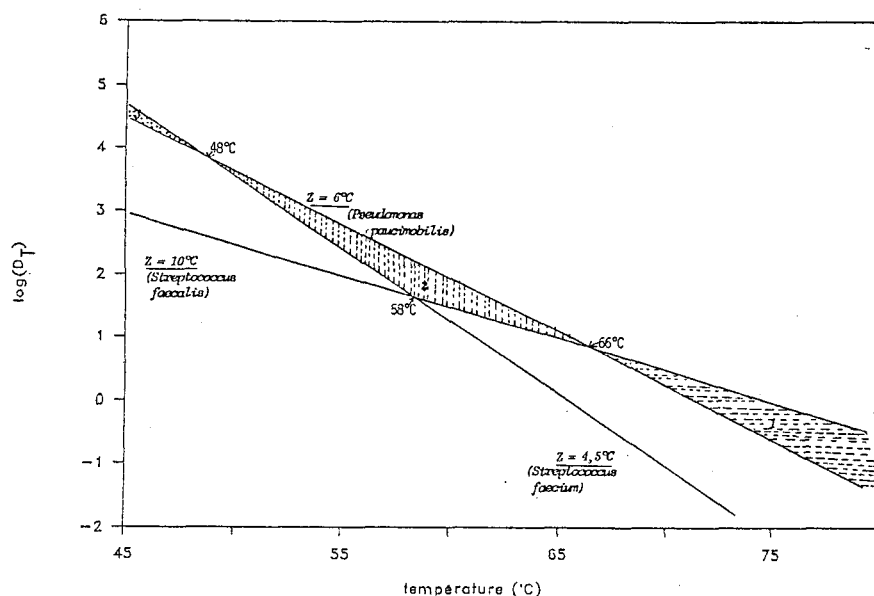


FIGURE 83 : Courbes de destruction thermique de *Pseudomonas paucimobilis*, *Streptococcus faecium* et *Streptococcus faecalis* dans le lieu noir.

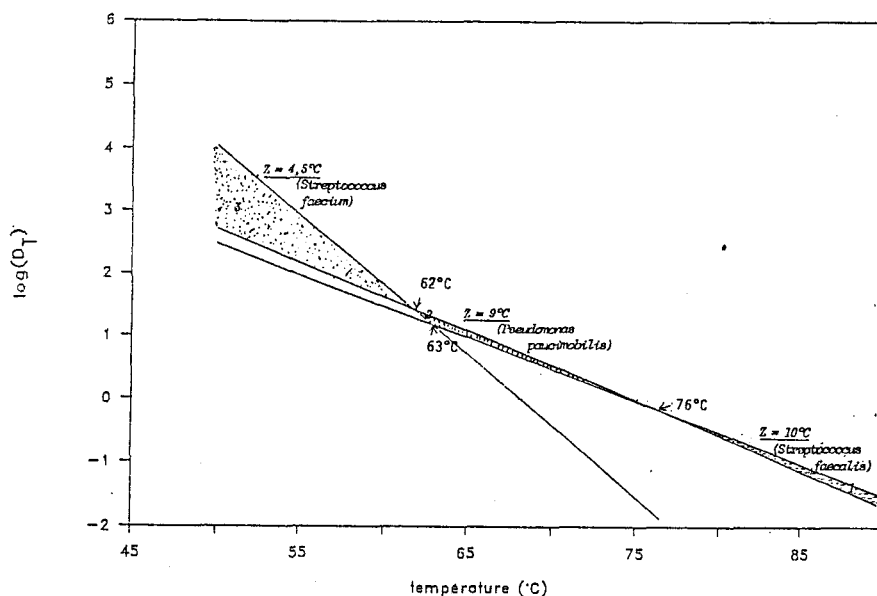


FIGURE 84 : Courbes de destruction thermique de *Pseudomonas paucimobilis*, *Streptococcus faecium* et *Streptococcus faecalis* dans la terrine.

CONWAY E.J., (1962)

Determination of volatile amines.

Microdiffusion analyses and volumetric error. (5 éd.).

Ed. Crosby Lockwood and Son, London. 195-200.

COTTERIL O.J., GLAVERT H.P. et RUSSEL W.D., (1977)

Microbial counts and thermal resistance of *Salmonella oranienburg* in ground turkey meat.

Poult. Sci., 56, 1889-1892.

CRAVEN S.E et BLANKENSHIP L.C., (1983)

Increased heat resistance of Salmonellae in beef with added soy proteins.

J. Fd. Protect., 46, (5), 380-384.

DABBAH R., MOATS W.A. et EDWARDS U.M., (1971)

Heat survivor curves of food borne bacteria suspended in commercialy sterilized whole milk.

J. Dairy Sci., 54, (12), 1772-1779.

DAVIES F.L., UNDERWOOD H.M., PERKIN A.G. et BURTON H., (1977)

Thermal death kinetics of *Bacillus stearothermophilus* spores at ultra-high temperature.

J. Fd. Technol., 12, 115-129.

ESTY J.R. et MEYER K.F., (1922)

The heat resistance of the spores of *Bacillus botulinus* and allied anaerobes.

J. Infect. Dis., 31, 650-666.

FIEGER E.A. et NOVAK A.F., (1961)

Microbiology of shellfish deterioration.

Fish as food. Ed. BORGSTROM G. Acad. Press. New-York, 1, 561-612.

F.I.O.M., (1988)

La charcuterie de poissons en France.

Bilan économique. Perspectives de développement.

GAZE J.E., (1985)

The effect on oil on the heat resistance of *Staphylococcus aureus*.

Fd. Microbiol., 2, 277-283.

GIBSON B., (1973)

The effect of high sugar concentrations on the heat resistance of vegetative microorganismes.

J. Appl. Bact., 36, 365-376.

GILLEPSIE B., (1975)

The bacterial flora of some Queensland fish and its ability to cause spoilage.

J. Appl. Bact., 39, 91-100.

GOMBAS D.E., (1983)

Bacterial spore resistance to heat.

Fd. Technol., 11, 105-110.

On voit que selon les gammes de températures considérées, les germes les plus thermorésistants sont différents.

Ainsi, dans la terrine, *Streptococcus faecalis* est le germe le plus thermorésistant dans la gamme des températures supérieures à 76°C, *Pseudomonas paucimobilis* est le germe le plus thermorésistant, dans les gammes des températures comprises entre 62 et 76°C et enfin, *Streptococcus faecium* est le germe le plus thermorésistant dans la gamme des températures inférieures à 62°C.

La même analyse pourrait être faite pour les courbes de TDT obtenues dans le lieu noir.

D'une manière générale, plus les températures sont faibles (50/65°C), plus les valeurs de z des germes les plus thermorésistants sont faibles (4/6°C), et, inversement, plus les températures sont élevées (65/85°C), plus les valeurs de z des germes les plus thermorésistants sont importantes (9/10°C).

Dans la pratique industrielle, les températures à coeur des produits en fin de cuisson varient généralement entre 65 et 85°C. Dans ces gammes de températures le germe le plus thermorésistant isolé de nos produits est *Pseudomonas paucimobilis*. C'est pourquoi, ce germe a été choisi comme référence pour définir les valeurs pasteurisatrices à appliquer aux produits de la mer cuits sous vide. Dans les filets de poisson, pour détruire en proportion suffisante *Pseudomonas paucimobilis* et par conséquent la quasi-totalité des germes non sporulés, il faudrait appliquer une valeur pasteurisatrice $P_{70}^6 = 15$ minutes, et dans les terrines, une valeur pasteurisatrice $P_{70}^9 = 30$ minutes. Dans le cas des terrines, si les températures à coeur en fin de cuisson sont inférieures à 62°C, le germe le plus thermorésistant n'est plus *Pseudomonas paucimobilis* mais *Streptococcus faecium*, les valeurs pasteurisatrices à appliquer devraient donc être égales à $P_{70}^{4,5} = 4$ minutes.

Les valeurs de z prises en compte pour le calcul des valeurs pasteurisatrices sont différentes selon les produits et selon les températures. Afin que la conduite des cuissons à l'aide des valeurs pasteurisatrices soit pratique au niveau industriel, il serait préférable de définir des valeurs pasteurisatrices communes à tous les produits (filets et terrines de poisson).

Toutefois, compte tenu des conclusions précédentes, on pourrait envisager de définir deux valeurs de z pour le calcul des valeurs pasteurisatrices. Le choix de l'une ou l'autre des valeurs dépendrait des températures à coeur atteintes en fin de cuisson. Si celles-ci sont faibles, il faudrait choisir une valeur de z faible et si elles sont élevées, il faudrait choisir une valeur de z plus importante.

Sur la figure 85 nous avons représenté les courbes de TDT de *Streptococcus faecium* et *Pseudomonas paucimobilis*, obtenues dans le lieu noir et la terrine.

Pour des températures supérieures à 65°C, la valeur de z du germe le plus thermorésistant est égale à 9°C, pour des températures comprises entre 57 et 65°C, la valeur de z du germe le plus thermorésistant est égale à 6°C et enfin, pour des températures inférieures à 57°C, la valeur de z du germe le plus thermorésistant est égale à 4,5°C.

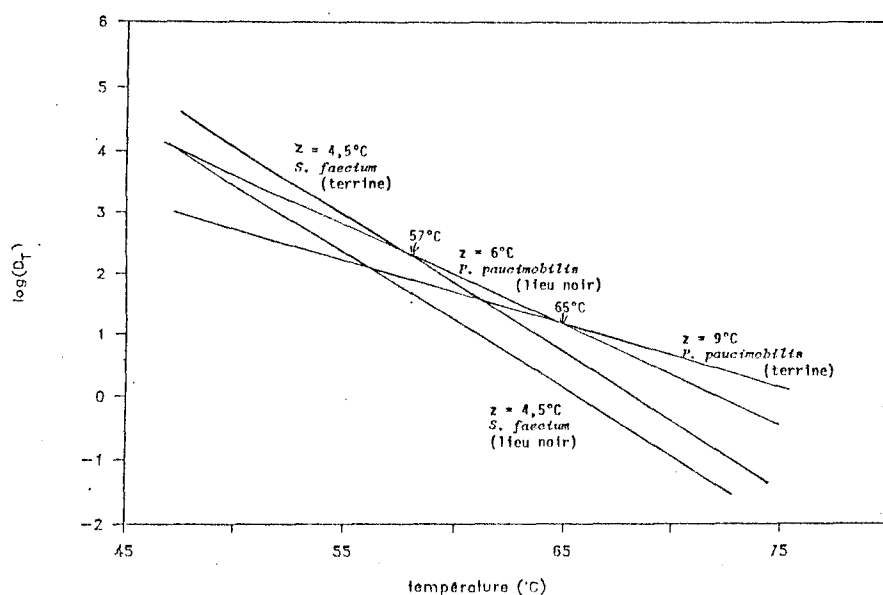


FIGURE 85 : Courbes de destruction thermique de *Pseudomonas paucimobilis* et *Streptococcus faecium* dans la terrine et le lieu noir.

En conclusion, dans les produits de la mer cuits sous vide :

- si les températures à coeur en fin de cuisson sont supérieures à 65°C, les valeurs pasteurisatrices pourraient être calculées avec $z = 9^\circ\text{C}$ et la valeur pasteurisatrice minimale à appliquer pour détruire la quasi-totalité des germes non sporulés, pourrait être $P_{70}^9 = 30$ minutes.

- si les températures à coeur en fin de cuisson sont inférieures ou égales à 65°C, les valeurs pasteurisatrices pourraient être calculées avec $z = 6^\circ\text{C}$ et la valeur pasteurisatrice à appliquer pourrait être $P_{70}^6 = 15$ minutes. Si les températures à coeur en fin de cuisson sont très faibles, de l'ordre de 55°C, bien que la valeur de z du germe le plus thermorésistant soit égale à 4,5°C, le calcul des valeurs pasteurisatrices pourrait quand même être réalisé en prenant $z = 6^\circ\text{C}$, car aux alentours de 55°C, les courbes de TDT correspondant à ces deux valeurs (4,5°C et 6°C) sont très proches.

L'application des valeurs pasteurisatrices définies précédemment devrait assurer la destruction des formes végétatives des bactéries en proportion satisfaisante. Cependant, la plupart des spores ne sont pas détruites par de tels traitements; la durée de vie des produits va donc dépendre en partie, de leur comportement au cours de la conservation.

Nous avons montré que dans les filets de poisson, on trouvait parfois en faible quantité, des *Bacillus*. Dans les terrines par contre, on dénombre beaucoup plus de spores amenées principalement par les produits deshydratés tels que la farine et les épices. Là encore, les spores rencontrées sont principalement des *Bacillus*, on a cependant parfois trouvé des *Clostridium* sulfito-réducteurs.

Parmi les spores présentes dans les filets de poisson et les terrines, seul un nombre limité d'espèces est capable de se multiplier à basse température. Nous avons identifié trois espèces psychrotrophes capables de se développer 0/+3°C : *Bacillus sphaericus*, *Bacillus brevis* et *Bacillus circulans*.

Le développement de ces spores dépend d'un certain nombre de facteurs :

. Le milieu dans lequel elles se trouvent a une influence. En effet, nous avons observé que le développement était plus rapide dans les filets de poisson que dans les terrines.

. La température de conservation a également une grande influence. A +8°C, les spores psychrotrophes se développent beaucoup plus rapidement qu'à 0/+3°C. Il faut préciser que même à cette température, les spores psychrotrophes finissent toutes par germer et les germes correspondant par se multiplier dans les produits, après un temps de latence plus ou moins long.

. Enfin, nous avons observé que plus le traitement thermique était important, plus le développement des spores était lent. Celles-ci sont, semble-t-il, stressées par le traitement.

De nombreux paramètres interviennent sur le développement des spores d'où la difficulté de contrôler ce développement et de définir des durées de vie pour les produits.

Au cours de nos essais, nous n'avons pas trouvé de *Clostridium botulinum*. Cependant, les risques de contamination par *Clostridium botulinum E* sont toujours à craindre car ces germes sont capables de se développer à des températures de l'ordre de +3°C. Les spores de *Clostridium botulinum E* ne sont pas très thermorésistantes, nous avons donc calculé, pour les valeurs pasteurisatrices que nous avons définies, quel était le taux de destruction de ces spores.

Lynt (1977) a trouvé que les valeurs de z des spores de *Clostridium botulinum E* variaient approximativement entre 6 et 9°C et que le temps de réduction décimale maximal à 82°C était égal à 0,74 minutes.

En supposant que la valeur de z des spores de *Clostridium botulinum E* soit égale à 6°C , le temps de réduction décimale à 70°C serait alors égal à 74 minutes. Compte tenu de la relation $P_{70}^z = \log(N_0/N) \cdot D_{T_{\text{ref}}}$, avec une valeur pasteurisatrice $P_{70}^6 = 15$ minutes, on aurait un taux de destruction pratiquement nul, de l'ordre de 0,2.

Si maintenant, on considérait z égal à 9°C , on aurait alors $D_{70} = 16$ minutes. Une valeur pasteurisatrice $P_{70}^9 = 30$ minutes permettrait d'obtenir un taux de destruction plus important : $\log(N_0/N) = 2$.

On voit donc que les valeurs pasteurisatrices $P_{70}^6 = 15$ minutes et $P_{70}^9 = 30$ minutes, qui assurent la destruction de la quasi-totalité des germes non sporulés, ne permettent pas de détruire de façon significative les spores de *Clostridium botulinum E*.

En supposant que l'on ait initialement 1 spore/kg et que l'on veuille après traitement thermique 1 spore/1 000 tonnes, soit un taux de destruction $\log(N_0/N) = 6$, pour parvenir à ce résultat, il faudrait alors une valeur pasteurisatrice $P_{70}^6 = 444$ minutes (si $z = 6^{\circ}\text{C}$) ou $P_{70}^9 = 96$ minutes (si $z = 9^{\circ}\text{C}$). L'application de telles valeurs pasteurisatrices devraient limiter fortement les risques d'intoxication par *Clostridium botulinum E*.

Par ailleurs, outre le problème des spores, des enzymes et en particulier des protéases peuvent résister au traitement si celui-ci est insuffisant, et dégrader rapidement les produits.

Il faudrait déterminer les paramètres de thermorésistance D_T et z des enzymes les plus actifs dans le processus de dégradation pour définir les barèmes à appliquer pour les inactiver.

En conclusion, cette étude a permis de déterminer les valeurs pasteurisatrices minimales à appliquer pour détruire les germes non sporulés dangereux pour le consommateur et la plupart des germes d'altération. L'application de telles valeurs pasteurisatrices n'assure qu'une durée de vie limitée aux produits car le développement des spores psychrotrophes est rapide, en particulier si la conservation n'est pas réalisée dans de bonnes conditions. De plus, dans le cas des filets de poisson, de telles valeurs pasteurisatrices ne permettent probablement pas l'inactivation des enzymes en proportion suffisante.

Pour assurer aux préparations cuites sous vide à base de produits de la mer et en particulier aux filets de poisson, une conservation de plusieurs semaines à $0/+3^{\circ}\text{C}$, il est nécessaire d'appliquer des valeurs pasteurisatrices supérieures à celles que nous avons définies, afin de détruire une quantité significative de spores de *Clostridium botulinum E*, de détruire également, en quantité satisfaisante les enzymes et enfin, d'inhiber suffisamment longtemps le développement des spores.

B I B L I O G R A P H I E

ABGRALL B., (1988)

Etude de la microflore des différents aliments et de ses effets. Poissons et autres produits de la mer. Microbiologie alimentaire 1. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires.

Ed. BOURGEOIS C.M., MESCLE J.F. et ZUCCA J.

Tech. et Doc. Lavoisier. APRIA. 251-265.

ABRAHAMSSON K., GULLMAR B. et MOLIN N., (1966)

The effect of temperature on toxin formation and toxin stability of *Clostridium botulinum E* in different environments.

Can. J. Microbiol., 12, 385-394.

ALLWOOD M.C. et RUSSEL A.D., (1970)

Mechanisms of thermal injury in nonsporulating bacteria.

Adv. Appl. Microbiol., 12, 89-119.

ANGELOTTI R., MARYANSKI J.H., BUTLER T.F., PEELER J.T. et CAMPBELL J.E., (1968)
Influence of spore moisture content on the dry heat resistance of *Bacillus subtilis* var. *Niger*.

Appl. Microbiol., 16, 735-745.

BALL C.O. et OLSON F.C.W., (1957)

Sterilization in food technology.

Theory, practice and calculations, Mc Graw-Hill, New-York.

BERGEY's manual of determinative bacteriology, (1984)

Ed. Williams et Wilkins. Baltimore.

BEUCHAT L.R. et LECHOWIC H.R.V., (1968)

Survival of heated *Streptococcus faecalis* as affected by phase of growth and incubation temperature after thermal exposure.

J. Appl. Bact., 31, 414-419.

BIGELOW W.D., BOHART G.S., RICHARDSON A.C. et BALL C.O., (1920)

Heat penetration in processing canned foods.

Natl. Canners Assoc. Bull.

BILLON J.N., OLLIUZ N. ET TAO S.H., (1979)

Etude d'une nouvelle méthode de dosage de l'azote basique volatil total pour l'évaluation qualitative des produits de la pêche.

Rev. Tech. Vét. Alim. 149, 13 - 17.

BOND W.W., FAVERO M.S., PETERSEN N.J. et MARSHALL J.H., (1970)

dry-heat inactivation kinetics of naturally occurring spore populations.

Appl. Microbiol., 20, 573-578.

BRADBURY J.H., FOSTER J.R., HAMMER B., LINDSAY Y et MURRELL W.G., (1981)

The source of heat resistance of bacterial spores. Study of water in spores by NMR.

Biochim. Biophys. Acta., 678, 157

BROWN L.D. et DORN C.R., (1977)
Fish, shellfish, and human health.
J. Fd. Protect., 40, (10), 712-717.

BUSTA F.F., (1967)
Thermal inactivation characteristics of bacterial spores at ultra-high temperature.
Appl. Microbiol., 15, 640-645.

BUTTIAUX R., (1968)
Le déversement en mer des eaux résiduaires.
Bull. Inserm, 23, (3), 623-638.

CERF O., BERGERE J.L. et HERMIER J., (1967)
Thermorésistance des spores de *Clostridium tyrobutyricum* et *Clostridium butyricum*.
J. Dairy Res., 34, 221-229.

CERF O., (1977)
Tailing of survival curves of bacterial spores.
J. Appl. Bacteriol., 42, 1-19.

CERF O., DOUSSET X. et BROSSARD J., (1988)
Pasteurisation et stérilisation thermique.
Microbiologie alimentaire I. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires. Ed. BOURGEOIS C.M., MESCLE J.F. et ZUCCA J. Tech. et Doc. Lavoisier. APRIA. 308-328.

CHARM S.E., (1958)
The kinetics of bacterial inactivation by heat.
Fd. Technol., 12, 4-8.

CHEFTEL H. et THOMAS G., (1963)
Principes et méthodes pour l'établissement des barèmes de stérilisation des conserves alimentaires.
Ets. J.J. Carnaud. Forges de Basse Indre. Bull. n°14.

CHEFTEL J.C. et CHEFTEL H., (1977)
Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments.
Vol 2. Tech. et Doc. Lavoisier.

CHICK H., (1910)
The process of disinfection by chemical agencies and hot water.
J. Hyg., 10, 237-286.

COCKEY R.R et TATRO M.C., (1974)
Survival studies with spores of *Clostridium botulinum* type E in pasteurized meat of the Blue Crab *Callinectes sapidus*.
Appl. Microbiol., 27, (4), 629-633.

COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE, (1978)
Statistiques appliquées à l'exploitation des mesures. T2.
Ed. Masson.

- GUIRAUD J. ET GALZY P. (1980)
L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires.
Ed. usine nouvelle.
- HACKNEY R. et DICHARRY A., (1988)
Seafood borne bacterial pathogens of marine origin.
Fd. Technol., 3, 104-107.
- HAN Y.W., (1975)
Death rates of bacterial spores : nonlinear survivor curves.
Can. J. Microbiol., 21, 1464-1467.
- HANNA M.O., STEWART J.C., CARPENTER Z.L. et VANDERZANT C., (1977)
heat resistance of *Yersinia enterocolitica* in skin milk.
J. Fd. Sci., 42, (4), 1134-1136.
- HANSEN N.H. et RIEMANN H., (1963)
Factors affecting the heat resistance of nonsporing organisms.
J. Appl. Bact., 26, (3), 314-333.
- HERBERT R.A., (1975)
Microbial ecology of fish spoilage.
Process Bioch., 10, 9-11.
- HOBBS G. et HODGKISS W., (1982)
The bacteriology of fish handling and processing.
Development in food microbiology 1.
Ed. DAVIES R., Applied Science Publishers. 71-117.
- HSIEH F., ACOTT K. et LABUZA T.P., (1976)
Death kinetics of pathogens in a pasta product.
J. Fd. Sci., 41, 516-519.
- HURST A. et HUGHES A., (1983)
The protective effect of some food ingredients on *Staphylococcus aureus*
MF 31.
J. Appl. Bact., 55, 81-88.
- INGRAHAM J.L. et STOKES J.L., (1959)
Psychrophilic bacteria.
Bacteriological rev., 23, 97-108.
- KATZIN L.I., SANDHOLZER L.A. et STRONG M.E., (1943)
Application of the decimal reduction time principle to a study of the
resistance Coliform bacteria to pasteurization.
J. Bact., 45, 265-272.
- LANNELONGUE M., FINNE G., HANNA M.O., NICKELSON R. et VANDERZANT C., (1982)
Microbial and chemical changes during storage of swordfish steaks in retail
packages containing CO₂ enriched atmospheres.
J. Fd. Protect., 45, (13), 1197-1203.
- LARKIN J.M. et STOKES J.L., (1966)
Isolation of psychrophilic species of *Bacillus*.
J. Bact., 91, (5), 1667-1671.

LISTON J., (1980)

Microbiology in fishery science.

Advances in fish science and technology. 138-157.

Ed. CONNELL J.J., Fishing News Book, Ltd Farnham. Surrey, England.

LISTON J., (1982)

Recent advances in the chemistry of iced fish spoilage.

Chemistry and biochemistry of marine food products. Ed. MARTIN R., FLICK G.

HEBARD C.E. et WARD D.R. AVI. Westport, Connecticut. 27-37.

LYNT R.K., SOLOMON H.M., LILLY T. et KAUTTER J.R. et D.A., (1977)

Thermal death time of *Clostridium botulinum* type E in meat of the blue crab.

J. Fd. Sci., 42, (4), 1022-1037.

MAGNUS C.A., INGLE DEW W.M. et Mc CURDY A.R., (1986)

Thermal resistance of Streptococci isolated from pasteurized ham.

Can. Inst. Fd. Sci. Technol. J., 19, (2), 62-67.

MALLE P., NOWOGROCKI G. et TAILLIEZ R., (1983)

Corrélation entre l'indice d'altération et l'azote basique volatil total pour divers poissons marins.

Sci. Al., 3, 311-322.

MALLE P., EB P. et TAILLIEZ R., (1986)

Determination of the quality of fish by measuring trimethylamine oxide reduction.

Int. J. Microbiol., 3, 225-235.

MALLE P. et TAO S.H., (1987)

Rapide quantitative determination of trimethylamine using steam distillation.

J. Fd. Protect., 50, (9), 756-760.

MALLE P., VANELLE A.M. et PETIT A., (1989)

Teneur en azote basique volatil total du tissu musculaire des poissons marins.

Rec. Med. Vet., 165, (4), 395-402.

MOATS W.A., DABBAH R. et EDWARDS V.M., (1971)

Interpretation of nonlogarithmic survivor curves of heated bacteria.

J. Fd. Sci., 36, 523-526.

MULAK V., (1988)

The pasteurization of fish products : Influence of thermal process and storage temperature on the shelflife of saithe pasteurized fillets.

Western European Fish Technologists Association. 18^{ème} congrés annuel.

Tromso Norvège.

MURELL W.G. et SCOTT W.J., (1966)

The heat resistance of bacterial spores at various water activities.

J. Gen. Microbiol., 43, 411-425.

OHLSSON T., (1978)

Pasteurization of meat, fish and convenience food products.

Food quality and nutrition. Ed. DOWNEY W.K. Elsevier. 163-188.

- OTT T., EL-BISI H. et ESSELEN W.B., (1960)
Thermal destruction of *Streptococcus faecalis* in prepared frozen foods.
J. Fd. Sci., 26, 1-10.
- PACE B. et CAMPBELL L.L., (1967)
Correlation of maximal growth temperature and ribosome heat stability.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 57, 1110-1117.
- PUROHIT K. et STOKES J.L., (1967)
Heat labile enzymes in a psychrophilic bacterium.
J. Bacteriol., 93, 199-206.
- RAHN O., (1930)
The non logarithmic order of death of some bacteria.
J. Gen. Physiol., 13, 395-407.
- REICHERT J.E., BREMKE H. et BAUMGART J., (1979)
Zur Ermittlung des Erhitzungseffektes für Kochschinken (F-wert).
Die Fleischerei, (8), 624-634.
- ROBERTS T.A. et INGRAM M., (1965)
The resistance of spores of *Clostridium botulinum* to heat and radiation.
J. Appl. Bacteriol., 28, 125-141.
- ROBISON S.H. et MORITA R.Y., (1966)
Z. Allegem Mikrobiol., 6, 181-187. (cité par ALLWOOD et RUSSEL 1970)
- ROSSET R. et POUMEYROL G., (1986)
Procédés modernes de préparation de plats cuisinés à l'avance par cuisson précédant ou suivant le conditionnement sous vide.
Sci. Al., 6, hors série VI, 161-167.
- ROZIER J., CARLIER V. et BOLNOT F., (1985)
Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments.
Ed. SEPAIC.
- SAINCLIVIER M., (1983)
L'industrie alimentaire halieutique.
Vol. 1 : Le poisson matière première.
Bull. Scient. Tech. de l'école nationale agronomique et du centre de recherches de Rennes.
- SAINCLIVIER M., (1988)
L'industrie alimentaire halieutique.
Vol. 3 : La conservation par des moyens physiques. Première partie :
Conserveries de poissons.
Bull. Scient. Tech. de l'école nationale agronomique et du centre de recherches de Rennes.
- SEBALD M., (1988)
Clostridium botulinum.
Microbiologie alimentaire 1. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires. Ed. BOURGEOIS C.M., MESCLE J.F. et ZUCCA J.
Tec. et Doc. Lavoisier. APRIA. 77-89.

SENHAJI A.F., BIBENET J.J. et LE MAGUER M., (1976)
Protection des microorganismes par les matières grasses au cours des
traitements thermiques.
Ind. Alim. Agr., 93, (1), 13-21.

SENHAJI A.F. et LONCIN M., (1977)
The protective effect of fat on the heat resistance of bacteria.
J. Fd. Technol., 12, 203-216.

SHEHATA T.E. et COLLINS E.B., (1971)
Influence of temperature on the growth of psychrophilic strains of *Bacillus*.
J. Dairy Sci., 54, (11), 1579-1582.

SHEHATA T.E. et COLLINS E.B., (1972)
Sporulation and heat resistance of psychrophilic strains of *Bacillus*.
J. Dairy Sci., 55, (10), 1405-1409.

SHEWAN J.M., HOBBS G. et HODGKISS W., (1966)
A determinative scheme for the identification of certain genera Gram-negative
bacteria with special reference to the pseudomonaceae.
J. Appl. Bact., 23, 379

SHEWAN J.M., (1962)
The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes.
Recent Adv. Fd. Sci., 1, 167-193.

SHEWAN J.M., (1971)
The microbiology of fish and fishery products. A progress report.
J. Appl. Bact., 34, (2), 299-315.

SHEWAN J.M., (1977)
The bacteriology of fresh and spoiling fish and biochemical changes induced by
bacterial action.
Handling, processing and marketing of tropical fish.
Ed. Tropical Products Institute, London. 51-66.

SIMIDU W., (1961)
Non protein nitrogen compounds.
Fish as food. Ed. BORGSTROM G. Acad. Press. New-York, I, 353-384.

SPENCER R., (1967)
Heat resistance of microorganisms.
Fd. Manufacture, 42, (6), 29-34.

STUMBO C.R., (1973)
Thermobacteriology in food processing.
(2 éd.), New-York : Acad. Press.

THUILLOT M.L., BROSSARD J., THOMAS G. et CHEFTEL H., (1968)
A propos de la thermorésistance de *Staphylococcus aureus* dans l'huile.
Ann. Inst. Pasteur Lille, 19, 1-7.

TODD E.C.D., (1978)
Foodborne disease in six countries. A comparaison.
J. Fd. Protect., 41, (7), 559-565.

ANNEXES

- ANNEXE 1 -

ABVT (mg azote / 100 g de chair)	FLORE AEROBIE MESOPHILE (nombre de germes/g)	FLORE AEROBIE PSYCHROTROPHE (nombre de germes/g)	MICROCOQUES STAPHYLOCO- QUES (/g)	STAPHYLOCO- QUES PATHO- GENES (/g)	ENTERO- BACTERIES (/g)	STREPTOCOQUES FÉCAUX (/g)	LACTOBACILLES (/g)	GERMES SPORULES AÉROBIES MÉSOPHILES (/g)	ANAÉROBIES SULFITE REDUCTEURS (/g)
X	1 000	14 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
9,6	1 470	X	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
19	28 890	93 000	1 000	< 50	354	< 50	< 50	< 5	0
19	34 700	100 000	218	< 50	140	< 50	< 50	8	0
14,4	19 900	48 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
15,23	100 000	190 00	489	< 50	2 800	< 50	< 50	< 5	0
12,2	140 000	190 000	< 50	< 50	2 400	< 50	< 50	< 5	0
14,4	48 000	41 000	245	< 50	140	< 50	< 50	7	0
6,8	5 490	28 000	190	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
13	1 000	28 000	< 50	< 50	4 900	< 50	< 50	< 5	0
15	1 000	74 000	2 450	< 50	2 450	< 50	< 50	< 5	0
12,74	74 100	79 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
11,63	26 900	74 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
12,2	24 500	44 000	100	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
13,8	10 000	34 000	< 50	< 50	100	< 50	< 50	< 5	0
X	1 000	44 000	245	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
12	5 500	17 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
11	24 500	26 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
10	6 450	34 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
13,4	10 000	77 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
7,4	28 000	28 000	740	< 50	100	< 50	< 50	< 5	0
7	1 900	10 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
8,1	2 400	3 900	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
13,3	2800	26 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
15,23	5 800	14 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
16	2 400	74 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
13,8	10 000	100 000	--	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
18,7	28 000	100 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
18,8	1 400	74 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
17,17	4 800	100 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
17,9	1 900	27 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
14	5 800	48 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
X	--	58 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE
13,42	20 610	59 310	< 50 pour 71% des échantil- lons 577 pour 29% des échantil- lons	< 50	< 50 pour 75% des échantil- lons 1 487 pour 25% des échantil- lons	< 50	< 50	< 5 pour 90% des échantil- lons 7 pour 10% des échantil- lons	0

TABLEAU 1 : Résultats détaillés des dénombrements effectués sur la chair de lieu noir entier.

ABVT (mg azote / 100 g de chair)	FLORE AEROBIE: MESOPHILE (nombre de germes /g)	FLORE AEROBIE: PSYCHROTROPHE: (nombre de germes /g)	MICROCOQUES STAPHYLOCO- QUES (/g)	STAPHYLOCO- QUES PATHO- GENES (/g)	ENTERO- BACTERIES (/g)	STREPTOCOQUES FÉCAUX (/g)	LACTOBACILLES (/g)	GERMES AEROBIES SPORIULES MESOPHILES (/g)	ANAEROBIES SULFITO REDUCTEURS (/g)
14,4	26 100	48 900	2 454	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
16	14 700	100 000	2 454	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
20	24 500	150 000	2 951	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
17,2	48 900	34 000	891	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
16,62	10 000	38 900	1 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
15,78	10 000	5 800	254	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
14	48 000	10 000	588	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
14	39 000	48 900	1 288	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
16,6	25 000	74 000	295	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
15	14 700	41 000	1 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 5	0
MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE
16	26 050	55 150	1 317	< 50	< 50 pour 80% des échantil- lons.	< 50	< 50	< 5 pour 90% des échantil- lons	0
								7 pour 10% des échantil- lons.	

TABLEAU 2 : Résultats des dénombrements effectués sur les filets de lieu noir de l'atelier 1.

AVT (mg azote / 100 g de chair)	FLORE AEROBIE MESOPHILE (nombre de germes /g)	FLORE AEROBIE PSYCHROTROPHE (nombre de germes /g)	MICROCOQUES STAPHYLOCO- QUES (/g)	STAPHYLOCO- QUES PATHO- GENES (/g)	ENTERO- BACTERIES (/g)	STRPTOCOQUES FECALUX (/g)	LACTOBACILLES (/g)	GERMES AEROBIES SPOULES MESOPHILES (/g)	SULFITO REDUCTEURS (/g)	ANEROBIES
24,93	489 000	790 000	3 489	489	60	691	691	691	0	0
27,7	199 000	230 000	248	199	100	891	891	891	0	0
29,9	170 000	290 000	3 230	170	100	148	148	148	0	0
28,47	489 000	290 000	1 698	489	830	794	794	794	0	0
30,96	199 000	340 000	1 995	199	1 479	691	691	691	0	0
27,91	230 000	370 000	1 400	230	223	794	794	794	0	0
29,13	250 000	230 000	2 300	250	100	398	398	398	0	0
30,79	580 000	489 000	1 400	580	229	214	214	214	0	0
30,2	290 000	290 000	1 000	290	3 230	290	290	290	0	0
24,37	340 000	290 000	691	340	3 200	1 000	1 000	1 000	0	0
31,78	100 000	340 000	2 900	100	3 000	214	214	214	0	0
32,9	740 000	580 000	1 400	740	60	214	214	214	0	0
29,4	230 000	750 000	1 584	230	50	100	100	100	0	0
30,5	489 000	310 000	100	489	2 489	214	214	214	0	0
31,6	7 400	690 000	316	7 400	223	214	214	214	0	0
33,2	39 000	370 000	1 400	39 000	50	100	100	100	0	0
22	100 000	270 000	1 584	100	50	214	214	214	0	0
23	170 000	540 000	248	170	100	50	50	50	0	0
25	489 000	140 000	891	489	50	346	346	346	0	0
24	370 000	270 000	1 000	370	248	398	398	398	0	0
29	27 000	510 000	3 311	27 000	400	398	398	398	0	0
28	140 000	200 000	1 400	140	229	214	214	214	0	0
27,35	230 000	480 000	950	230	1 000	50	50	50	0	0
28,17	120 000	210 000	50	120	400	50	50	50	0	0
X	100 000	640 000	50	100	258	50	50	50	0	0
MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE
28,34	266 000	396 000	1 385	266	730	437	437	437	0	0
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <p>tons des échantil- 100 pour 8% < 50 pour 92%</p> </div> <div> <p>tons des échantil- 9 pour 20% < 5 pour 80%</p> </div> </div>										

TABLEAU 3 : Résultats des dénombrements effectués sur les filets de lieu noir de l'atelier 2.

ABVT (mg azote / 100 g de chair)	FLORE AEROBIE MESOPHILE (nombre de germes /g)		FLORE AEROBIE PSYCHROTROPHE (nombre de germes /g)		MICROCOQUES STAPHYLOCO- QUES (/g)		STAPHYLOCO- QUES PATHO- GENES (/g)		ENTERO- BACTERIES (/g)		STREPTOCOQUES FECALUX (/g)		LACTOBACILLES (/g)		GERMES AEROBIES SPORULES MESOPHILES (/g)		ANAEROBIES SULFITO REDUCTEURS (/g)	
	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE
20	100 000	190 000	489	< 50	2 900	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
25	147 000	245 000	1 470	< 50	10 000	< 50	< 50	< 50	15 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
22,3	3 400	740 000	1 470	< 50	1 000	< 50	< 50	< 50	1 645	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
20,45	7 400	740 000	2 238	< 50	1 000	< 50	< 50	< 50	580	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
19	580 000	1 470 000	1 445	< 50	1 000	< 50	< 50	< 50	1 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
19,4	790 000	1 470 000	1 470	< 50	4 500	< 50	< 50	< 50	1 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
20,65	100 000	600 000	740	< 50	1 000	< 50	< 50	< 50	4 500	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
22	77 000	175 000	1 000	< 50		< 50	< 50	< 50		< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE
21,1	225 600	620 500	1 290	< 50	4 453	< 50	< 50	< 50		< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
52	890 000	240 000	446	< 50	2 900	< 50	< 50	< 50	2 900	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
49	880 000	1 900 000	1 000	< 50	794	< 50	< 50	< 50	794	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
54	880 000	1 470 000	2 080	< 50	645	< 50	< 50	< 50	645	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
48	740 000	1 450 000	1 584	< 50	290	< 50	< 50	< 50	290	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
41,5	580 000	1 470 000	1 995	< 50	794	< 50	< 50	< 50	794	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
40,4	310 000	1 470 000	1 000	< 50	740	< 50	< 50	< 50	740	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
51	740 000	1 500 000	1 819	< 50	580	< 50	< 50	< 50	580	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
45	310 000	1 000 000	1 000	< 50	740	< 50	< 50	< 50	740	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0
MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE
47,61	666 000	1 312 500	1 365	< 50	935	< 50	< 50	< 50	935	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	0

TABLEAU 4 : Résultats des dénombrements effectués sur les filets de lieu noir de l'atelier 3.

POISSONS CRUS		15 MINUTES A 60°C		60 MINUTES A 60°C	
FLORE MESOPHILE (/g)	FLORE PSYCHROTROPHE (/g)	FLORE MESOPHILE (/g)	FLORE PSYCHROTROPHE (/g)	FLORE MESOPHILE (/g)	FLORE PSYCHROTROPHE (/g)
1 000	14 000	25	500	10	25
1 470	--	25	200	15	25
28 800	93 000	100	600	20	15
34 700	100 000	500	300	10	100
19 900	48 000	500	200	5	30
100 000	190 000	175	150	20	200
140 000	190 000	115	500	150	300
48 000	41 000	660	250	20	25
1 000	28 000	400	150	25	200
5 490	28 000	25	15	25	15
1 000	74 000	350	500	100	100
74 100	79 000	350	450	300	50
26 900	74 000	100	400	15	40
24 500	44 000	200	500	100	15
10 000	34 000	450	200	200	45
6 500	17 000	300	350	50	55
1 000	44 000	100	200	50	90
24 500	26 000	150	600	150	100
6 450	34 000	300	450	15	5
10 000	77 000	400	100	5	25
28 000	28 000	200	500	30	5
1 900	10 000	25	100	100	25
2 400	3 900	25	100	< 5	20
2 800	26 000	100	200	20	25
5 800	14 000	100	100	30	20
2 400	74 000	300	200	10	90
10 000	100 000	30	250	5	100
28 000	100 000	25	900	30	200
1 400	74 000	150	600	10	60
4 800	100 000	25	1 000	45	70
1 900	27 000	25	50	10	30
5 800	48 000	1 25	150	30	10
	58 000	1 60	800	30	60
MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE	MOYENNE
20 610	59 310	197	323	44	83,51

TABLEAU 5 : Résultats des dénombrements effectués sur la chair de lieu noir entier avant et après chauffage à 60°C.

		FILETS CRUS		15 MINUTES A 60°C		60 MINUTES A 60°C	
		FLORE MESOPHILE (/g)	FLORE PSYCHROTROPHE (/g)	FLORE MESOPHILE (/g)	FLORE PSYCHROTROPHE (/g)	FLORE MESOPHILE (/g)	FLORE PSYCHROTROPHE (/g)
ATELIER 1	1:	26 100	48 900	125	150	5	5
	2:	14 700	100 000	20	50	5	< 5
	3:	24 500	150 000	55	30	< 5	< 5
	4:	48 900	34 000	90	90	10	< 5
	5:	10 000	38 900	85	150	10	5
	6:	10 000	5 800	70	15	5	< 5
	7:	48 000	10 000	50	75	5	15
	8:	39 000	48 900	200	700	75	425
	9:	25 000	74 000	100	50	5	25
	10:	14 700	41 000	85	250	--	370
MOYENNE		26 090	55 150	88	156	13	85
ATELIER 2	1:	489 000	790 000	1 000	5 500	125	400
	2:	199 000	230 000	900	500	10	15
	3:	170 000	290 000	1 000	1 550	70	50
	4:	489 000	290 000	1 350	3 300	105	5
	5:	199 000	340 000	1 350	3 500	50	25
	6:	230 000	370 000	1 500	2 500	40	110
	7:	250 000	230 000	4 500	3 500	15	225
	8:	580 000	489 000	3 000	200	50	60
	9:	290 000	290 000	4 500	1 500	50	10
	10:	100 000	340 000	4 000	4 500	375	25
MOYENNE		298 700	365 900	2 310	2 655	89	92

TABLEAU 6 : Résultats des dénombrements effectués sur les filets de lieu noir avant et après chauffage à 60°C.

		POISSONS CRUS		10 MINUTES A 70°C		20 MINUTES A 70°C	
		FLORE MESOPHILE (/g)	FLORE PSYCHRO-TROPHE (/g)	FLORE MESOPHILE (/g)	FLORE PSYCHRO-TROPHE (/g)	FLORE MESOPHILE (/g)	FLORE PSYCHRO-TROPHE (/g)
LIEU NOIR ENTIER	1	1 000	14 000	< 5	< 5	< 5	< 5
	2	1 470	--	< 5	< 5	< 5	< 5
	3	28 800	93 000	< 5	< 5	< 5	< 5
	4	34 700	100 000	< 5	< 5	< 5	< 5
	5	19 900	48 000	< 5	< 5	< 5	< 5
MOYENNE		17 174	63 750	< 5	< 5	< 5	< 5
LIEU NOIR EN FILET	1	489 000	790 000	< 5	< 5	< 5	< 5
	2	190 000	230 000	< 5	< 5	< 5	< 5
	3	170 000	290 000	< 5	< 5	< 5	< 5
	4	489 000	340 000	< 5	< 5	< 5	< 5
	5	199 000	370 000	< 5	< 5	< 5	< 5
MOYENNE		307 400	404 000	< 5	< 5	< 5	< 5

TABLEAU 7 : Résultats des dénombrements effectués sur la chair de lieu noir entier avant et après chauffage à 70°C.

- ANNEXE 4 -

		FLORE AEROBIE MESOPHILE TOTALE (/g)	STAPHYLOCOQUES PATHOGENES (/g)	ENTEROBACTERIES (/g)	STREPTOCOQUES FÉCAUX (/g)	GERMES AEROBIES SPORULES (/g)	ANAEROBIES SULFITE REDUCTEURS (/g)
INES	1	4 600 000	< 50	2 400	9 000	--	0
	2	4 200 000	< 50	2 500	16 000	1 995	0
	3	480 000	< 50	2 000	1 000	--	0
	4	3 700 000	< 50	7 180	3 090	390	0
	5	1 000 000	100	4 000	1 995	--	0
	6	290 000	< 50	2 000	1 000	--	0
	MOYENNES	2 378 000	< 50 pour 83% des échantillons 100 pour 17% des échantillons	3 347	5 347	1 192	0
INES OISSON	1	790 000	< 50	15 800	900	7 200	4
	2	640 000	< 50	500	1 200	2 900	0
	3	446 000	< 50	2 800	--	4 800	7
	4	640 000	< 50	70	100	3 400	3
	5	2 400 000	< 50	6 200	2 400	1 200	0
	6	640 000	< 50	1 780	3 000	700	0
	7	58 000	< 50	1 000	4 800	--	0
	8	290 000	< 50	10 600	550	1 860	2
	9	340 000	< 50	105	580	1 860	2
	10	39 000	< 50	2 000	1 000	--	0
	11	240 000	< 50	18 000	9 300	795	3
MOYENNES	628 300	< 50	5 351	2 383	2 746	3,5 pour 54,5% des échantillons 0 pour 45,5% des échantillons	
INES	1	830 000	< 50	80 000	1 000	10 000	17
	2	1 200 000	< 50	40 000	1 000	2 900	0
	3	440 000	< 50	40 000	500	24 000	0
	4	520 000	< 50	440	1 400	1 400	0
	5	93 000	< 50	720	580	8 300	3
	6	150 000	< 50	6 800	6 900	100	0
	7	1 400 000	< 50	500	5 200	--	3
	8	1 800 000	< 50	10 000	5 000	825	3
	9	300 000	< 50	14 700	4 900	100	2
	10	2 000 000	< 50	200	4 750	150	0
MOYENNES	873 300	< 50	19 336	3 123	1 908	5,6 pour 50% des échantillons 0 pour 50% des échantillons	
INES NES	TOUTES CONFONUES	1 107 863	< 50 pour 96% des échantillons 100 pour 4% des échantillons	10 085	3 351	2 076	0 pour 60% des échantillons 4,45 pour 41% des échantillons

TABLEAU 8 : Résultats des dénombrements effectués sur les terrines crues.

COURBES DE TDT COMPAREES		PENTE DE DE LA DROITE - a -	ECART TYPE DE - a -	COEFFICIENT DE STUDENT - t -	DEGRE DE LIBERTE - dd1 -	RESULTATS (S: Différence signi- ficative pour le ris- que 5%) (NS: Différence non significative pour le risque 5%)
GERMES	MILIEUX					
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	TAMPON PHOSPHATE LIEU NOIR	- 0,1208 - 0,17101	0,0177 0,0077	10,55	4	S
	TAMPON PHOSPHATE TERRINE	- 0,1208 - 0,109	0,0177 0,0105	3,55	3	S
	TERRINE LIEU NOIR	- 0,109 - 0,17101	0,0105 0,0077	25	5	S
<i>Pseudomonas putida</i>	TAMPON PHOSPHATE LIEU NOIR	- 0,1999 - 0,2064	0,0227 0,0162	0,65	2	NS
	TAMPON PHOSPHATE TERRINE	- 0,1999 - 0,2042	0,0227 0,032	0,3	2	NS
	TERRINE LIEU NOIR	- 0,2042 - 0,2064	0,032 0,0162	0,01	2	NS
<i>Micrococcus varians</i>	TAMPON PHOSPHATE LIEU NOIR	- 0,2353 - 0,2463	0,015 0,0043	0,99	2	NS
	TAMPON PHOSPHATE TERRINE	- 0,2353 - 0,1894	0,015 0,017	2,84	2	NS
	TERRINE LIEU NOIR	- 0,1894 - 0,2463	0,017 0,0043	4,54	2	S
<i>Streptococcus faecium</i>	TAMPON PHOSPHATE LIEU NOIR	- 0,2099 - 0,2297	0,143 0,0266	1,96	4	NS
	TAMPON PHOSPHATE TERRINE	- 0,2099 - 0,2229	0,0143 0,028	1,19	5	NS
	TERRINE LIEU NOIR	- 0,2229 - 0,2297	0,028 0,0266	0,59	5	NS
<i>Yersinia enterocolitica</i>	TAMPON PHOSPHATE LIEU NOIR	- 0,17415 - 0,2489	0,00098 0,0071	29	2	S
	TAMPON PHOSPHATE TERRINE	- 0,17415 - 0,1969	0,00098 0,0264	2,43	2	NS
	TERRINE LIEU NOIR	- 0,1969 - 0,2489	0,0264 0,0071	5,38	2	S
<i>Staphylococcus aureus</i>	TAMPON PHOSPHATE LIEU NOIR	- 0,1144 - 0,1819	0,0294 0,0034	10,74	3	S
	TAMPON PHOSPHATE TERRINE	- 0,1144 - 0,1589	0,0294 0,0337	3,366	3	S
	TERRINE LIEU NOIR	- 0,1589 - 0,1819	0,0337 0,0034	4,33	4	S

TABLEAU 9 : Comparaison statistique des pentes des courbes de TDT par le test de Student.

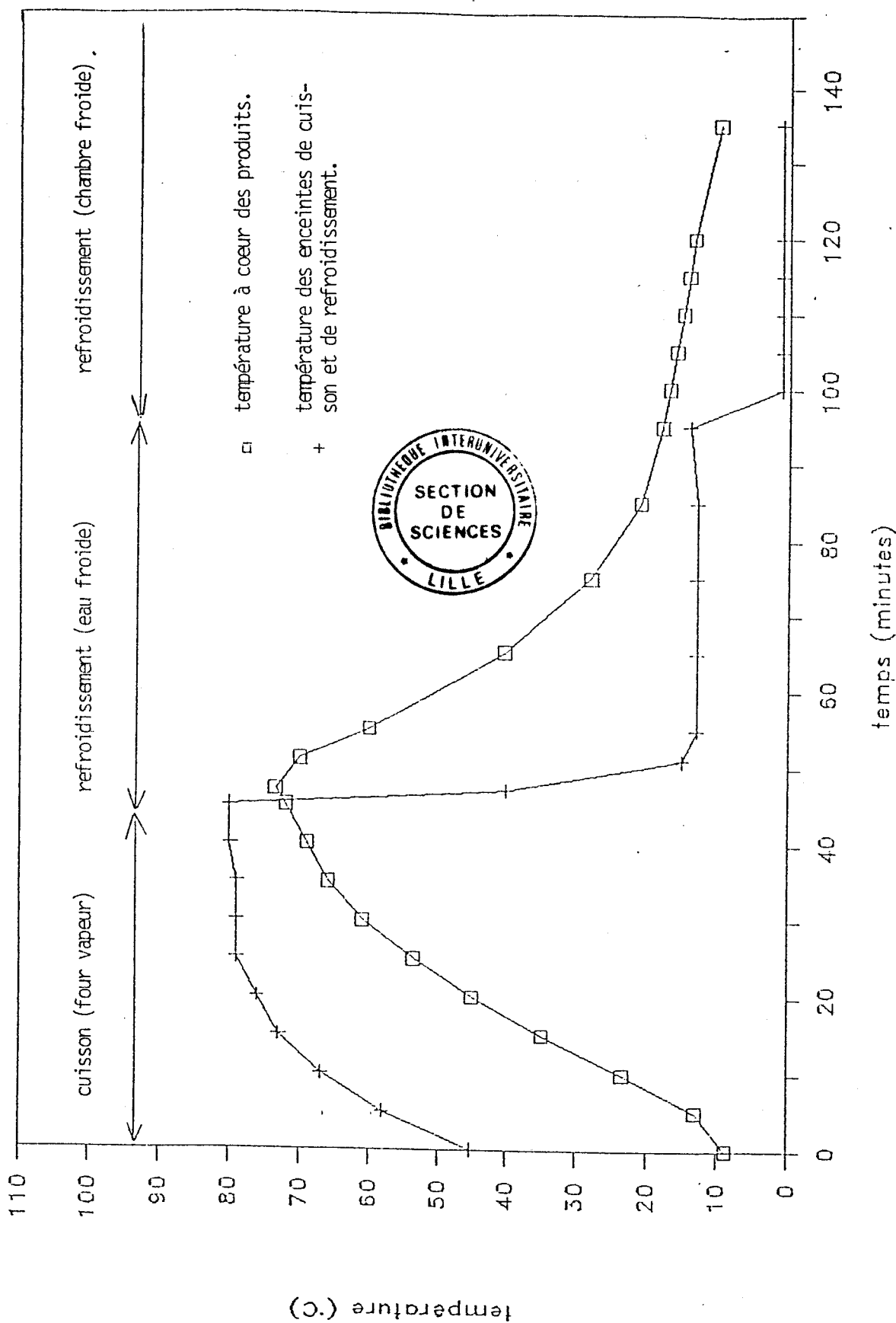


FIGURE 1 : Evolution, au cours du temps, de la température à coeur de filets de lieu noir cuits sous vide et de la température des enceintes de cuisson et de refroidissement. (Caractéristiques du traitement : température de cuisson : 80°C, temps de cuisson : 45 minutes, température à coeur en fin de cuisson : 72°C. cf. tableau 41, traitement 3.).

RESUME

L'utilisation de plats cuits sous vide à base de produits de la mer pouvant se conserver plusieurs semaines à basse température connaît un essor important. Cependant, les risques microbiologiques que présentent ces produits ne sont pas évalués. Le but de l'étude a été de déterminer les conditions optimales de cuisson et de conservation de ces produits.

Après l'étude des flores de contamination de deux produits (lieu noir et terrines de poisson), les germes les plus thermorésistants ont été sélectionnés puis identifiés. Les valeurs pasteurisatrices minimales à appliquer pour détruire les formes végétatives des bactéries en proportion suffisante ont été déterminées. L'étude a montré que le germe le plus thermorésistant était *Pseudomonas paucimobilis*. Pour détruire de façon significative ce germe, et par conséquent la quasi-totalité des germes non sporulés, il faut appliquer une valeur pasteurisatrice minimale $P_{70}^6 = 15$ minutes dans les filets de poisson et une valeur pasteurisatrice $P_{70}^9 = 30$ minutes dans les terrines.

Une série d'expérimentations a permis de vérifier que les valeurs pasteurisatrices définies précédemment assuraient la destruction des germes non sporulés dans les filets et terrines de poisson cuits sous vide. Par ailleurs, le comportement des germes thermorésistants dans ces produits a été examiné en fonction du traitement thermique et de la température de conservation. Plusieurs espèces de *Bacillus* capables de se multiplier entre 0 et +3°C ont été identifiées. Ces germes sporulés psychrotrophes se développent d'autant plus vite dans les produits, que le traitement thermique est faible et que la température de conservation est importante.

La date limite de consommation de filets de lieu noir, cabillaud et julienne cuits sous vide a été déterminée. D'après les analyses bactériologiques et sensorielles effectuées sur les produits, les durées de conservation que l'on pourrait établir en fonction de la valeur pasteurisatrice calculée avec les paramètres de référence officiels, et en tenant compte des fluctuations de température au cours de la conservation, sont les suivantes : Pour des valeurs pasteurisatrices P_{70}^{10} de l'ordre de 600, 140 et 15 minutes, les durées de conservation de filets de poisson cuits sous vide sont respectivement 21, 18 et 15 jours.

