

## LA CHAÎNE DU FROID EN AGROALIMENTAIRE

P. ROSSET, Annie BEAUFORT, Marie CORNU, G. POUMEYROL (\*)

Le recours au froid constitue une pratique courante pour assurer une conservation prolongée des aliments, de quelques jours à quelques semaines. Limitant notre propos aux denrées réfrigérées et au risque sanitaire d'origine microbiologique, après un rappel de la définition de la chaîne du froid et des modalités générales de mise en oeuvre, nous aborderons dans un premier temps les particularités technologiques de son application. Celle-ci sera étudiée tout d'abord selon le type d'aliments concernés, puis pour les étapes de production, entreposage, transport, distribution et consommation. Enfin, dans un deuxième temps, nous décrirons l'action du froid à l'égard des microorganismes présents dans les aliments et l'incidence de cette interaction sur les délais de consommation des denrées alimentaires.

### 1. ASPECTS TECHNOLOGIQUES DE LA CHAÎNE DU FROID

#### 1.1. Importance technologique de la conservation des aliments au froid

A l'égard des aliments le froid agit essentiellement en retardant l'apparition des phénomènes d'altération et en ralentissant la multiplication microbienne, notamment pour les microorganismes pathogènes. De ce fait le recours au froid permet d'allonger la durée de vie des denrées alimentaires et d'accroître la sécurité sanitaire. Cela correspond à des effets bénéfiques pour tous les acteurs, du fabricant au consommateur final, en leur permettant, entre autres, une plus grande souplesse dans la gestion des produits. Ainsi, aujourd'hui, la grande majorité des denrées alimentaires passent, avant leur consommation, par au moins une étape de réfrigération ou de congélation : pour la seule étape de la distribution, 45% des aliments consommés en France sont mis en vente sous régime du froid, soit 23 millions de tonnes pour un chiffre d'affaire d'environ 54 milliards d'Euros. (1)

Définis par Alexandre MONVOISIN (1928), les principes fondamentaux de l'application du froid à la conservation des denrées périssables sont énoncés sous le vocable de « trépied frigorifique de MONVOISIN » :

1. Application du froid sur des produits sains : La réfrigération ayant comme conséquence le ralentissement des phénomènes d'altération et de multiplication microbienne, il est essentiel que les aliments soient initialement d'excellente qualité et peu contaminés.
2. Précocité : Le froid est à appliquer aussitôt que possible après l'abattage ou la récolte, avant que les diverses altérations n'aient commencées.
3. Continuité : Chaque type de produits réfrigérés est à maintenir à une température appropriée (par exemple, une température de 4°C maximum pour les viandes, les volailles,...(2)) Toute élévation sensible de la température du produit au-dessus de cette valeur provoque une accélération de la multiplication microbienne et des phénomènes de dégradation. La température de conservation des denrées doit rester aussi constante que possible en dessous de cette limite, depuis l'abattage ou la récolte jusqu'à la consommation. On parle ainsi de « chaîne du froid », l'efficacité de celle-ci dépendant de celle du maillon le plus faible.

Toutefois, selon les types d'aliments concernés, ces principes généraux peuvent être aménagés (essentiellement pour la précocité) ou être complétés par d'autres précautions (notamment à l'égard de l'humidité relative du produit).

(\*) Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, Laboratoire d'Etudes et de Recherches pour l'Alimentation Collective, 22 Rue Pierre Curie, 94709 Maisons-Alfort, Tél. : 01.49.77.26.36.

## 1.2. Spécificités de la chaîne du froid selon les aliments

### 1.2.1. Viandes

Juste après l'abattage la viande est sèche et dure, les caractères organoleptiques (succulence, tendreté, flaveur agréable, couleur rouge vif) désirés par le consommateur n'apparaissant qu'après une phase d'une huitaine de jours, dite de maturation. Les mécanismes qui y participent sont essentiellement biochimiques et enzymatiques. Le froid permet cette maturation tout en retardant les phénomènes de multiplication microbienne, responsables, entres autres, de la putréfaction des viandes. En effet, pour un même abaissement de température, les réactions de maturation sont moins freinées que les phénomènes d'altérations microbiennes. Ainsi, pour une température de 20°C, la putréfaction apparaît, en moins de 24 heures, avant la maturation. Par contre, à 0°C, la phase de maturation est de 10 jours, tandis que les premiers signes d'altération ne se manifestent qu'au bout de 12 à 16 jours (3). La conservation de la viande au froid est donc une nécessité.

Mais, pour les carcasses bovines et ovines, le refroidissement doit être modéré. En effet un abaissement trop rapide provoquerait l'apparition d'une dureté irréversible au cours de leur maturation. Ce phénomène est appelé « cryochoc » ou « cold shortening. Il résulte de l'inhibition par le froid de l'enzyme responsable de la production de l'énergie nécessaire à l'activité musculaire. Il peut être évité en appliquant une vitesse de refroidissement peu élevée (température à cœur de 12°C atteinte en moins de 12 h.) ou en soumettant les carcasses à des stimulations électriques. (3)

Entres autres qualités, la tendreté de la viande proposée au consommateur est ainsi étroitement liée à une application raisonnée et stricte de la réfrigération.

### 1.2.2. Poissons

Le poisson est un produit dont la qualité se dégrade très rapidement du fait, principalement, de réactions protéolytiques dues à des enzymes digestives, tissulaires et microbiennes. Sa conservation au froid permet de ralentir cette activité. La température doit être aussi proche que possible de 0°C depuis la capture jusqu'à la remise au consommateur.

Le processus d'altération débutant dès la mort de l'animal, l'application du froid doit donc être particulièrement précoce. Pour les poissons d'élevage ceci ne pose guère de problèmes du fait de la mise en œuvre immédiate des procédés de réfrigération. Par contre, pour les autres types de pêche, notamment en mer, des difficultés sont rencontrées. Des moyens efficaces de refroidissement et de conservation sont à mettre en œuvre sur les bateaux de pêche. L'utilisation de glace seule peut s'avérer insuffisamment performante. Le recours à des mélanges liquide/glace est plus efficace mais plus délicat à maîtriser.

Par ailleurs le transport et la présentation à la vente des poissons entiers est à faire, selon la réglementation, au moyen de glace fondante.

Enfin le froid constitue un auxiliaire technologique indispensable pour certains process. Par exemple il peut intervenir pour favoriser la mise en œuvre de certains procédés de texturation de chair de poisson (surimi, surfine de mer,...). (4)

### 1.2.3. Fruits et légumes

Le froid a pour conséquence essentielle d'allonger la durée de vie des fruits et légumes en retardant leur altération. En effet il inhibe les réactions enzymatiques, notamment celles qui sont à l'origine de la biosynthèse de l'éthylène par les fruits et légumes. Ce gaz est responsable de leur sénescence et de leur mûrissement.

Cependant la température de conservation doit être appropriée car en dessous d'une certaine valeur les fruits et légumes développent des altérations particulières regroupées sous le vocable de « maladie physiologique du froid » (ou « chilling injury »). Le mécanisme exact de cette pathologie reste à ce jour inconnu. Le facteur déclenchant responsable est une conservation réalisée en dessous d'une certaine température et pendant un certain délai, spécifiques de l'espèce et de la variété de fruits ou légumes concernés (ex. : piment 5°C 3 j ; patate douce +7°C 2 semaines) (5). Les symptômes (d'aspect proche de ceux causés par le gel) se manifestent tardivement, après arrêt de l'application du froid.

Par ailleurs la perte en eau des fruits et légumes est un élément à surveiller particulièrement. En effet au delà de 4 à 6% de perte de leur poids initial, des altérations de la qualité se produisent, caractérisées essentiellement par un flétrissement irréversible. Le refroidissement, principale étape où cours de laquelle les pertes d'eau ont lieu, est à maîtriser. Les techniques d'emballage (sous-vide) et de réfrigération (humidification de l'air) permettent de pallier ce phénomène.

### 1.2.4. Lait et produits laitiers

La durée de conservation du lait et des produits laitiers dépend essentiellement de la qualité microbiologique initiale du lait, avant son traitement thermique et/ou son éventuelle transformation. De ce fait une réglementation a été mise en place spécialement sur ce point. D'une part elle préconise des mesures d'hygiène (nettoyage-désinfection des matériels, vérification de l'absence de mammite,...) à adopter lors de la traite afin de limiter les contaminations. D'autre part elle rend obligatoire l'application précoce au froid pour lutter contre la multiplication des microorganismes. Aussi les éleveurs sont-ils amenés à assurer, à la ferme, le refroidissement du lait en ayant recours à des équipements spécifiques. La marque « NF Refroidisseurs de lait » leur garantit que ces matériels possèdent bien des performances satisfaisantes. Le lait peut être ainsi stocké à la ferme quelques heures à quelques jours avant d'être transporté par camion frigorifique vers les usines de transformation et/ou de conditionnement.

## 1.3. Organisation technologique de la chaîne du froid

### 1.3.1. Entreposage

Après leur préparation, les denrées alimentaires sont expédiées vers des entrepôts frigorifiques où elles sont réassemblées et dirigées vers leur destination finale. La capacité en entreposage frigorifique industriel est très importante en France où elle est de 350 litres/habitant, alors qu'aux Etats-Unis elle est de l'ordre de 190 litres/habitant. Ce volume se répartit approximativement entre 1/3 de locaux à température négative et 2/3 de chambres froides réfrigérées (6).

Dans ce secteur, l'évolution la plus significative de ces dernières années est l'émergence d'unités de volume important spécialisées dans ce domaine. Celles-ci disposent d'un arsenal d'outils pour limiter les variations de températures : ouvertures temporisées, doubles portes à lanières plastiques, quais réfrigérés, boudins gonflables assurant une meilleure étanchéité thermique au niveau de la liaison quai-camion... De plus le recours généralisé à la gestion centralisée (ou télégestion) des systèmes d'alarme

permet une meilleure maîtrise des températures, ce mode de surveillance permettant en effet de réagir rapidement en cas de dysfonctionnement de l'installation frigorifique.

Le respect de différents niveaux de température, surtout pour les fruits et légumes, constitue la principale difficulté encore à résoudre. Pour y parvenir des entrepôts spécialisés se développent. Les autres progrès à réaliser résident essentiellement dans les gains d'espace et de volume.

### 1.3.2. Transport

Le transport des denrées alimentaires vers les points de distribution est réalisé en France principalement par voie routière, le parc de camions y étant important avec approximativement 73.000 engins, dont environ 90% de type « frigorifique » (7).

L'évolution la plus marquante dans ce domaine est la recherche de la polyvalence et de la flexibilité. Ainsi plus de la majorité des véhicules frigorifiques peuvent maintenant assurer un maintien en température compris entre  $-20^{\circ}\text{C}$  et  $+12^{\circ}\text{C}$ , leur permettant de transporter à la demande soit des denrées réfrigérées soit des denrées surgelées ou des crèmes glacées. Les véhicules à plusieurs compartiments et à plusieurs températures représentent aujourd'hui 30% des ventes de véhicules frigorifiques (7). Ces véhicules permettent, en déplaçant la cloison mobile intérieure, un chargement adapté aux volumes à transporter. Enfin, pour le transport des fruits et légumes, certains camions ont été équipés de façon à assurer dans leur enceinte intérieure le maintien d'une humidité élevée.

Mais malgré ces progrès techniques il reste essentiel de respecter les bonnes pratiques professionnelles. Ainsi au cours du chargement la répartition des palettes dans le camion doit permettre une circulation de l'air froid suffisante et homogène. Il faut également veiller, pendant les arrêts de livraison, à limiter les temps d'ouvertures de portes.

### 1.3.3. Distribution

Ces dernières décennies la distribution s'est principalement développée au bénéfice des grandes surfaces de vente (augmentation de 51% du nombre d'hypermarchés et de supermarchés de 1982 à 1992) (7). Si l'on met bout à bout les meubles frigorifiques de vente, la longueur totale serait pour la France de 3.200 km, dont 2.000 km pour les seuls appareils réfrigérés (6).

L'exposition des denrées alimentaires à la vente constitue un maillon fragile dans la chaîne du froid. Les meubles fermés (nécessité d'ouvrir une porte ou un couvercle pour se servir) sont à ce jour moins utilisés et restent plutôt réservés à la vente des produits à température négative. Les meubles ouverts (accès direct aux produits) sont pratiquement les seuls appareils utilisés pour les denrées réfrigérées. Toutefois ces derniers présentent des difficultés techniques considérables pour maintenir les aliments aux températures souhaitées, et actuellement seuls les matériels les plus performants y arrivent. En effet, exposées vers l'extérieur, les denrées ont tendance à être réchauffées par l'air et le rayonnement thermique du magasin.

Quelles que soient les performances des meubles, de bonnes pratiques d'utilisation sont à respecter : nécessité d'introduire dans le meuble des denrées à température aussi basse que possible (les appareils n'étant pas conçus pour abaisser leur température), respect des limites maximales de chargement afin de ne pas perturber les flux d'air froid.

En pratique, si les températures des aliments sont satisfaisantes dans certains appareils, il n'est pas rare de rencontrer encore des meubles frigorifique de vente présentant, au niveau des denrées, des températures comprises entre +6 et +8°C.

#### 1.3.4. Consommation domestique

Ce maillon est celui qui, à la fois, est le plus faible de la chaîne du froid, et qui concerne le maximum de personnes, 99% des foyers disposant d'au moins un appareil frigorifique ménager (6). Selon une enquête récente (Enquête INCA (8)), cette fragilité dépend de plusieurs éléments :

- Retard à la mise en réfrigération des produits. Le délai, trop souvent important, entre leur achat et leur rangement dans le réfrigérateur ménager constitue une véritable rupture de la chaîne du froid.
- Méconnaissance de la température intérieure du réfrigérateur et réglage défectueux du thermostat de régulation. Non seulement la plupart des consommateurs (60%) ignorent la température idéale souhaitée pour la conservation des denrées dans leur réfrigérateur, mais en pratique l'appareil ne leur permet que rarement d'avoir connaissance de la température réelle. Les indications fournies par le thermostat sont souvent arbitraires et sans rapport avec les températures délivrées, d'où des réglages trop souvent défectueux. Ainsi, toujours selon l'enquête INCA (8), seuls 11% des appareils présentent une température moyenne conforme, inférieure ou égale à +4°C. Pour 52% des ménages la valeur relevée dépasse +6°C, et dans 18% des cas elle est supérieure ou égale à +10°C.
- Non respect des dates limites de consommation. Les indications apportées par l'étiquetage (DLC, DLUO) sont à respecter, les premiers produits entreposés dans l'appareil sont à consommer en priorité (first in/first out).

Par ailleurs, l'Académie Nationale de Médecine a repris ces éléments dans des recommandations (9) relatives à la conception et à l'utilisation des réfrigérateurs ménagers afin d'inciter fabricants d'appareils et consommateurs à d'avantage de vigilance.

#### 1.3.5. Restauration Hors Foyer (RHF)

La restauration hors foyer (RHF) s'est beaucoup développé ces dernières décennies, principalement en raison d'une part de l'augmentation du nombre de personnes prenant, du fait de leur travail, leur repas hors du domicile, d'autre part du développement des loisirs et du tourisme. Ainsi le nombre de repas servis par an en RHF est estimé à environ 5,8 milliards pour un chiffre d'affaire supérieur à 43 milliards d'Euros (TTC) (10).

Un grand nombre de repas (de quelques centaines à plusieurs milliers par jour) devant être fabriqué et distribué dans de courts délais, un mode d'organisation spécifique a été mis en place par les professionnels pour y parvenir. En particulier des cuisines centrales sont utilisées en restauration collective, principalement scolaire et hospitalière. Il s'agit de cuisines dans lesquelles de grandes quantités de repas sont élaborées, ceux-ci étant ensuite transportés vers plusieurs cuisines satellites où ils sont servis aux consommateurs. Les cuisines centrales fonctionnent soit en liaison chaude – les denrées alimentaires sont maintenues chaudes après cuisson jusqu'à leur consommation finale – soit en liaison froide – les aliments sont refroidis rapidement après cuisson, stockées et transportées au froid, puis remise en température au moment de leur consommation. La quasi totalité des grosses cuisines centrales ( $\geq 5000$  repas/jour) utilisent à présent à la liaison froide.

En liaison froide il est apparu nécessaire de recourir à des appareils spécifiques, dits cellules de refroidissement rapide, pour en assurer le refroidissement dans les délais suffisamment courts pour empêcher toute augmentation sensible du nombre de microorganismes.

## 2. ASPECTS MICROBIOLOGIQUES DE LA CHAÎNE DU FROID

### 2.1. Comportement des microorganismes dans les aliments

L'enjeu essentiel de la conservation des aliments par le froid est, comme cela a été présenté plus haut, son impact sur le comportement microbien et, en particulier, le ralentissement de la multiplication des microorganismes d'altération et pathogènes.

La température est en effet un facteur important du comportement des microorganismes. Ainsi, l'exposition à une température basse entraîne un ralentissement de la multiplication microbienne jusqu'à une température, dite minimale, en dessous de laquelle le microorganisme ne peut plus se multiplier. Cet effet du froid peut en grande partie s'expliquer par un ralentissement de l'activité métabolique, qui est contrôlée par des systèmes enzymatiques dépendants de la température. Le froid entraîne également des modifications de la biochimie microbienne (par exemple modification des acides gras). Toutes les espèces microbiennes subissent cet effet de la température sur leur comportement mais elles y sont plus ou moins sensibles. En particulier, les températures minimales varient selon les espèces. Il en est de même pour la température optimum (autorisant la croissance la plus rapide).

Parmi les microorganismes adaptés aux températures de réfrigération, on peut distinguer les psychrophiles et les psychrotrophes. Les microorganismes psychrophiles se développent à 0°C et ont un optimum vers 15°C et leur température maximum de croissance n'excède pas 20°C. Les microorganismes psychrotrophes sont capables de se multiplier aux températures proches de 0°C; leur optimum de développement se situe vers 25 à 30°C et leur maximum vers 35°C. En revanche, les mésophiles se multiplient entre 20 et 45°C avec un optimum moyen à 37°C.

Les microorganismes psychrotrophes sont dominants dans toutes les denrées réfrigérées car sélectionnés par les basses températures; ils sont peu compétitifs avec la flore mésophile lorsque la température augmente.

Le comportement microbien est également affecté par la composition de l'aliment (composition générale, pH, activité de l'eau, potentiel d'oxydoréduction, présence de substances inhibitrices...) et par d'autres paramètres faisant partie de l'environnement du produit (humidité, teneur en gaz composant les atmosphères de conservation ...).

De plus, le développement d'un microorganisme peut avoir une activité synergique ou antagoniste sur le développement d'autres microorganismes. Lorsqu'il y a synergie, des variations au sein de l'aliment (production d'ingrédients, variation des caractéristiques physico-chimiques) résultant de la croissance de microorganismes permettent le développement d'autres microorganismes. En cas d'antagonisme, des changements physico-chimiques ou la formation de substances antimicrobiennes issues du développement de microorganismes peuvent avoir des effets négatifs sur la croissance d'autres microorganismes. Il peut également y avoir une compétition pour des ingrédients.

Enfin, le processus de fabrication est un facteur pouvant sélectionner certaines flores en agissant soit sur les microorganismes eux-mêmes, soit sur des changements des caractéristiques physico-chimiques de l'aliment.

### 2.2. Microorganismes d'altération

L'altération des aliments peut avoir 2 origines : microbiologique, biochimique. L'altération microbiologique concerne le goût ou l'apparence du produit (texture, couleur, apparence visqueuse, présence de gaz), alors que celle d'origine biochimique a un impact sur le goût et la texture.

L'altération microbiologique est plus rapide et plus manifeste dans les aliments à base de protéines tels que les viandes, les volailles, les poissons, les fruits de mer et les produits laitiers. Ces denrées sont riches en nutriments et présentent un pH neutre ou faiblement acide et un taux d'humidité élevé permettant le développement d'une large gamme de microorganismes. La réfrigération n'empêche pas mais freine seulement le développement des microorganismes d'altération psychrotrophes.

Les germes d'altération se subdivisent comme suit (11), selon qu'ils appartiennent aux groupes des bacilles Gram négatifs ou positifs (c'est à dire selon les résultats obtenus après réalisation d'une réaction de coloration mise au point par Gram), des bacilles lactiques, des levures ou des moisissures.

### **Bacilles Gram négatifs**

*Pseudomonas* est un microorganisme se développant tout particulièrement dans les aliments, à activité de l'eau ( $A_w$ ) élevée, conservés sous aérobose, comme les viandes rouges, les poissons, les volailles et les produits laitiers. D'autres bacilles Gram - peuvent également se développer rapidement aux températures de réfrigération : *Aeromonas*, *Photobacterium*, *Vibrio*... Ces bactéries peuvent contribuer à l'altération des viandes rouges, des viandes salées ou fumées, des volailles, des poissons, des fruits de mer, du lait et des produits laitiers. Les bactéries du genre *Vibrio* sont pour la plupart halophiles et se développent dans les fruits de mer et les viandes salées ou séchées.

A des températures supérieures à +5/+10°C, les *Enterobacteriaceae* (*Enterobacter*, *Erwinia*, *Proteus*...) peuvent se développer de manière prédominante.

### **Bacilles Gram positifs**

Beaucoup d'aliments sont soumis à un chauffage ou à une pasteurisation. Les microorganismes sporulés, tels que *Bacillus* et *Clostridium*, peuvent survivre à ces traitements thermiques. Leur croissance est plus lente que celle des bactéries Gram -.

Les germes du genre *Bacillus* se développent généralement en aérobose, et, pour certains, à des températures de 0/+2°C. Ceux du genre *Clostridium* sont, en majorité, anaérobies et se multiplient à partir de 15°C.

### **Bactéries lactiques**

*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* sont toutes des bactéries lactiques et elles constituent des germes majeurs d'altération des viandes cuites sous vide. Elles constituent aussi des germes d'altération des produits à base de viande, salés ou fumés. Elles se développent lentement aux températures de réfrigération.

### **Autres bactéries Gram positifs**

*Brochohrix thermosphacta* est un bacille Gram + qui peut occasionnellement être présent sur la viande fraîche. L'utilisation de l'atmosphère modifiée ou du conditionnement sous vide favorisent son développement. Par ailleurs, *Micrococcus* est capable de croître dans des produits à teneur en sel relativement élevée et peut ainsi être responsable de l'altération de certaines denrées type bacon.

### **Levures et moisissures**

Les levures et les moisissures sont largement présentes dans les denrées alimentaires. Ceci s'explique par le fait qu'elles peuvent y utiliser une large variété de substrats tels que les pectines et d'autres hydrates de carbone, les acides organiques, les protéines et les lipides. De plus, elles tolèrent des valeurs basses de pH, d' $A_w$ , de température, ainsi que la présence de conservateurs. Elles peuvent

même utiliser des ingrédients comme des acides lactiques, citriques et acétiques qui ont un effet inhibiteur sur la croissance de nombreux microorganismes.

Les altérations résultant de leur croissance sont de nature sensorielle : couche visqueuse, développement de zones colorées à la surface des denrées, production d'acides, de gaz, d'alcool, développement d'odeurs ou de goûts anormaux.

### **2.3. Microorganismes pathogènes**

Les toxi-infections et les maladies alimentaires sont caractérisées par l'apparition de symptômes digestifs ou autres suite à la consommation d'aliments.

Pour les principales bactéries responsables de toxi-infections et de maladies alimentaires (en cas de non respect de la chaîne du froid), la température minimale de développement, la dose infectieuse estimée, les caractéristiques des toxines, le temps d'incubation et les symptômes ont été bien décrits dans divers ouvrages (12) (13) (14); ils apparaissent dans le tableau I.

#### **Intoxications par les amines biogènes**

La formation d'amines dans les aliments est due à la décarboxylation des acides aminés. Certaines bactéries sont productrices d'amines biogènes : ce sont des molécules biologiquement actives sur le système nerveux central et sur le système vasculaire (15).

Des intoxications histaminiques dues à la consommation de poissons (thon rouge, maquereau, sardines, anchois...) sont les plus connues. Mais la formation d'histamine peut aussi avoir lieu dans d'autres aliments : viandes ayant subis une fermentation, fromages. La période d'incubation varie, généralement, entre quelques minutes à quelques heures. Les symptômes sont liés à l'effet vasodilatateur de l'histamine : rougeur facio-cervicale, œdème, urticaire, inflammation locale, céphalées, palpitations cardiaques et, de façon non systématique, nausées et vomissements.

Parmi les espèces productrices d'histamine, on peut citer : *Proteus morgani*, *Enterobacter aerogenes*, *Hafnia alvei*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*... La température optimale de production d'amines est, pour la plupart des bactéries, comprise entre 20°C et 37°C mais peut encore avoir lieu, dans certains cas, à 0°C et 5°C.

#### **Autres bactéries susceptibles de causer des troubles gastro-intestinaux**

D'autres bactéries transmises par les aliments et ayant la capacité de se développer à des températures de réfrigération peuvent causer des troubles digestifs, mais sont beaucoup plus rares. Parmi elles, on peut citer les bactéries appartenant aux familles suivantes : Bacillaceae (*B. pumilus*, *B. subtilis*), Enterobacteriaceae (*Shigella*, *Hafnia*, *Serratia* ...), Pseudomonaceae (*Pseudomonas aeruginosa*, *P. cocovenans*).

### **2.4. Froid et durée de vie des aliments**

Pour la plupart des microorganismes d'altération ou pathogènes présentés ci-dessus, l'effet est fonction du nombre de germes atteint au moment de la consommation. Or cette quantité dépend d'une part du nombre de germes présents dans la matière première et/ou éventuellement apportés par recontamination de la denrée, d'autre part, éventuellement, de l'importance de la mortalité microbienne (par exemple par cuisson de la denrée), de la multiplication au cours de la chaîne du froid. Cette

multiplication dépend elle-même de la nature de la denrée, de son environnement et en particulier du couple temps-température : durées et températures de conservation de la denrée.

Parmi l'ensemble de ces facteurs, les acteurs de la chaîne du froid ne peuvent en général agir que sur le couple temps-température.

Pour connaître le comportement des denrées au cours de leur durée de vie, la méthode la plus classique est le test de vieillissement, étude de l'évolution dans un aliment de populations de microorganismes constitutifs de la flore habituelle de la denrée. Typiquement, 5 échantillons de chaque lot sont conservés sous un régime de réfrigération reproduisant les conditions de conservation prévisibles (par exemple 2 semaines à 4°C puis 1 semaine à 8°C, pour un produit ayant une durée de vie de 3 semaines). A l'issue de cette conservation, différents tests microbiologiques sont effectués et il est vérifié que les différents microorganismes susceptibles d'être présents ne dépassent pas le seuil réglementaire. Cette vérification ne permet pas de distinguer si le non-dépassement du seuil est lié à l'absence initiale du microorganisme recherché ou à sa présence sans croissance (voire avec mortalité). Les tests de vieillissement constituent néanmoins une garantie suffisante pour des produits traditionnels, dans les conditions habituelles de mise en marché, pour lesquelles le recul de l'expérience est suffisant pour assurer salubrité et sécurité.

En revanche, le test de croissance, parfois dénommé test d'épreuve en référence à l'expression anglo-saxonne *challenge test*, est une expérimentation réalisée sur des denrées inoculées artificiellement avec une culture connue de microorganismes. Il permet donc de quantifier la croissance microbienne *sensu stricto*. Le test de croissance est prioritairement utilisé pour le développement de produits nouveaux. Il peut aussi être mis en œuvre pour apprécier de nouveaux objectifs technologiques, par exemple un prolongement de durée de vie. La mise en œuvre d'un test de croissance est lourde, fastidieuse et coûteuse et, de ce fait, n'est pas envisageable pour le contrôle de l'ensemble des conditions prévisibles (tous les profils thermiques plausibles, toutes les formulations envisageables...).

Les microbiologistes ont donc cherché à développer des modèles mathématiques permettant de simuler et de prévoir le comportement des flores d'altération et pathogènes dans les denrées en fonction de ces différentes conditions.

Ces modèles décrivent l'influence des conditions (et en particulier de la physico-chimie du produit, de la température) sur le comportement microbien au cours du temps. Leur développement remonte au début des années 1980, et depuis une dizaine d'années certains de ces modèles ont été intégrés dans des logiciels conviviaux. Ce sont en particulier le logiciel anglais Food MicroModel, et le logiciel américain Pathogen Modelling Program, distribué gratuitement sur Internet.

Les principales limites de ces logiciels résident dans leur côté « sécuritaire ». En effet, ils prédisent souvent une croissance plus rapide qu'elle n'est en réellement dans l'aliment. Cette différence entre prévision et réalité pourrait être tolérable dans la mesure où, en sous-estimant la durée de vie du produit, elle serait sans danger pour le consommateur. Toutefois, cette sous-estimation a pour conséquence une durée de stockage théorique très limitée, et donc peu réaliste.

Les conditions expérimentales explorées pour la détermination des modèles mathématiques de ces logiciels sont en général assez éloignées des conditions rencontrées dans l'aliment. Actuellement, de nombreux développements sont en cours et, d'ici quelques années, sont attendu des logiciels fonctionnant avec des modèles plus réalistes, réellement validés par des tests de croissance dans l'aliment.

Ces modèles permettent donc d'évaluer *a priori* l'évolution microbiologique probable d'un produit, dans des conditions prévisibles de son cycle de vie. Quoique cette modélisation mathématique se heurte

encore aux complexités de la physiologie microbienne et, pour certains aspects, des écosystèmes alimentaires, son utilisation est/serait/sera un atout majeur pour la détermination de l'impact microbiologique d'une évolution thermique (couple temps-température) et donc pour l'étude de la chaîne du froid.

Par ailleurs il existe des outils permettant de connaître *a posteriori* les fluctuations de température d'une denrée et leur impact microbiologique. Ce témoin, appelé indicateur ou intégrateur temps-température (ITT), peut être apposé sur chaque palette ou même sur chaque denrée, sous la forme, par exemple, d'une simple étiquette (16). Les ITT actuels fournissent essentiellement des informations qualitatives sur l'évolution thermique telles que la détection d'une rupture de la chaîne du froid. Un développement intéressant des ITT est la possibilité de corréler la mesure thermique à l'état d'altération du produit, méthodologie développée depuis les années 1980 mais qui reste peu applicable en pratique.

### **3. CONCLUSION**

Le marché des produits réfrigérés s'est développé de manière spectaculaire ces dernières décennies. La conservation au froid s'est largement répandue pour les produits bruts, mais a aussi permis l'essor d'une nouvelle génération d'aliments : les denrées prêtes à l'emploi.

Cette évolution est liée à d'importantes mutations technologiques. D'une part des investissements considérables ont été réalisés, aux différentes étapes de la production et de la distribution, pour assurer une chaîne du froid performante. D'autre part de nouveaux procédés de fabrication et de conditionnement permettent aujourd'hui d'obtenir des produits prêts à l'emploi se conservant au froid pendant plusieurs semaines : des DLC de 4 semaines peuvent être facilement obtenues.

La généralisation de l'utilisation du froid a cependant engendré de nouveaux problèmes. Certains germes pathogènes bien adaptés aux conditions de conservation des aliments réfrigérés sont maintenant rencontrés de plus en plus fréquemment. Face à cette situation, les industries agroalimentaires sont sensibilisées à la nécessité de raccourcir la DLC de certains aliments afin de limiter les possibilités de multiplication de ces microorganismes. Les travaux de recherche relatifs aux conditions de développement des bactéries et à la mise au point de modules mathématiques prévisionnels devraient permettre de fixer ces DLC avec une plus grande rigueur scientifique.

De plus il est important pour empêcher ou limiter autant que possible la multiplication des bactéries psychrotrophes pathogènes d'avoir une chaîne du froid encore plus rigoureuse à toutes les étapes de la vie des produits, et en particulier aux maillons les plus faibles. Les remontées de température les plus élevées étant observées au stade de la conservation par les ménages, une sensibilisation de ces derniers s'avère indispensable.

## RESUME :

Le froid, et plus particulièrement la réfrigération, constitue l'un des moyens pour limiter la croissance bactérienne dans les denrées alimentaires et ainsi prolonger leur délai de consommation. Pour être pleinement efficace, le froid est à appliquer, à températures convenables (le plus possible voisine de 0°C), de manière précoce et continue sur l'aliment, depuis sa production jusqu'à sa consommation finale. Cette nécessité de continuité détermine le concept, maintenant classique, de chaîne du froid, la résistance de l'ensemble du process étant déterminée par celle de l'étape – ou maillon – la plus fragile. L'examen des problèmes spécifiques à chaque étape de la chaîne du froid montre que le respect de la chaîne du froid dépend essentiellement du renforcement des deux derniers maillons : distribution, et surtout consommation familiale.

A l'égard des microorganismes, la réfrigération agit en ralentissant leur multiplication, sans la stopper pour autant. Mais, si le recours au froid a permis d'accroître la sécurité alimentaire à l'égard des grands germes pathogènes ou d'altération, la vigilance doit être maintenue. En effet la généralisation de l'utilisation du froid a permis l'émergence de « nouveaux » germes, les psychrotrophes et les psychrophiles. Ces microorganismes sont, si le temps le leur permet, capables de se multiplier à des températures proches de 0°C et d'avoir ainsi une incidence néfaste sur la santé du consommateur. Les outils mathématiques, comme les logiciels de modélisation, restent à perfectionner pour définir des délais de consommation en relation avec les conditions réelles de développements de bactéries dans l'aliment.

Toutefois l'émergence de ces problèmes ne doit en aucun cas récuser le recours au froid en agroalimentaire dont l'utilité tant technologique que sanitaire est vérifiée chaque jour.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- (1) Commere B. – Sécurité alimentaire et normes. Problématique de la chaîne du froid. *Rev. Gén. Froid*, 1998, 988, 23-27
- (2) Anonyme - Arrêté du 9 mai 1995 réglementant l'hygiène des aliments remis directement au consommateur. *Journ. Off.*, 16 mai 1995, 8219-8223
- (3) Rosset R. - Conservation de la viande : Recours impératif au froid. Problèmes posés et solutions. *Rev. Gén. Froid*, 1995, 85, 18-23
- (4) Vallet J.L. - Le froid « clé de voûte » de l'industrie de transformation du poisson. *Rev. Gén. Froid*, 1997, 978, 15-19
- (5) Willemot C. - Incidence physiologique de la conservation au froid. In : « Technologie des légumes » (Tirilly Y., Bourgeois C.M.), *Tec Doc Lavoisier*, 2001, 283-296
- (6) Gac A. - Les perspectives de développement de la logistique frigorifique. *Comptes rendus Acad Agricolt France*, 2000, 86 5, 137-154
- (7) Billard F. - La logistique du froid dans le commerce de détail. *Rev. Gén. Froid*, 1996, 967, 38-44
- (8) CREDOC, AFSSA, Ministère de l'Agriculture et de la Pêche - « Enquête Individuelle et Nationale sur les Consommations Alimentaires ». *Tec Doc Lavoisier*, 2000

- (9) Rosset R. - Croissance microbienne et Froid. *Bull. Acad. Nat. Med.*, 2001, 185, 2, 287-299
- (10) Anonyme. Rapport GIRA-SIC, 2001
- (11) Huis in't Veld J.H.J. - Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, 33, 1-18.
- (12) Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J. - "Microbiologie alimentaire, Tome 1" *Tec Doc Lavoisier*, 1996.
- (13) Kraft A.A. - "Psychrotrophic Bacteria in Foods: Disease and Spoilage" *CRC Press*, 1992.
- (14) Gélinas P. - "Répertoire des microorganismes pathogènes transmis par les aliments" *Edisem*, 1995.
- (15) Raguene N. - Les amines biogènes. In : "Microbiologie alimentaire, Tome 1" (Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J.) *Tec Doc Lavoisier*, 1996.
- (16) Lebert I., Lebert A. - "Microbiologie prédictive : théorie et applications industrielles". *Microbiol. Aliment. Nutri.*, 1997, 15, pp. 157-172.

**Tableau 1 :**  
Principaux microorganismes responsables de toxi-infections et de maladies alimentaires  
en cas de non respect de la chaîne du froid

Microorganisme	Température minimale de développement	Synthèse de toxines	Temps d'incubation	Symptômes
<i>Salmonella</i>	5°C		12 - 36 h	vomissements, diarrhée, fièvre, douleurs abdominales
<i>Staphylococcus aureus</i>	5°C - 12°C	entérotoxines staphylocciques préformées dans l'aliment	1 - 8 h	vomissements violents, douleurs abdominales parfois accompagnés de diarrhées et céphalées, absence de fièvre
<i>Clostridium perfringens</i>	14°C	entérotoxine : libérée dans l'intestin lors de la sporulation des formes végétatives	8 - 12 h	diarrhée, déshydratation, douleurs abdominales, absence de fièvre
<i>Bacillus cereus</i>	5°C	toxine diarrhéique libérée dans l'intestin	8 - 12 h	diarrhée et douleurs abdominales, absence de fièvre
		toxine émétisante, préformée dans l'aliment	1 - 5 h	vomissements, nausée, occasionnellement diarrhée et douleurs abdominales, absence de fièvre
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1°C	toxine préformée dans l'aliment (et invasion des cellules intestinales)	2 - 7 j	diarrhée pouvant être accompagnée d'autres symptômes inconstants : douleurs abdominales, vomissements, hyperthermie (complications : pseudo-appendicite, lupus érythémateux)
<i>E.coli</i> O157:H7	5 - 12°C	Vérotoxines (= shiga-like toxine)		colites hémorragiques, syndromes hémolytiques urémiques et purpura thrombocytopéniques
<i>Listeria monocytogenes</i>	1°C		3 – 70 jours	bactériémie associée ou non à une infection du système nerveux central (méningite, méningo-encéphalite)
<i>Clostridium botulinum</i>	3°C	neurotoxine botulique préformée dans l'aliment (ou, plus rarement, produite dans l'intestin)	12 - 36 h	troubles oculaires, bucco-pharyngés. Dans les cas graves : mort du malade due à une paralysie respiratoire ou une fausse déglutition