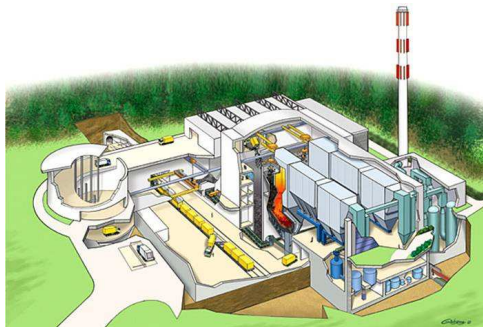


Travaux dirigés n°1 : Etude de cas

L'ENTREPRISE "FLORINETTE" et ses légumes

L'entreprise Florinette transforme des légumes crus en :

- ◆ Légumes surgelés
- ◆ Légumes cuits sous vide
- ◆ Salades en sachet



Elle souhaite mettre sur le marché des légumes crus pour l'apéritif et voudrait déterminer une DLC microbiologique pour ce genre de produits frais.

Objectifs de travail des étudiants:

- 1- Trouver les grandes étapes de la transformation ayant un rôle sur la conservation du produit fini.
- 2 - Analyser chacune de ces étapes vis-à-vis de son efficacité sur les microorganismes.
- 3 – Trouver la réglementation Européenne sur l'hygiène des denrées alimentaires à laquelle est soumis ce genre de produit.
- 4 – Classer ces produits suivant la classification de l'AFSSA
- 5 –Déterminer les critères réglementaires à appliquer.
 - critères de sécurité
 - critères d'hygiène en justifiant vis-à-vis de la réglementation
- 6 – Mettre en œuvre votre protocole de test de croissance
- 7 – Proposer ou valider une DLC.

Quelques explications en relation avec les légumes

Aliments réfrigérés	Denrées périssables qui doivent être stockées à température réfrigérée pour garantir qu'elles restent sûres et saines durant leur durée de vie.
A_w (activité aqueuse)	Le développement et le métabolisme de micro-organismes dans la nourriture dépendent de la présence d'eau sous une forme disponible. A _w donne une mesure de la disponibilité en eau. La stabilité microbienne de nombreux aliments est obtenue en éliminant l'eau disponible (par exemple par dessiccation ou addition de sel, de sucre, etc.) pour réduire l'A _w .
Bonne pratique de fabrication	Combinaison de procédures de fabrication et de procédures Qualité visant à garantir que les produits sont fabriqués en permanence selon les spécifications requises.
Brunissement enzymatique ou décoloration	Brunissement des fruits et légumes coupés ou talés causé par l'oxydation des polyphénols. L'enzyme est inactivée par la chaleur; dans les produits crus, l'élimination de l'oxygène prolongera la durée de stockage.
Conditionnement sous atmosphère contrôlée (CAP)	Système de conditionnement en vrac utilisé pour les découpes de viande rouge crue. Le CAP – Conditionnement sous Atmosphère Contrôlée – ne doit pas être confondu avec un stockage sous atmosphère contrôlée. C'est un système qui utilise des matériaux d'emballages imperméables au gaz et hermétiquement scellés. L'atmosphère prédéterminée de l'emballage est obtenue par un emballage actif de générateurs d'O ₂ / absorbeurs de CO ₂ .
Conditionnement sous atmosphère protectrice (MAP)	Technique de préservation alimentaire dans laquelle la composition de l'atmosphère qui entoure la nourriture est différente de la composition normale de l'air. A la différence du stockage sous atmosphère contrôlée, dans le MAP, il n'y a aucun moyen de contrôler les composants atmosphériques à des concentrations spécifiques une fois que l'emballage a été hermétiquement scellé. L'atmosphère protectrice peut être composée d'un seul gaz ou d'une combinaison de gaz.
Conditionnement sous atmosphère protectrice équilibrée (EMAP)	Utilisation du processus de respiration des fruits et des légumes pour créer ou maintenir une atmosphère protectrice. La respiration crée une atmosphère avec un volume réduit d'oxygène et un niveau croissant de dioxyde de carbone. Cela ralentit le processus de vieillissement.
Conditionnement sous vide	Élimination de tout ou partie de l'air contenu dans un emballage sans le remplacer délibérément par un autre mélange gazeux.
Contamination	Altération d'un produit alimentaire ou d'un ingrédient par l'introduction de micro-organismes, toxines, produits chimiques ou matières étrangères de quelque sorte que ce soit, indésirable.
Désinfection/ Assainissement	Réduction des micro-organismes au moyen de la chaleur, de méthodes chimiques et/ou physiques jusqu'à un niveau qui soit compatible avec de bonnes pratiques d'hygiène et de sécurité alimentaire.

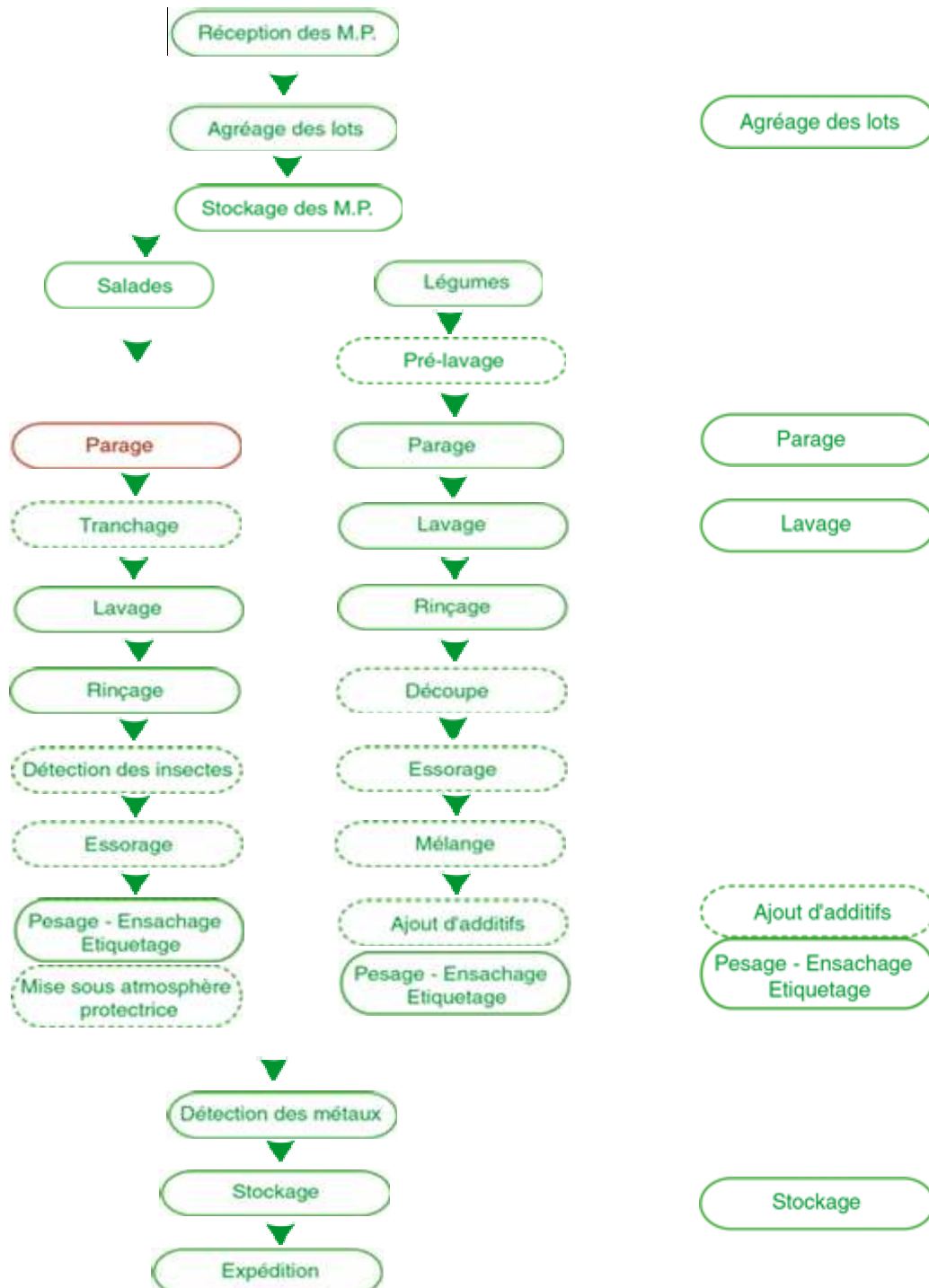
Détérioration alimentaire	Dégradation d'un aliment causée par des processus microbiologiques, chimiques, biochimiques ou physiques qui débouchent sur une apparence, une texture, des odeurs et/ou des saveurs indésirables.
Durée de vie	Laps de temps à partir de sa fabrication durant lequel un produit alimentaire reste sûr et sain dans des conditions de production conformes aux recommandations et de stockage raisonnablement prévisibles
Emballage en gros	Emballage de grande taille flashé au gaz qui contient des emballages individuels. Parfois également désigné sous l'appellation « mother pack ».
Empoisonnement alimentaire	Maladie (malaise) lié(e) à la consommation d'un aliment contenant des éléments chimiques, des micro-organismes dangereux ou leurs toxines.
Hygiène alimentaire	Ensemble des mesures nécessaires pour garantir la sécurité et la qualité des aliments depuis la réception et le stockage des ingrédients de base et/ou matières premières jusqu'à leur consommation finale.
PH (valeur)	Chiffre qui fournit une indication sur les degrés d'acidité ou d'alcalinité : acide (valeur pH inférieure à 7), neutre (pH 7), alcalin (valeur pH supérieure à 7).
Scellage hermétique	Fermeture par pression et/ou par chauffage qui fait partie de l'emballage d'un produit alimentaire et est conçue pour le protéger contre le transfert microbien ou toute autre contamination venant de l'environnement du produit.
Stockage sous atmosphère protectrice (ou contrôlée)	Stockage alimentaire dans une atmosphère différente de la composition normale de l'air. Les composants atmosphériques sont ajustés précisément à des concentrations spécifiques tout au long du stockage et de la distribution des denrées périssables. Les atmosphères protectrices sont utilisées dans les entrepôts de fruits et légumes entiers et pour le transport par route ou voie maritime de denrées périssables.
Système CBDF	Fait référence à un système MAP utilisant un film rétractable Cryovac® BDF. Les produits alimentaires périssables sont placés sur une barquette semi-rigide puis flashés avec du gaz et ensuite scellés hermétiquement dans une poche en film BDF sur thermoformeuse-emplisseuse-selleuse, ligne horizontale. Les emballages sous atmosphère protectrice passent ensuite dans un tunnel d'air chaud qui conduit le film à se rétracter sous la face inférieure du paquet, sous l'effet de la chaleur.
Vrac	Fait référence aux emballages en gros ou emballages pour les traiteurs ou pour d'autres opérations de mise en œuvre ou à tout emballage de grande taille flashé au gaz et contenant des emballages individuels.

Démarche à suivre

1. Trouver les grandes étapes de la transformation ayant un rôle sur la conservation du produit fini.

- www.roseedeschamps.fr
- www.bonduelle.com
- www.daucy.fr

2. Analyser chacune de ces étapes vis-à-vis de son efficacité sur les micro-organismes



3 – Trouver la réglementation Européenne sur l'hygiène des denrées alimentaires auquel est soumis ce genre de produit....

- 178/ 2002 : traçabilité et information du consommateur
- 852 / 2004 uniquement : conditions générales d'hygiène + HACCP

4 – Classer ces produits suivant la classification de l'AFSSA

Présentation du produit

Catégorie de produit	Légumes crus : radis, carottes, choux-fleur, brocolis, tomates-cerise	
	Remarques	Résultats
DLC	A déterminer ou DLC souhaitée ?	Une 10 ^{aine} de jour
Donnez son pH	Produit hétérogène, prendre en compte le pH de plus élevé. Mesures de pH ou recherche bibliographique	Radis : à faire... Carottes : Choux-fleur : Brocolis : Tomates :
Donner son AW	Produit hétérogène Mesure de l'Aw sur mélange	0,995
Son mode de conditionnement	Nature du gaz : mesure de l'O₂ et CO₂ (critères procédé, évolution en cours de conservation) perméabilité du sachet (sachets fuités)	Sous air Evolution naturelle de la composition gazeuse (respiration des légumes, photosynthèse, métabolisme bactérien)
Présence de conservateur	Lecture étiquetage	Absence (à vérifier)
Sa température de conservation	Prendre en compte les scénarios prévisibles en cours de conservations (rupture chaîne du froid).	4°C +/- 1°C préconisé 1/3 à 4°C & 2/3 à 8°C prévisible
Ont-ils subi un traitement thermique ou un autre traitement d'assainissement ?	Réflexion sur le procédé et le barème choisi : ont-ils subi un traitement assainissement ? Le chlore en est -t'il un et quel est son efficacité. Tester l'efficacité sur la flore totale et donner un % de destruction ou recherche bibliographique	Taux de chlore et temps de contact à définir.

Le développement des micro-organismes est donc limité dans ce produit par les facteurs suivants :

Facteurs limitant	oui	non	Pourquoi
pH			
POR			
AW			
Conservateur			
Traitement d'assainissement			
Température de stockage			

Conclusion :

Les légumes crus pour l'apéritif peuvent-ils permettre la croissance microbienne d'une façon générale?

Réponse : **OUI** sauf les microorganismes aérobies stricts

Il faut donc **rechercher les critères microbiologiques à respecter.**

5 – Déterminer les critères réglementaires à appliquer.

- critères de sécurité

- critères d'hygiène en justifiant vis-à-vis de la réglementation

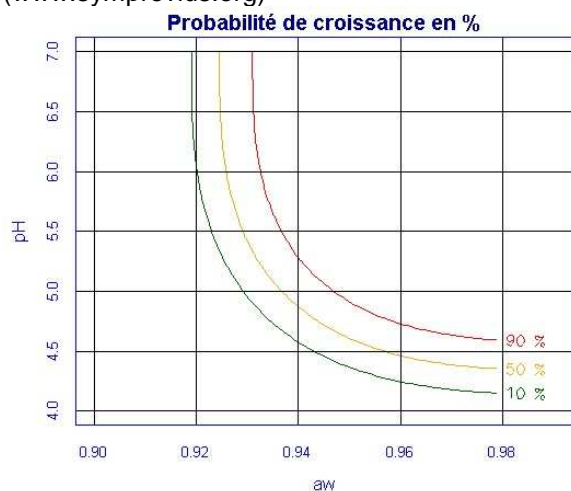
51 – Recherche des critères réglementaires microbiologiques.	52 – Recherche des autres dangers microbiologiques potentiels. (flore d'altération et autres pathogènes)
Moyens à utiliser	Moyens à utiliser
Règlement 2073/2005	Analyse des dangers
Arbre de décision de l'AFSSA	Recherche biblio
D'ou test de croissance et microbiologie prévisionnelle	D'ou test de vieillissement ou test de croissance
Comment réaliser un test de phase de croissance ? Norme : NF V01 009 - septembre 2007 Comment exploiter les données de ce test par microbiologie prévisionnelle ?	Comment mettre en œuvre un test de vieillissement : Norme NF V 01 003 -février 2004 en cours de révision

51 - Selon le règlement 2073/2005 relatifs aux critères microbiologiques

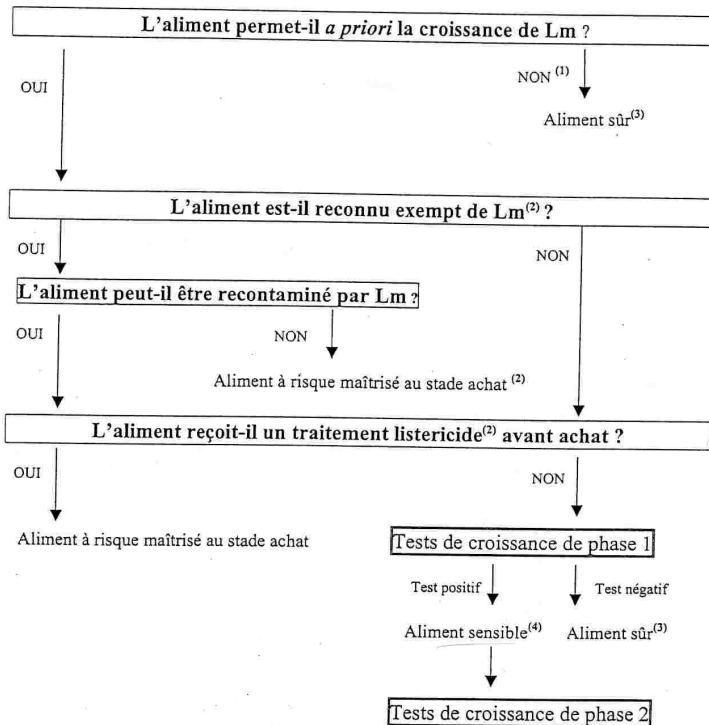
Critères de sécurité		Critères d'hygiène
Denrées permettant sa croissance	Fruits et légumes prédécoupés (prêts à être consommés)	Fruits et légumes prédécoupés (prêts à être consommés)
Ligne 1.2 – <i>L monocytogenes</i>	Ligne 1.19 - Salmonella	Ligne 251 – E.coli
Cf arbre de décision ci-joint et règlement 2073/2005* ou interface croissance non croissance symprevius	N = 5 et c = 0 Abs dans 25 g	n = 5 et c = 2 m= 100 ufc / g et M = 1000 ufc / g
Abs dans 25 g / après fabrication < à 100 Lm / g à la DLC	Pendant la durée de conservation	Fin du procédé de fabrication : amélioration de l'hygiène de production et de la sélection des matières premières.

* Règlement 20073 chapitre 1 catégorie 1.3 produit ne favorisant pas la croissance de *L. monocytogenes* note (8) produits pour lesquels $pH \leq 4,4$ ou $aw \leq 0,92$ ou produits pour lesquels $pH \leq 5,0$ et $aw \leq 0,94$, produits dont la conservation est inférieure à 5 jours

Interface croissance – non croissance de *L. monocytogenes* à température ambiante (www.symprevius.org)



**Arbre de décision permettant de classer les aliments selon le danger,
Listeria monocytogenes (Lm) au stade « achat »**



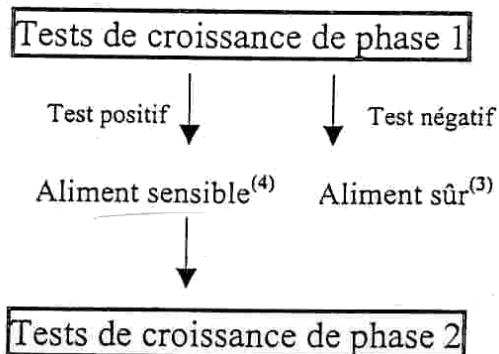
¹ : Ces aliments ont les caractéristiques suivantes : $a_w < 0,90$, ou $pH < 4,2$ (ou $pH < 4,5$ lorsque l'acidification est obtenue par de l'acide lactique et/ou acétique), ou aliment à l'état congelé ou surgelé.

² : Ces aliments sont exempts de Lm, car soumis à des mesures de maîtrise microbiologique appropriées, ou ayant subi un traitement listéricide dont l'efficacité a été démontrée pour des niveaux de contamination habituellement détectée avant traitement, en fonction de la maîtrise microbiologique des étapes antérieures de la vie du produit (par exemple, traitement thermique de 65°C à cœur pendant 2 min ou traitement équivalent si la température à cœur est supérieure à 65°C, ionisation à 5 kGy).

³ : - En général pour le consommateur, ces aliments ne présentent pas de risque à condition que le niveau de contamination initiale soit conforme au seuil réglementaire.
- Plus particulièrement, pour certaines populations à risque pour lesquelles un seuil pourrait être défini sur la base d'une appréciation des risques, ces aliments ne présentent pas de risque à condition que le niveau de contamination initiale soit inférieur à ce seuil.

⁴ : Ces aliments, s'ils sont contaminés par *Listeria monocytogenes*, peuvent présenter un niveau de contamination par ce micro-organisme supérieur au seuil défini comme représentant un risque pour le consommateur, sur la base d'une appréciation des risques. Pour cette catégorie d'aliment, il s'agira de mettre en place les études pour définir une DLC appropriée, au moyen par exemple des tests de croissance de phase 2.

Décision finale : **aliment sensible d'ou réalisation de tests de croissance.**



⇒ Norme : NF V01 009 - septembre 2007 à mettre en oeuvre

52 – Recherche des autres dangers microbiologiques potentiels. (Flore d'altération et autres pathogènes)

Identification des dangers :

Utilisation d'une **liste préétablie**, issue d'articles scientifiques, rapports de l'OMS ou FAO, GBP :

Pseudomonas, *Bacillus cereus*, *Brucella spp*, *campylobacter spp*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, ***Escherichia coli* ETEC –EPEC-EIEC**, *Escherichia coli* **STEC**, ***listeria monocytogenes***, *Mycobacterium bovis*, ***Salmonella typhi***, ***salmonella spp***, ***Shigella spp***, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*.

Moisissures et levures

Sélection des dangers / dangers non pertinents

- Des germes sont naturellement présents sur les légumes (conditions de culture et récolte puis efficacité du lavage)
- des germes peuvent résister au traitement au chlore
- des germes peuvent recontaminer le produit après lavage

Dangers non sélectionnés	Etapes avant lavage	Lavage	Etapes après lavage
Dangers bactériens	Contamination des matières premières ou après interventions manuelles	Présence après lavage	Recontamination
<i>Pseudomonas</i>	oui	non	oui
<i>Brucella spp</i>	Oui sur terre contaminée	non	non
<i>Campylobacter spp</i>	Oui (oiseaux)	non	non
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Non (marin)	non	non
<i>Bacillus cereus</i>	oui	oui	oui
<i>Clostridium botulinum</i>	oui	oui	oui
<i>Clostridium perfringens</i>	oui	oui	oui
<i>Escherichia coli</i>	oui	non	oui
<i>L monocytogenes</i>	oui	non	oui
<i>Salmonella typhi</i>	oui	non	oui
<i>Salmonella spp</i>	oui	non	oui
<i>Shigella spp</i>	oui	non	oui
<i>Staphylococcus aureus</i>	oui	non	oui
<i>Yersinia enterocolitica</i>	oui	non	oui
<i>Moisissures</i>	oui	Non	oui
<i>levures</i>	oui	non	oui

Le développement de ces micro-organismes est limité dans les légumes crus par les facteurs suivants

Facteurs limitant	pH	POR	AW	Conservateurs	T. désinfectant	Température de stockage
OUI		<input checked="" type="checkbox"/>			<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
NON	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		

Denrées sensibles Sûrs A risques maîtrisés

Suivants les microorganismes :

Dangers bactériens	pH supprimant la croissance de	Potentiel d'oxydo-réduction supprimant la croissance de	Aw supprimant la croissance de	Désinfection diminuant la quantité	Température de conservation
<i>Pseudomonas</i>	non	« non »	non	oui	« non »
<i>Brucella spp</i>	non	non	non	oui	oui
<i>Campylobacter spp</i>	non	non	non	oui	oui
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	non	non	non	oui	« non »
<i>Bacillus cereus</i>	non	non	non	non	Oui
<i>Clostridium botulinum</i>	non	oui	non	non	Oui
<i>Clostridium perfringens</i>	non	oui	non	non	Oui
<i>Escherichia coli</i>	non	non	non	oui	Oui
<i>L monocytogenes</i>	non	non	non	oui	« non »
<i>Salmonella typhi</i>	non	non	non	oui	Oui
<i>Salmonella spp</i>	non	non	non	oui	Oui
<i>Shigella spp</i>	non	non	non	oui	Oui
<i>Staphylococcus aureus</i>	non	non	non	oui	Oui
<i>Yersinia enterocolitica</i>	non	non	non	oui	oui
<i>Moisissures levures</i>	non	non	non	oui	« non »
	non	non	non	oui	oui

Dangers bactériens	Croissance possible ?	<p>Critères microbiologiques à appliquer : Critères Fédération des entreprises du commerce et de la distribution ou référence applicable à l'interprofession des restaurateurs où interne à l'entreprise</p> <p>- Flore à 30°C m = 5.10⁷ ufc /g – celle-ci prend en compte tout ces microorganismes présents dans les sachets.</p> <p>- <i>Staphylococcus aureus</i> m = 100 ufc / g</p>
<i>Pseudomonas</i>	« oui »	
<i>Brucella spp</i>	non	
<i>Campylobacter spp</i>	non	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	non	
<i>Bacillus cereus</i>	oui	
<i>Clostridium botulinum</i>	non	
<i>Clostridium perfringens</i>	non	
<i>Escherichia coli</i>	oui	
<i>L monocytogenes</i>	oui	
<i>Salmonella typhi</i>	oui	
<i>Salmonella spp</i>	oui	
<i>Shigella spp</i>	oui	
<i>Staphylococcus aureus</i>	oui	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	oui	
<i>Moisissures</i>	oui	
<i>Levures</i>	oui	

⇒ Norme NF V 01 003 -février 2004 en cours de révision : test de vieillissement

6 - mettre en œuvre votre protocole de test de croissance

61 – Décider si réalisation d'un potentiel de croissance ou taux de croissance (vitesse spécifique de croissance)	Potentiel de croissance = durée de vie ⇒ Norme NF V 01 009 - septembre 2007	Taux de croissance ⇒ Norme : NF V01 009 - septembre 2007
	Sans logiciel	Avec logiciel Sym'Previus
	<i>Ma durée de vie de 10 jours est-elle correcte ?</i>	Ici faire un taux de croissance car durée de vie inconnue.
62 – Définition du protocole		
621 – Choix des souches	Choisir de préférence une souche terrain et une souche de référence.	
souche à calibrer : quantité d'inoculum	Je veux savoir la concentration de ma suspension mère en fin d'incubation (24 h à 37°C et 5 jours au froid) afin de préparer mes dilutions pour l'inoculation	
622 – Préparation des souches à inoculer	<p>Obtention d'une culture en phase exponentielle ou en début de phase stationnaire.</p> <p>Par exemple, 1 UFC de terrain dans 10 ml de BNO 37°C / 24h puis 4 à 6 jours à 12°C... à vous de voir.</p> <p>A partir de cette suspension, le volume à injecter dans l'aliment pour obtenir un nombre de « x ufc par gramme de produit »</p> <p>A partir de 5.10^9 bactéries par ml de suspension mère je désire obtenir 50 bactéries par g d'aliment.</p> <p>Calcul à effectuer...</p> <p>$C_{SM} \times V_{inoc} \times d = C \times M$</p> <p>$C_{SM}$ = concentration de la suspension mère en ufc/mL</p> <p>V_{inoc} = volume d'inoculum à injecter dans l'aliment en mL (ratio volume/ inoculum et masse du produit < à 1/100)</p> <p>d = coefficient de dilution de la suspension mère</p> <p>C = concentration souhaité dans l'aliment en ufc/g</p> <p>M = Poids de l'échantillon en g</p>	
	<i>Ici, le taux de bactérie doit être la plus faible possible, mais au moins 5 fois supérieure au seuil de quantification de la méthode (10 par gramme)</i>	Ici on peut avoir un nombre élevé dans l'aliment au départ : par exemple 500ufc par g

623 - Inoculation	En surface ou dans la masse, dans notre cas concret en surface. Il faut ne pas modifier les caractéristiques pH et Aw du produit, donc avoir un ratio volume/ inoculum et masse du produit < à 1/100. A vous de décider comment, il ne faut pas modifier l'atmosphère gazeuse du sachet.	
624 – Température de conservation	A température constante (8°C) ou 1/3 à 4°C et 2/3 à 8°C	A température constante qui va permettre la croissance de Lm, mais qui ne soit pas trop éloignée de la T°C de l'aliment (8 – 10 ou 15°C)
625 – Suivi en cours de conservation	J0 et date de fin de durée de vie suffisent	Obtention d'une courbe de croissance, adapter les points en fonction de la température.
626 - Contrôles	Vérifier le pH et l'Aw de l'aliment Dénombrer <i>Listeria monocytogenes</i> selon norme ISO ou méthodes validées AFNOR Dénombrer aussi la flore totale	
	Prévoir pour la microbiologie, au moins 3 échantillons par date d'analyse.	

63 – Interprétations des résultats

		Démonstration avec le logiciel
631 – Questions		Déterminer le taux de croissance
Quelle est la DLC à appliquer pour respecter le critère microbiologiques de 100 / g ? Ou en cas de présence dans 25 g	A compléter : calcul Retrait du marché car l'aliment en cas de présence va dépasser le taux de 100 Lm / g	Dans quelles conditions je vais simuler la croissance : Quel taux d'inoculation initial ? Quel pH ? Quelle Aw ? Quelle température ? Lancer la simulation Ici exemple sur feuille, la DLC dans les conditions des légumes est de x jours.