

Survie de *Listeria monocytogenes* dans du homard chauffé
après une préexposition à la chaleur

Doris Losier, B. Sc. Nutrition

Thèse présentée pour répondre aux exigences partielles
de la Maîtrise ès sciences (nutrition-alimentation)

École de nutrition et d'études familiales
Centre universitaire de Moncton
1996



National Library
of Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions et
services bibliographiques

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file *Votre référence*

Our file *Notre référence*

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-27074-2

Canada

REMERCIEMENTS

Je désire offrir mes sincères remerciements à Madame Auréa Cormier, ma directrice de thèse, pour sa disponibilité, ses connaissances ainsi que son encouragement.

Je souhaite également exprimer ma gratitude à Madame Elizabeth Karpowicz du Ministère des Pêches et Océans Canada, membre de mon comité de thèse pour la lecture de ma thèse et les suggestions et conseils proposés.

Mes remerciements s'adressent aussi à Monsieur Pascal Audet, qui a participé à la révision de cette thèse et a fait en sorte que cette recherche ne néglige aucun aspect essentiel.

À l'équipe du Centre de recherche sur les aliments, j'offre des remerciements bien particuliers pour le dévouement et l'appui qu'ils m'ont apportés aux différentes étapes du projet.

Pour l'amour et le soutien prodigués tout au long de mes études de deuxième cycle, je désire exprimer ma reconnaissance à ma famille ainsi qu'à mon époux.

Enfin, un merci très spécial à Monsieur Omer Duplessis de Buctouche Fish Market, ainsi qu'à Monsieur Louis Arsenault de Pêches et Aquaculture pour les subventions grâce auxquelles ce projet fut réalisé.

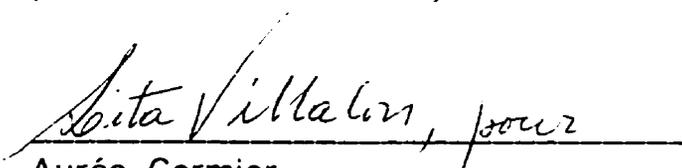
APPROBATION

Titre de la thèse : Survie de *Listeria monocytogenes*
dans du homard chauffé après une
préexposition à la chaleur.

Nom de la candidate : Doris Losier

Diplôme obtenu : Maîtrise ès sciences
(nutrition-alimentation)

Approbation :


Auréa Cormier
Directrice de thèse

Date de l'approbation : 18 décembre 1996

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|--|------|
| REMERCIEMENTS..... | ii |
| APPROBATION..... | iii |
| TABLE DES MATIÈRES | iv |
| LISTE DES TABLEAUX | viii |
| LISTE DES FIGURES | xi |
| | |
| CHAPITRE I: INTRODUCTION | 1 |
| | |
| 1.1 Survol de l'étude | 1 |
| 1.2 Le problème | 2 |
| 1.2.1 Nature du problème | 2 |
| 1.2.2 But de l'étude | 5 |
| 1.2.3 Énoncé de la question de recherche | 6 |
| 1.3 Définition des termes | 7 |
| 1.3.1 Résistance thermique | 7 |
| 1.3.2 Traitement thermique | 7 |
| 1.3.3 Choc thermique | 7 |
| 1.3.4 Valeur D | 8 |
| 1.3.5 Valeur z | 8 |
| 1.3.6 Valeur F | 8 |
| 1.4 Importance de l'étude | 8 |
| 1.5 Limites de l'étude | 10 |
| 1.5.1 Deux méthodes seulement pour détecter le <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> (LM)..... | 10 |

| | |
|--|--------|
| 1.5.2 Un inoculum limité à 10 000 colonies par gramme de chair de homard | 11 |
| 1.5.3 Expérimentation à quatre températures seulement | 12 |
| 1.5.4 Expérimentation avec un seul crustacé | 12 |
| 1.5.5 Nombre de répliques | 13 |
| 1.5.6 Souches expérimentales vs souches réelles..... | 13 |
| CHAPITRE II : RECENSION DES ÉCRITS | 15 |
| 2.1 Recension des écrits | 15 |
| 2.1.1 Nature et caractéristiques du <i>Listeria monocytogenes</i> (LM)..... | 16 |
| 2.1.2 Fréquence de contamination des aliments par le <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> (LM)..... | 17 |
| 2.1.3 Terminologie liée aux traitements thermiques | 20 |
| 2.1.4 Résistance thermique du LM | 23 |
| 2.1.5 Phénomènes entourant le choc thermique | 25 |
| 2.1.6 Effets de la congélation sur les cellules du LM | 28 |
| 2.2 Cadre de la recherche et hypothèses | 30 |
| 2.3 Hypothèses de recherche | 32 |
| CHAPITRE III : MÉTHODOLOGIE | 34 |
| 3.1 Provenance de la chair de homard | 34 |
| 3.2 Calcul de la taille de l'échantillon | 34 |

| | |
|---|--------|
| 3.3 Procédés du traitement et du dénombrement de <i>Listeria monocytogenes</i> (LM)..... | 35 |
| 3.3.1 Mode de préparation des boites de chair de homard | 35 |
| 3.3.2 Mode de chauffage des boites de homard | 36 |
| 3.3.3 Préparation de l'inoculum de | 37 |
| 3.3.4 Mode d'inoculation des échantillons | 38 |
| 3.3.5 Grandes lignes du procédé de traitement thermique | 39 |
| 3.3.6 Mode d'administration du choc thermique | 40 |
| 3.3.7 Application du traitement thermique | 40 |
| 3.3.8 Dénombrement du LM..... | 41 |
| 3.4 Détermination de la présence ou absence de LM | 42 |
| 3.5 Détermination du nombre de cellules de LM | 43 |
| 3.6 Analyses statistiques | 43 |
| CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSION | 45 |
| 4.1 Compte des cellules de <i>Listeria monocytogenes</i> (LM) utilisées pour inoculer | 45 |
| 4.2 Temps de montée de la température lors du traitement thermique..... | 48 |
| 4.3 Survie de LM dans du homard préexposé à la chaleur | 50 |
| 4.3.1 Survie de LM après une préexposition à la chaleur selon un analyse utilisant la méthode de Brown | 50 |
| 4.3.2 Survie de LM après préexposition à la chaleur analysé selon la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada | 52 |
| 4.3.3 Sort des hypothèses 1 et 2 | 54 |

| | |
|--|----|
| 4.4 Effet de la congélation sur la survie de LM dans du homard..... | 56 |
| 4.4.1 Survie de LM après une préexposition à la chaleur et une congélation d'un mois selon la méthode d'analyse deBrown..... | 56 |
| 4.4.2 Survie de LM après une préexposition à la chaleur et une congélation d'un mois selon la méthode d'analyse du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada | 58 |
| 4.5 Sort de l'hypothèse 3 | 62 |
| 4.6 Comparaison entre la méthode conventionnelle du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada et la méthode de Brown recommandée pour les études thermiques | 62 |
| 4.7 Nombre de colonies de LM par gramme dans le homard | 64 |
| 4.8 Valeur D..... | 66 |
| | |
| CHAPITRE V : CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS | 69 |
| | |
| LISTE DES RÉFÉRENCES | 73 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau 1. Nombre de colonies de <i>Listeria monocytogenes</i> par mL d'inoculum préparé pour huit sessions d'inoculation..... | 45 |
| Tableau 2. Compte de <i>Listeria monocytogenes</i> (LM) dans du homard inoculé avec 1 mL d'une suspension de LM puis exposé à 48°C pendant 30 min. | 47 |
| Tableau 3. Nombre d'échantillons de homard positifs ou négatifs pour <i>Listeria monocytogenes</i> , selon la méthode de Brown, après chauffage entre 58 et 64 °C, précédé ou non d'un choc thermique | 51 |
| Tableau 4. Nombre d'échantillons de homard positifs ou négatifs pour <i>Listeria monocytogenes</i> , selon la méthode conventionnelle du Ministère de la Santé et Bien-Être Social Canada, après un chauffage entre 58 et 64°C, précédé ou non d'un choc thermique | 53 |

Tableau 5.

Nombre d'échantillons de homard positifs ou négatifs pour *Listeria monocytogenes*, selon la méthode de Brown, après un choc thermique suivi d'un traitement thermique entre 58 et 64 °C ainsi qu'une congélation d'un mois à -26°C..... 57

Tableau 6.

Nombre d'échantillons de homard positifs ou négatifs pour *Listeria monocytogenes*, selon la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada, après un choc thermique suivi d'un traitement thermique entre 58 et 64 °C ainsi qu'une congélation d'un mois à -26°C..... 59

Tableau 7.

Nombre d'échantillons de homard positifs ou négatifs pour *Listeria monocytogenes*, selon la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-être Social Canada, après un choc thermique suivi d'un traitement thermique de 58 et 60°C pour des échantillons frais et congelés à -26°C..... 60

Tableau 8

Comparaison du nombre de positifs et négatifs obtenus avec la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada et celle de Brown 63

Tableau 9.

Nombre moyen de colonies de LM par g dans les échantillons non congelés et congelés soumis ou non à un choc thermique et traités thermiquement soit à 58°C ou 60°C.....65

Tableau 10.

Valeur D moyenne et ratio (la Valeur D avec choc thermique : Valeur D sans choc thermique) pour les quatre températures de traitement thermique, soit 58°C, 60°C, 62°C et 64°C.....67

LISTE DES FIGURES

Figure 1.

Grandes lignes du procédé de traitement thermique 39

Figure 2.

Temps moyen de montée de la température dans des
boîtes de 320 g de chair de homard exposées à 58, 60,
62 et 64°C.....49

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 Survol de l'étude

Depuis la mise en oeuvre du Programme de Gestion de la Qualité (PGQ) par le Ministère des Pêches et des Océans Canada (MPO) en 1990 (Ministère des Pêches et des Océans Canada, 1990a), l'industrie de la transformation des produits marins a beaucoup évolué. Malgré les nombreux efforts pour se conformer aux directives du PGQ, l'industrie demeure toujours perplexe car les fruits de mer, notamment la chair de homard, sont encore régulièrement contaminés par le *Listeria monocytogenes* (LM).

Le micro-organisme LM mérite une attention particulière puisqu'on ne connaît pas comment il fait son apparition en usine, ni quels sont les facteurs qui augmentent sa résistance. Depuis quelques années, on a découvert qu'après avoir été chauffées, certaines cellules microbiennes deviennent plus difficiles à détruire si elles sont traitées thermiquement par la suite. La présente recherche vise à mieux comprendre l'effet de la chaleur sur les cellules du LM contenues dans la chair de homard. Les résultats de cette recherche permettront, entre autres, de mieux informer les transformateurs des dangers potentiels associés à la présence de LM dans les produits alimentaires lorsque les fluctuations de température en usine ne sont pas strictement contrôlées.

Cette recherche a pour but de faire avancer les connaissances entourant la résistance thermique du LM. Elle vise également venir en aide aux transformateurs de homards en les renseignant sur la survie des cellules du LM dans du homard chauffé qui a été préalablement préexposé à la chaleur.

Le premier chapitre présente la nature du problème entourant les cellules du LM ainsi que les limites de l'étude. Le deuxième chapitre présente un survol de la documentation scientifique reliée au LM. La méthodologie de cette recherche est détaillée au chapitre 3. Les résultats, accompagnés d'une discussion, sont présentés au chapitre 4. Les conclusions de la recherche apparaissent au chapitre 5 du document suivi de la liste des références utilisées.

1.2 Le problème

1.2.1 Nature du problème

Les exploitants d'industries alimentaires sont constamment préoccupés par l'idée que des micro-organismes nuisibles à la santé des consommateurs peuvent se trouver dans leurs produits. Depuis une dizaine d'années, la littérature scientifique rapporte qu'un micro-organisme pathogène, le *Listeria monocytogenes* (LM), cause de sérieuses infections alimentaires (Gill, 1988). Pour contrer ce problème, de nombreux efforts sont faits pour implanter les Bonnes Pratiques Industrielles (BPI) lors de la transformation des aliments.

Il est reconnu que les produits laitiers, les viandes et les fruits de mer sont particulièrement sujets à être contaminés par le LM (Dillon et Patel, 1992). Le MPO, les transformateurs, ainsi que le *Food and Drug Administration* (FDA) des États-Unis se tiennent constamment sur leur garde afin d'éviter que des fruits de mer contaminés se rendent jusqu'à la table des consommateurs. De plus, la politique de «tolérance zéro», adoptée par le FDA des États-Unis, nécessite que l'on réduise l'incidence de LM à zéro dans tous les produits alimentaires. Si on échoue à cet égard, les coûts sont considérables pour les transformateurs (Hardin, Williams et Harrison, 1993). Les règlements strictes adoptés par les Américains sont souvent controversés par les producteurs alimentaires de d'autres pays. Cependant, en raison de la résistance remarquable de ce micro-organisme aux basses températures, à la congélation et à certains facteurs environnementaux, il est difficile de dénoncer ces règlements.

À l'heure actuelle, malgré les efforts accrus pour éliminer ou réduire le LM (Anonymous, 1993d), le rappel des fruits de mer contaminés par le *Listeria* est encore commun en Amérique du Nord ainsi que dans plusieurs pays européens (Anonymous, 1993a; 1993b; 1993c). En 1990, le FDA affirmait que 23% des cargaisons de produits marins exportées aux États-Unis en provenance de l'île du Prince Édouard, du Nouveau Brunswick et du Québec étaient contaminés par le LM.

Le FDA dicte que lorsque 25% des cargaisons d'un transformateur contiennent des lots de homards contaminés par le LM, son usine doit s'astreindre à l'une des deux options suivantes : (1) obtenir un certificat établissant l'absence du LM dans son produit à chaque fois qu'il l'expédie ou (2) soumettre son produit à l'exercice d'échantillonnage du FDA, un long processus qui est à la fois humiliant et coûteux pour le transformateur. Lorsque le LM est décelé dans un produit, les coûts de l'échantillonnage, du dénombrement, de l'entreposage et de l'expédition doivent alors être absorbés par l'exportateur (Horne, 1992).

Plusieurs chercheurs rapportent que certaines cellules microbiennes, incluant le LM, acquièrent une résistance additionnelle à la chaleur lorsqu'elles sont exposées à un environnement stressant tel qu'une température faiblement inférieure à celle requise pour dénaturer leurs protéines (Linton, Webster, Pierson, Bishop, et Hackney, 1992). Selon Schlesinger (1986), la raison pourquoi la résistance des micro-organismes ayant subi un choc thermique augmente pourrait être attribuée à la synthèse de protéines particulières qui sont fabriquées en réponse à ce stress.

Afin d'assurer des conditions salubres en usine, le MPO oblige tous les transformateurs à se conformer à un programme appelé «Programme de gestion de la qualité» (PGQ), et cela, depuis environ cinq ans (Ministère des Pêches et des Océans Canada, 1990a). Fait

assez surprenant, les usines où les directives du PGQ sont scrupuleusement appliquées produisent encore, à l'occasion, des lots de homards contaminés par le LM. Non seulement la présence du LM occasionne-t-elle de sérieux problèmes pour les producteurs, elle les rend perplexes quant aux causes possibles de contamination par ce micro-organisme.

1.2.2 But de l'étude

La présente étude vise à évaluer la survie du *Listeria monocytogenes* (LM) dans le homard qui subit un traitement thermique après avoir été préexposé à la chaleur. Cette recherche est réalisée en réponse aux demandes des transformateurs de homard du Nouveau-Brunswick. Elle vise à clarifier si oui ou non, une des causes de contamination des boîtes de chair de homard par le LM en est une qui est reliée à la résistance du LM à un traitement thermique préalable.

Cette recherche comprend deux parties. La première a pour but de déterminer l'effet d'un choc thermique sur la présence et le nombre de cellules du LM qui résistent à un traitement thermique administré à du homard. Quatre températures de traitement thermique sont étudiées, soit 58°C, 60°C, 62°C et 64°C, et cela, aux durées de traitement recommandées au tableau A d'un document à cet effet qui est publié par le Ministère des Pêches et des Océans Canada (1990b).

La deuxième partie de cette recherche vise à étudier l'effet de la congélation d'une durée d'un mois sur la survie des cellules du LM dans du homard qui a subi un choc thermique préalable à un traitement thermique. Après un dénombrement du LM, on peut ainsi déterminer la quantité de cellules de LM détruites ou endommagées par l'action de la congélation, suivie du maintien des échantillons de homard à -26°C pendant un mois.

1.2.3 Énoncé de la question de recherche

La question centrale à laquelle cette étude veut répondre est la suivante : Est-ce que les cellules du LM qui ont subi un choc thermique sont plus résistantes à la chaleur lors d'un traitement thermique subséquent?

Cette question générale peut se subdiviser en trois sous questions spécifiques :

- Un choc thermique administré à du homard, à une température comparable à celle qui pourrait être infligé en usine, augmente-t-il l'intensité de la chaleur requise par la suite pour inactiver le LM?
- L'efficacité du procédé thermique recommandé par le MPO aux zones de basse température, soit entre 58°C et 64°C , est-elle compromise si les cellules du LM contenues dans la chair de homard ont antérieurement subi un choc thermique?

- Jusqu'à quel point des cellules du LM présentes dans de la chair de homard sont-elles endommagées par la congélation suivie d'un maintien en entrepôt frigorifique à -26°C pendant un mois?

1.3 Définition des termes

Afin d'assurer une compréhension uniforme du texte, cinq termes particuliers à cette étude doivent être définis.

1.3.1 Résistance thermique : Endurance accrue, manifestée par un micro-organisme au cours d'un chauffage à une température donnée, et attribuable au fait que ce micro-organisme a été préalablement soumis à une condition environnementale incluant une chaleur élevée.

1.3.2 Traitement thermique : Procédé réalisé en usine ou au laboratoire et où l'on administre une quantité déterminée de chaleur; ce procédé est utilisé pour détruire les micro-organismes présents dans un produit alimentaire.

1.3.3 Choc thermique : Exposition de cellules microbiennes à une température supérieure de 10°C à leur température optimale de croissance et cela, pour un laps de temps variant entre 20 à 60 min.

1.3.4 Valeur D : Durée, en min, du chauffage nécessaire à une température spécifiée, pour réduire le nombre de micro-organismes de 90%.

1.3.5 Valeur z : Changement de température, en °F, nécessaire pour réduire la valeur D (temps d'exposition) d'un facteur de 10, tout en obtenant le même degré d'efficacité dans l'élimination du micro-organisme.

1.3.6 Valeur F : Temps d'exposition, en min, nécessaire à 250°F (121°C) pour détruire les spores ou les cellules végétatives d'un micro-organisme spécifique.

1.4 Importance de l'étude

Au Nouveau-Brunswick, l'industrie de la pêche représente une activité économique très importante. L'industrie du homard de cette province, à elle seule, rapporte annuellement environ trente millions de dollars au débarquement (Beaudin et Savoie, 1992). Au cours des dix dernières années, l'apparition d'un micro-organisme pathogène, le *Listeria monocytogenes* (LM), a alarmé le public et les inspecteurs alimentaires. Le LM est non seulement capable de se reproduire à une température aussi basse que 0°C, il peut également tolérer la chaleur. Pour plusieurs transformateurs Néo-Brunswickois qui exportent aux États-Unis, la présence de cellules du LM dans les crustacés leur a occasionné de lourdes pertes financières. À l'heure

actuelle, le Ministère des Pêches et des Océans Canada (1990a) oblige tous les transformateurs de poisson à se conformer aux normes énoncées dans le cadre du Programme de gestion de la qualité (PGQ). Fait assez décevant, les usines où l'on applique scrupuleusement les directives du PGQ produisent occasionnellement des lots de homard contaminés par le LM. La présence du LM occasionne non seulement de sérieux problèmes financiers aux producteurs, mais elle les rend perplexes parce que les causes de contamination par ce micro-organisme pathogène demeurent inconnues. Jusqu'à présent, personne n'a pu identifier les facteurs clés pouvant expliquer l'apparition sporadique du LM dans les boîtes de chair de homard provenant d'usines où les BPI sont en vigueur.

Linton et al. (1992) rapportent que la résistance thermique des cellules microbiennes du LM augmente lorsque celles-ci sont exposées à un environnement stressant tel que celui d'une température un peu plus élevée que la température optimale de croissance. On ne comprend pas très bien le mécanisme qui expliquerait l'augmentation de résistance des cellules ayant subi un choc thermique. Selon Schlesinger (1986), l'augmentation de la résistance thermique d'un micro-organisme serait attribuable à la synthèse de protéines particulières que ce dernier fabrique suite à un choc thermique.

Si les cellules du LM sont plus difficiles à détruire à la chaleur parce qu'elles ont déjà subi un choc thermique, les transformateurs

doivent s'assurer qu'à l'usine, des précautions sont prises pour d'éliminer toute source potentielle de choc thermique. Cette mise en garde est particulièrement importante dans les situations où le traitement thermique se fait aux alentours de 60°C.

Une autre façon d'éliminer le LM d'un crustacé, c'est de l'exposer à des températures encore plus élevées que celle où se développe la résistance thermique. Cependant, la perte de poids associée à l'utilisation de procédés incluant des températures de traitement élevées se traduit en de lourdes pertes financières pour les producteurs. En effet, la chair du crustacé se dénature intensément à de hautes températures, perdant par la suite une partie importante de son liquide par égouttement.

1.5 Limites de l'étude

Pour une série de raisons valables, des études semblables à celle-ci posent souvent un certain nombre de limites et la présente recherche ne fait pas exception. La nature du problème à l'étude pose les cinq limites suivantes.

1.5.1 Deux méthodes seulement pour détecter le *Listeria monocytogenes* (LM)

Comme la méthode pour détecter la présence de LM est complexe et coûteuse, on n'a utilisé que deux méthodes pour déterminer la présence ou l'absence de ce micro-organisme : (1) une méthode

recommandée pour faire des études thermiques et (2) une méthode conventionnelle largement utilisée pour la détection de LM. La première méthode, celle de Brown (1991), est fréquemment utilisée pour les études thermiques. La seconde est la méthode modifiée qui est actuellement proposée par le Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada (1992). La présente étude s'est limitée à ces deux méthodes parce que celles-ci ont été hautement recommandées à maintes reprises par des experts dans des études où il fallait évaluer la présence de cellules telles que celles du LM (Brown, 1991; Farber, 1989).

1.5.2 Un inoculum limité à 10 000 colonies par gramme de chair de homard

Puisque cette étude visait à fournir des données pertinentes pour les transformateurs de homard, il était nécessaire de reproduire en laboratoire, des conditions qui étaient le plus près possible de celles en l'usine. Sans cela, on n'aurait pas été en mesure d'offrir des suggestions réalistes et pertinentes aux transformateurs de crustacés. Or, comme le niveau de contamination des produits marins par le LM est habituellement très bas, la quantité de micro-organismes qu'on a décidé d'inoculer dans le homard a été limitée à 10 000 colonies par gramme. Si on avait utilisé un inoculum ayant un compte beaucoup plus élevé de micro-organismes, un plus grand nombre d'entre eux auraient survécu plus longtemps aux températures à l'étude. Ainsi, des courbes générées couvriraient une

plus large zone de destruction à la chaleur. Cependant, comme l'un des buts était d'obtenir des résultats pertinents pour les transformateurs, on a choisi de sacrifier une partie des informations qu'on aurait pu générer si on avait plutôt privilégié l'acquisition de données exclusivement théoriques.

1.5.3 Expérimentation à quatre températures seulement

Les quatre températures de traitement thermique utilisées au cours de l'étude sont 58°C, 60°C, 62°C et 64°C. Il eut été possible d'expérimenter à une température plus basse, telle que 57°C par exemple, ou de vérifier ce qui se passait à 61°C. Cependant, dans les conditions où s'est déroulée l'expérience, il eut fallu beaucoup trop de temps pour recueillir ces données supplémentaires. En effet, la contrainte «temps» était un facteur limitant puisque toutes les manipulations, à une température d'expérimentation donnée, devaient être effectuées à l'intérieur d'une même journée, en raison de la multiplication bactérienne. On a donc choisi de se limiter à expérimenter avec quatre températures de traitement.

1.5.4 Expérimentation avec un seul crustacé

L'étude s'est limitée à une espèce de crustacé, soit le homard. Il eut été intéressant d'explorer l'ampleur de la résistance qu'un choc thermique aurait provoqué dans du crabe ou de la crevette. Cependant, les coûts associés à l'addition d'un ou de deux autres

crustacés dépassaient de beaucoup les ressources financières disponibles pour la présente étude. Il ne sera donc pas possible de généraliser les résultats à d'autres aliments bien que l'étude du crabe, de la crevette ou d'autres denrées alimentaires tel que le lait aurait pu donner des résultats intéressants.

1.5.5 Nombre de répliques

À chacune des quatre températures de traitement thermique retenues, on analysa 13 boîtes de homard. On analysa également 13 boîtes d'échantillons témoins à chaque fois qu'on faisait un traitement thermique à une différente température, ce qui fait 26 répliques à chacune des quatre températures étudiées. Le nombre d'échantillons retenus lors de cette étude, soit 13 pour les boîtes expérimentales et 13 pour les boîtes témoin, représente la limite inférieure du nombre obtenu avec une formule statistique utilisée pour calculer la taille d'un échantillon (Friedman, Fuberg et DeMets, 1985). Un plus grand nombre de répliques aurait peut-être donné plus de force à l'étude. Cependant, les fonds requis pour un tel ajout de boîtes de homard n'étaient pas disponibles.

1.5.6 Souches expérimentales vs souches réelles

La présente étude s'est effectuée avec 5 types de souches expérimentales. Ces dernières provenaient du Ministère de la Santé

et du Bien-Être Social Canada. Dans le cadre de la présente étude, les souches expérimentales représentaient le plus près possible les souches réelles du LM. Une des propriétés des souches expérimentales est qu'elles perdent de leur pathogénicité en laboratoire donc ne se comportent pas comme si elles étaient dans leur habitat naturel ce qui auraient pu produire des résultats différents.

Les limites sus mentionnées invitent le lecteur à ne pas interpréter les résultats de cette étude hors de son contexte. Elles ne portent cependant pas atteinte à sa valeur scientifique. Ces limites sont liées, en partie, aux ressources limitées pour effectuer l'étude, ainsi qu'au désir de générer des données utiles à l'industrie du homard. Avec plus de temps et avec davantage de ressources financières, il eut été intéressant d'étudier plus d'un produit et d'explorer plusieurs autres températures de traitement thermique.

CHAPITRE II

RECENSION DES ÉCRITS

Pour que l'industrie alimentaire puisse mieux contrôler la présence des cellules de *Listeria monocytogenes* (LM) dans divers produits, il est avantageux de mieux connaître le mécanisme d'action du LM dans diverses conditions environnementales. Depuis une quinzaine d'années, de nombreux chercheurs ont tenté de se familiariser avec le patron de reproduction et certaines des caractéristiques de ce micro-organisme.

À partir de la documentation recueillie, ce chapitre résume d'abord l'ensemble des facteurs connus portant sur les caractéristiques spécifiques de LM. Suite à cette recension des écrits, on présente les bases théoriques de cette recherche ainsi que les hypothèses à vérifier.

2.1 Recension des écrits

Afin de mieux saisir les fondements scientifiques de cette étude, les aspects suivants seront passés en revue :

1. Nature et caractéristiques du LM
2. Fréquence de contamination des aliments par le LM
3. Terminologie reliée aux traitements thermiques
4. Résistance thermique du LM
5. Phénomènes entourant le choc thermique

6. Effet de la congélation sur les cellules du LM.

2.1.1 Nature et caractéristiques du *Listeria monocytogenes* (LM)

Identifié comme Gram positif et catalase positif, le micro-organisme appelé *Listeria monocytogenes* (LM) a la forme d'une bacille et ne forme pas de spores (Donnelly et Briggs, 1986). Selon Wehr (1987), la première apparition du *Listeria* remonte à 1891. Cependant, ce micro-organisme a seulement été reconnu comme un pathogène au début des années 1980. En raison des conditions qui influencent sa croissance et sa survie, le LM est devenu depuis un des micro-organismes les plus problématiques.

Parmi les principaux facteurs qui affectent la croissance du LM, on retrouve la température, le pH, le degré de salinité, l'atmosphère ambiante et la présence de certains composés chimiques (Doyle, 1988).

Le LM est un des rares micro-organismes qui peut croître à la température d'un réfrigérateur, soit entre 0 et 3°C. Sa croissance optimale se situe entre 30°C et 37°C (Seelinger, 1961; Wilkins, Bourgeois et Murray, 1972). Selon Huang, Yousef, Marth et Matthews (1992), le LM est relativement tolérant à la chaleur élevée.

Peu de micro-organismes peuvent croître à un pH inférieur à 5,6.

Cependant, les études effectuées par Conner, Brachett et Beuchat (1986) démontrent que le LM peut croître à un pH aussi bas que 5,0. Selon Seelinger (1961), ce micro-organisme tolère également bien un pH alcalin, et peut même croître dans un milieu liquide où le pH est aussi élevé que 9,6. Un autre trait distinctif du LM c'est qu'il peut croître dans une solution NaCl allant jusqu'à 10% (Seelinger, 1961).

2.1.2 Fréquence de contamination des aliments par le LM

Au cours des quinze dernières années, le micro-organisme pathogène LM a été impliqué dans plusieurs cas de listériose. Un incident survenu aux Provinces atlantiques, plus précisément à Halifax, a fait 41 victimes. Sept adultes et 34 foetus ont été atteints, et de ce nombre, 18 personnes ont perdu la vie (Schlech et al., 1983). La listériose frappe surtout les foetus humains, les personnes âgées et les gens dont le système immunitaire est déficient. Parmi les symptômes de la listériose, on retrouve la méningite, les infections du système nerveux et la septicémie. La listeriose cause souvent la mort subite des nouveau-nés, ainsi que des fausses couches et des naissances prématurées (Ministère de la Santé et du Bien-Être Santé Canada, 1990). Le taux de fatalité est élevé puisque 30% des gens infectés par le micro-organisme en meurent (Lund, 1990). Aux États-Unis, en plus des malaises physiques et des mortalités rapportées, la listériose occasionne des pertes s'élevant à 313 millions de dollars annuellement pour les coûts reliés aux soins et

en divers types de dépenses (Todd, 1989).

Jackson et al. (1993) rapportent que le LM est un organisme que l'on retrouve presque partout. Il y en a dans le sol, les matières fécales d'animaux, les égouts, l'eau, la poussière et la végétation en état de putréfaction.

Une étude a démontré que des cellules du LM se retrouvent dans divers aliments tels que les produits laitiers, la viande, la volaille, les produits à base d'oeufs, les légumes ainsi que les fruits de mer (Farber et Peterkin, 1991). Ces chercheurs ont démontré que 15 des 113 échantillons de fruits de mer prêts-à-manger provenant de divers pays étaient contaminés par le LM. D'autres chercheurs rapportent que 15 des 57 échantillons de produits marins de divers pays étaient contaminés par le LM (Weagant et al., 1988). Parmi les échantillons positifs, on trouvait des crevettes, de la chair de crabe, des queues de homard, des langoustines, des pétoncles, du calmar et des produits à base de surimi. Selon d'autres enquêtes réalisées par Dillon et Patel (1992), 26% des fruits de mer congelés contenaient des cellules du LM. Une autre recherche a porté sur l'analyse d'aliments entreposés dans le réfrigérateur de patients atteints de listériose (Pinner et al., 1992). Les résultats indiquent que le LM était présent dans 79 de ces 123 aliments, ce qui représente une incidence de 64%. Certains chercheurs vont jusqu'à dire que le LM se retrouve dans presque tout milieu humide qui contient assez de nutriments pour la croissance microbienne (Cox et al., 1989).

Czuprynski (1994) affirme qu'en raison de la norme de tolérance zéro, adoptées par le FDA, les transformateurs subissent d'énormes pertes financières à cause de la listériose. Lorsqu'il y a une contamination par le LM, l'industrie doit s'occuper elle-même des coûts du rappel, de la destruction du produit, de la perte de ventes, de l'identification de la source de contamination, du nettoyage, des changements dans le calendrier de production, des poursuites judiciaires, de la perte de produits et des horaires de travail interrompus (Miller, Smith et Somkuti, 1990). Cependant, il est difficile de dénoncer les exigences du FDA, vu la résistance exceptionnelle du LM et les risques qu'il pose pour la santé (Farber, 1993; Czuprynski, 1994). Selon plusieurs spécialistes, la politique qu'adopte le FDA concernant la réglementation à propos du LM n'est pas trop sévère, vu la présence très répandue du LM dans l'environnement et dans les aliments (Gray et Killinger, 1966; Johnson, Doyle et Cassens, 1990; Pearson et Marth, 1990; Farber, Sanders et Johnston, 1989). En effet, les études de Buchanan, Stahl, Bencivengo et Del Corral (1989) ont démontré que les fruits de mer sont au deuxième rang en terme d'incidence de contamination, avec 26% de fréquence pour le *Listeria*. Ce sont les viandes qui occupent le premier rang.

Plusieurs transformateurs Néo-Brunswickois ont vu leurs crustacés être mis sous détention par le FDA à cause de la présence de LM. Parmi les produits retournés, on retrouve le crabe cuit congelé en

boîtes (FDA, 1991), les crevettes cuites congelées en boîtes, la chair de crabe fraîche, le saumon fumé, le homard congelé en boîte, le simili pétoncle et d'autres produits à base de surimi (Anonymous, 1988). Puisque le LM est particulièrement résistant à divers moyens de contrôle microbien, la lutte contre ce micro-organisme demande une attention particulière de la part des transformateurs, s'ils veulent prévenir sa croissance et assurer sa destruction dans leurs produits (Doyle, 1988). L'exigence sévère adoptée par le FDA, soit une tolérance de zéro LM dans tout produit prêt-à-manger, force les transformateurs de crustacés à complètement éliminer ce micro-organisme de tout produits précuits. Il faut arriver à complètement détruire le LM si l'on veut à l'avenir éviter tout autre incident de listériose (Hardin, Williams et Harrison, 1993).

2.1.3 Terminologie liée aux traitements thermiques

Étant donné que la réfrigération n'empêche pas la croissance du LM, le traitement thermique est presque indispensable au contrôle du LM dans les aliments (Mackey et Bratchell, 1989). Selon ces chercheurs, pour donner à un traitement thermique le qualificatif de *sécuritaire*, il faut être en mesure de justifier la fiabilité des données d'un tel traitement. Pour établir la fiabilité d'un produit, on se base sur un certain nombre de paramètres.

La valeur D est une mesure utilisée lors d'une étude thermique pour évaluer l'inactivation des micro-organismes par la chaleur. La

valeur D, appelée en anglais «décimal réduction time», est la durée en min du chauffage nécessaire, à une température donnée, pour réduire le nombre de micro-organismes de 90% (Atlas, 1984). En utilisant la valeur D à différentes températures, il est possible de construire une courbe thermique et de calculer une valeur qu'on dénomme valeur z.

La valeur z décrit le changement de température nécessaire, en °F, pour réduire la valeur D (temps d'exposition) d'un facteur de 10, tout en atteignant le même degré d'efficacité dans l'élimination du micro-organisme. La valeur D est utilisée pour calculer une autre valeur nommée la valeur F.

La valeur F est le temps d'exposition requis à 250°F (en min), à une température spécifique, pour détruire un nombre spécifique de spores ou de cellules végétatives à une valeur z donnée. En connaissant les valeurs D, z et F, il est possible d'identifier la durée du traitement thermique nécessaire pour détruire les microbes d'un produit spécifique à une température donnée.

Un exemple permet de mieux comprendre l'interrelation des paramètres D et F. Des données de recherche ont établi que les aliments non acides, lorsque mis en boîte, ont besoin d'un procédé 12D pour éliminer le microorganisme pathogène *Clostridium botulinum*. Si sa valeur F est de 0,21 min à 250°F, ceci signifie qu'il faut 0,21 min pour diminuer de 90% la population de *C. botulinum* en

chauffant à la température de 250°F. Puisqu'on estime qu'il peut y avoir jusqu'à $1,0 \times 10^{12}$ micro-organismes par gramme, et qu'un D diminue la population de 90%, ceci signifie qu'il faut chauffer le produit pendant 2,52 min ($12 D \times 0,21 \text{ min}$) pour assurer la stérilité commerciale du produit.

Pour détruire le LM dans les produits provenant d'établissements non conformes aux exigences des BPI, ou dans des produits provenant d'établissements où la présence du LM a été décelée lors d'échantillonnages environnementaux, le MPO oblige les transformateurs à se conformer à un procédé 7D. Les spécialistes qualifiés qui effectuent des études sur la distribution et la pénétration de la chaleur doivent élaborer leurs recommandations de traitement à partir des critères suivants: (1) procédé 7 D; (2) une valeur z de 7°C; (3) une valeur D_{70} de 7,5 s. C'est ce qui est stipulé au Tableau A du MPO (Ministère des Pêches et des Océans Canada, 1990b). Bien que plusieurs autres recommandations existent pour le traitement thermique, il a été décidé que pour la présente recherche, on se baserait sur les recommandations présentées au tableau A du MPO (Ministère des Pêches et des Océans Canada, 1990b). Puisque le but de la présente étude est de vérifier si un choc thermique infligé aux cellules de LM augmente leur résistance thermique lors d'un traitement thermique subséquent, il est évident que pour mesurer cet effet, il faudra inoculer des cellules du LM dans les échantillons.

2.1.4 Résistance thermique du LM

Selon Huang et al. (1992), le LM semble plus résistant à la chaleur que les autres micro-organismes pathogènes ne formant pas de spores. Plusieurs études ont été effectuées sur des produits laitiers pour déterminer le degré de résistance des cellules du LM lors des traitements thermiques. Cependant, il existe encore peu d'information sur la résistance thermique du LM dans la viande et dans les fruits de mer (Budu-Amoako, Toora, Walton, Ablett et Smith, 1992).

Selon des études effectuées par Farber (1989), la valeur D de la viande hachée peut fluctuer de 1,01 min à 62°C, jusqu'à 13,18 min à 56°C. Et, selon Harrison (1990), cette valeur D peut varier de 2,61 min à 60°C, à 40,43 min à 53°C. En traitant du homard, Budu-Amoako et al. (1992) ont déterminé des valeurs D à 51,6°C, 54,4°C, 57,2°C, 60,0°C et 62,7 °C, et ils ont trouvé que ces valeurs D étaient de 97,0, 55,0, 8,30, 2,39 et 1,06 min, respectivement.

Plusieurs scientifiques ont démontré que le LM ne survit pas à un traitement thermique adéquat (Bradshaw et al., 1985; Donnelly, Briggs et Donnelly, 1987; Farber, 1989, Farber et Peterkin, 1991). Cependant, certains facteurs environnementaux, tels qu'une forte concentration de NaCl, un choc thermique antérieur ou une certaine teneur en gras dans le produit, peuvent augmenter la résistance thermique des cellules du LM. Il y a beaucoup de divergence dans les

résultats publiés à ce sujet où l'on décrit la résistance des micro-organismes au stress. Selon Ben Embarek et Huss (1993), ces écarts sont dus au fait que les modèles d'études ne tiennent pas compte de toutes les caractéristiques qui peuvent augmenter la résistance d'un micro-organisme.

L'incidence élevée du LM dans certains fruits de mer et sa grande résistance thermique font que l'on remet en question l'efficacité de certains traitements thermiques utilisés par l'industrie des fruits de mer (Ben Embarek, 1994). En plus du besoin évident de mieux connaître la résistance thermique du LM, il est également nécessaire de s'entendre sur ce qui constitue un traitement thermique adéquat pour un produit ayant subi un traitement particulier. Cependant, Ben Embarek (1994) pense qu'il est possible d'éliminer le LM, si on tient compte des facteurs qui augmentent sa résistance thermique.

La sévérité du traitement thermique à administrer à un aliment particulier est calculée à partir du danger associé au pathogène ainsi que du compte microbien dans cet aliment. Il y a cependant des limites à l'intensité de chaleur qu'on peut administrer. Une chaleur excessive affecte négativement les propriétés sensorielles et les nutriments des aliments. Il ne servirait à rien de produire des aliments qui, à cause de leurs défauts sensoriels, sont rejetés par un grand nombre de consommateurs (Mackey et Bratchell, 1989).

2.1.5 Phénomènes entourant le choc thermique

Plusieurs facteurs peuvent augmenter la résistance thermique du LM. Un facteur particulièrement inquiétant est celui du choc thermique (Lindquist et Craig, 1988). Puisque de nombreux procédés thermiques sont utilisés pour transformer les aliments, un problème particulier se pose si un micro-organisme pathogène a la capacité de développer une certaine résistance suite à un choc thermique (Food and Drug Administration, 1983).

Selon Schlesinger (1986), les cellules microbiennes acquièrent une résistance thermique additionnelle lorsqu'elles sont exposées à un environnement stressant, tel qu'une température située juste au dessus de leur température optimale de croissance. Cette résistance accrue des micro-organismes à un traitement thermique subséquent semble assez répandue. Elle a été observée chez les bactéries *Escherichia coli* (Tsuchido, Takano et Shibaski, 1974), *Enterococcus faecium* (Quintavalla, Campanini, et Miglioli, 1988) et *Listeria monocytogenes* (Quintavalla et Barbuti, 1989; Fedio et Jackson, 1989; Farber et Brown, 1990).

Le mécanisme expliquant l'augmentation de la résistance des micro-organismes soumis à un choc thermique est encore mal connu. Schlesinger (1986) postule que cette augmentation de résistance serait attribuable à la synthèse de protéines particulières, fabriquées suite au choc thermique. Fedio et Jackson (1989)

rapportent que lorsque les cellules du LM sont traitées thermiquement pendant 20 min à 60°C, le nombre de cellules survivantes par gramme est 10 000 fois plus élevé que la normale si ces cellules ont préalablement subi un choc thermique. Plusieurs autres chercheurs ont confirmé un tel phénomène (Farber et Brown, 1990; Stephens et Jones, 1993). Ils pensent que la chaleur endommage l'arrangement tridimensionnel des ribosomes des micro-organismes, ce qui entraîne une dissociation des ribosomes 70S en sous-unités 30S et 50S, favorisant ainsi une meilleure survie du LM lors du chauffage (Stephens et Jones, 1993; Schlesinger, 1986). En effet, pour des raisons encore mal connues, un choc thermique antérieur élève la température de dénaturation des ribosomes 30S. Ces ribosomes demeurent alors en état de participer aux métabolismes de biosynthèse et de régénération du LM. Cependant, lorsque les cellules du LM sont très intensément chauffées, leurs ribosomes atteignent un stade de dénaturation irréversible. Une perte de viabilité s'en suit, puisque les cellules ne peuvent plus synthétiser leurs propres protéines. D'autres recherches sont présentement en cours afin de déterminer quel serait le mécanisme responsable de la protection du sous-unité 30S puisque ce phénomène est encore très mal compris aujourd'hui.

Des recherches effectuées par Farber et Brown (1990) démontrent que des cellules de LM ayant subi un choc thermique à 48°C, pendant 30 à 60 min, contiennent encore une quantité substantielle de cellules survivantes, et cela, même après un traitement thermique à

une température aussi élevée que 64°C. Une autre étude effectuée par Bunning, Crawford, Tierney et Peeler, (1990) démontré qu'un choc thermique dans la zone de 42°C à 48 °C, pendant 5 à 60 min, augmente la valeur de $D_{57,8^{\circ}\text{C}}$ de 1 à 3 min. Fedio et Jackson (1989) ont obtenu des résultats encore plus significatifs, soit une augmentation de 4,3 min de la valeur $D_{60^{\circ}\text{C}}$. Linton, Pierson et Bishop, (1990) postulent que dans le cas du LM, pour déclencher une résistance thermique optimale, il faut un choc thermique d'une durée de 20 min à 48°C. Ces chercheurs rapportent que la valeur de $D_{55^{\circ}\text{C}}$ était de 8,3 min pour les cellules qui n'ont subi aucun choc thermique et de 18,6 min pour les cellules ayant subit un choc thermique à 48°C pendant 20 min. Selon Farber et Brown (1990), la température du choc qui induit une augmentation de résistance se situe entre 44°C et 48°C. Knabel, Walker, Hartman et Mendoca, (1990) ont démontré que plus le choc thermique est long, plus la résistance du LM est grande. Un choc de 30 à 60 min à 43°C donne plus de protection qu'un choc de 5 min seulement. Cependant, les résultats de certaines recherches sur la résistance thermique accrue sont très controversés. Lorsque les cellules de LM subissent un choc thermique, certains chercheurs notent une augmentation de 2 cycles logarithmiques dans leur résistance thermique (Bunning et al., 1990; Farber et Brown, 1990; Knabel et al., 1990; Northalt et al., 1988).

Afin d'éviter qu'un choc thermique ne se produise involontairement en usine, une attention particulière doit être accordée à tous

réchauffements prenant place, ainsi qu'aux procédures de travail adoptées par les employés. À la lumière des nouvelles connaissances que l'on vient de présenter, il est important de prévenir tout réchauffement qui pourrait augmenter la résistance du LM. Ce n'est que de cette manière que les usines arriveront à administrer des traitements thermiques fiables (Linton et al., 1992).

2.1.6 Effets de la congélation sur les cellules du LM

La congélation est un procédé de conservation très répandu dans l'industrie alimentaire. Elle est utilisée pour minimiser la détérioration des aliments, facteur économique important, et pour réduire ou faire cesser l'activité des micro-organismes pathogènes, élément important pour la santé des consommateurs (El-Kest et Marth, 1992). Par rapport à la réfrigération, la congélation à -10°C ou plus froid augmente la vie de tablette des aliments de 5 à 50 fois (Ciobanu, 1976).

Selon El-Kest et Marth, (1992), la congélation endommage les micro-organismes. Lors du gel, des cristaux de glace se forment dans les aliments et des interactions importantes surviennent entre les molécules d'eau et certains aspects de leur environnement. La température de congélation ainsi que le type et la quantité de solutés sont des facteurs importants qui contrôlent la grosseur des cristaux de glace, leur nombre et leur emplacement. Ces facteurs, à leur tour, influencent l'étendue des dommages infligés aux cellules

microbiennes durant la congélation (El-Kest et Marth, 1992). Une congélation lente favorise la croissance de gros cristaux extra cellulaires. La phase aqueuse devient alors hypertonique et l'eau se déplace de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule, un phénomène conduisant à la déshydratation de la cellule (Mazure, 1966). La congélation est dite «lente» s'il faut plus de 30 min pour qu'une suspension des micro-organismes passe de 0°C à -4°C (Gaman et Sherrington, 1990).

Le fait que l'on retrouve du LM dans les produits congelés prouve que la congélation n'a pas d'effet létal sur toutes les cellules microbiennes (Sneath, Mair, Sharp et Holt, 1986). Une enquête effectuée par Weagant et al. (1988) démontre la présence du *Listeria* dans les fruits de mer congelés. Depuis 1987, le FDA a détenu et condamné une quantité importante de fruits de mer congelés qui étaient contaminés par le LM et cela, malgré qu'ils aient subi une certaine période d'entreposage congelé (Anonymous 1993a; 1993b; 1993d). Le *Listeria* a été isolé dans des produits congelés tels que les queues de homard, la crevette et le poisson entier ou en filet (Noah, Perez, Ramos, Mckee et Gipson (1991). Une étude effectuée par El-Kest et Marth, (1992) a démontré qu'une congélation de huit semaines à -18°C diminue la quantité du LM de 1000 fois. Par contre, les chercheurs Lammerding et Doyle (1990) rapportent qu'une congélation de cinq mois à -18°C n'a aucun effet sur la population du LM. Les différences dans ces résultats de recherche sont peut-être attribuables aux variations dans les conditions d'études (El-Kest et

Marth, 1992). En effet, lors de la congélation, l'ambiance fournie par les aliments eux-mêmes est généralement plus protectrice pour le LM que ne le sont les milieux artificiels et les solutions préparées en laboratoire.

2.2 Cadre de la recherche et hypothèses

Cette recherche est basée sur la prémisse que lorsque les cellules du LM sont exposées à des températures variant entre 42°C et 52°C, elles augmentent leur résistance à la dénaturation lors de traitements thermiques subséquents (Farber et Brown, 1990). Cette préexposition constitue un choc thermique pour les cellules du LM, et leur résistance augmente de trois log ou plus (Fedio et Jackson, 1989).

Beaucoup de questions demeurent en suspens quant au mécanisme qui expliquerait l'augmentation de la résistance des cellules ayant subi un choc thermique. On sait qu'en laboratoire, un choc thermique préalable à un traitement thermique a un impact réel, ce qui a été confirmé par plusieurs chercheurs (Farber et Brown, 1990; Linton, 1992). Par contre, on ne connaît pas encore quel serait l'effet d'un choc thermique généré involontairement à des endroits d'usine où il se dégage de la chaleur.

Dans plusieurs usines de transformation de poisson, il est possible qu'un choc thermique puisse se faire de façon involontaire. En usine,

il existe des endroits où la chair de crustacé peut être exposée à des températures de l'ordre de 42 à 48°C (zone de température où l'on a démontré le développement d'une résistance accrue du LM à la chaleur). Cette condition peut provenir d'une cuisson insuffisante ou d'équipements qui dégagent de la chaleur et qui sont en contact avec de la chair de crustacé. Une étude effectuée au Centre de recherche sur les aliments (CRA) de l'Université de Moncton (Cormier, Chiasson et Malouin, 1993) a démontré qu'aux zones de basses températures de traitement thermique recommandées au tableau A du MPO (Ministère des Pêches et des Océans Canada, 1990b), les cellules du LM n'étaient pas toutes détruites. D'après les résultats obtenus par plusieurs autres chercheurs, la situation pourrait s'expliquer par le fait que certaines cellules de LM avaient préalablement reçu un choc thermique. Les constatations faites par Cormier et al. (1993) permettent de s'interroger sur la capacité de l'actuel tableau A du MPO d'assurer qu'une chair de homard ainsi chauffée en usine soit totalement dépourvue de LM. De plus, des observations non publiées faites par l'auteure (D. Losier) démontrent que l'équipement fréquemment utilisé pour séparer la chair de homard de sa carapace génère suffisamment de chaleur pour infliger un choc thermique aux cellules de LM qui se trouveraient présentes.

Un autre principe sur lequel s'appuie la présente recherche, c'est que bien des micro-organismes résistent à la congélation. El-Kest, Yousef et Marth, (1991) postulent que le LM est extrêmement résistant à la congélation. Selon eux, si un produit contaminé par le

LM est congelé, l'entreposage congelé au cours d'un mois ne détruira ou n'endommagera pas plus que la moitié des cellules du LM et les autres survivront. Ce phénomène est très plausible puisque, de 1986 à 1989, le micro-organisme LM a causé de graves problèmes à l'industrie de la crème glacée (Ryser et Marth, 1991). De plus, les inspecteurs du FDA trouvent régulièrement du *Listeria* dans les fruits de mer congelés (Anonymous, 1993a).

2.3 Hypothèses de recherche

Comme il a été mentionné lors de la recension des écrits qui précède, le comportement du LM face à divers facteurs environnementaux est encore mal connu et inquiétant. Il est donc très important d'en connaître davantage au sujet des possibilités de résistance de ce micro-organisme.

Les trois hypothèses vérifiées au cours de la présente étude sont énoncées ci-après.

Hypothèse 1 : Un choc thermique de 30 min à 48°C, est suffisant pour augmenter la résistance thermique du LM lors de traitements thermiques subséquents.

Hypothèse 2 : Les durées de chauffage proposées par le Ministère des Pêches et des Océans au tableau A pour les traitements thermiques entre 58°C et 64°C, ne

sont pas suffisamment longues pour détruire toutes les cellules du LM dans du homard qui auraient préalablement subi un choc thermique.

Hypothèse 3 : Le procédé de congélation du homard endommage les cellules du LM qui se trouvent présentes dans la chair.

Ces trois hypothèses sont fondées sur les diverses constatations rapportées lors de la recension des écrits. Elles feront l'objet des démarches de recherche qui sont présentées aux deux prochains chapitres.

CHAPITRE III

MÉTHODOLOGIE

3.1 Provenance de la chair de homard

Du homard vivant, pesant entre 300 et 350 g fut acheté et apporté au laboratoire du Centre de recherche sur les aliments (CRA). Il fut cuit à l'eau bouillante, sans sel, dans une grande marmite à vapeur, puis refroidi dans l'eau à 10°C pendant 10 min. Il fut ensuite entreposé à 4°C jusqu'au moment du décorticage. Une fois décortiqué, la chair fut traitée à 82,2°C pendant 1 s. Elle fut ensuite emballée en sacs de plastique contenant 320 g, recouverte d'une solution de 2,5% NaCl et congelée à -26°C.

3.2 Calcul de la taille de l'échantillon

C'est à partir d'une formule de Friedman et al. (1985) qu'on calcula le nombre de boîtes de homard qu'il fallait préparer pour obtenir des résultats valides. Cette formule est la suivante:

$$N = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \sigma^2}{\delta^2}$$

ou

- N = taille de l'échantillon
- Z = constante
- α = seuil significatif
- β = puissance
- σ = variance estimée
- δ = la différence minimum

Pour déterminer la taille de l'échantillon requise, on a fixé le seuil de signification à 0,05 (α) et la puissance à 80% (β). Quant à la variance estimée (σ^2) du nombre de LM présentes, elle a été obtenue à partir d'une étude de Cormier et al. (1993) où la résistance thermique du LM dans le homard avait été évaluée. Lors de l'étude de Cormier et al. (1993), cette variance était de 0,86. Pour affirmer qu'il y avait un changement appréciable dans les populations de LM, on a retenu une différence minimale de 1 \log_{10} de cellules de LM entre les boîtes ayant reçu le choc thermique et les boîtes témoin (non traitées). Les valeurs utilisées dans la formule pour calculer la taille des échantillons sont les suivantes:

$$N = \frac{2 (1,96+0,84)^2 \times 0,86}{1} = 13,48$$

Partant de ce calcul statistique de la taille de l'échantillon, on a fixé à 26 le nombre de boîtes de homard à utiliser pour chacune des températures d'expérimentation : 13 boîtes reçurent un choc thermique et 13 autres boîtes servirent de témoin.

3.3 Procédés du traitement et du dénombrement de *Listeria monocytogenes* (LM).

3.3.1 Mode de préparation des boîtes de chair de homard

On a rempli les boîtes avec la chair de homard congelée décrite précédemment. La chair de homard avaient été préalablement traitée à la chaleur pour assurer la destruction complète des micro-

organismes. Environ dix huit heures avant chaque essai, la quantité de chair requise pour l'expérimentation du lendemain était mise à décongeler à 4°C. Au jour de l'expérimentation, la chair de homard était emballée dans des boîtes de métal (no 404 x 206), munies d'un port d'entrée pour une sonde à thermocouple de type T. Le bout de la sonde était inséré au centre géométrique de la boîte. L'installation des thermocouples était effectuée conformément aux normes recommandées pour les études thermiques. Chaque boîte était remplie de 320 g de chair de homard, dont 34% provenait de la queue, 34% des pinces et 32% de morceaux divers. Chaque boîte contenait 140 mL d'une solution de 2,5% de NaCl. Le thermocouple utilisé pour mesurer la température interne était fixé dans une grosse queue de homard placée au centre de la boîte. Un fil de polyester était utilisé pour maintenir la queue bien fixée au thermocouple. Les boîtes étaient ensuite serties [Sertisseuse modèle HO, American Can Canada Inc. (Ball Packaging Co.)]. Chaque contenant était muni d'un second port d'entrée créé par une prise de thermocouple. Cette deuxième entrée était là pour permettre l'injection de l'inoculum de LM dans la boîte, au moment voulu.

3.3.2 Mode de chauffage des boîtes de homard

La température du choc thermique a été fixée à 48°C à partir des informations recueillies dans la littérature scientifique. Afin de s'assurer de la température interne exacte au moment du choc thermique, fixé à 48°C, ainsi qu'au moment du traitement thermique

subséquent, il fallait pouvoir déterminer la température en tout temps. Un thermocouple a donc été inséré au centre géométrique de chaque boîte. On a expérimenté l'effet du choc thermique à quatre températures : 58°C, 60°C, 62°C et 64°C. Vingt-six boîtes de homard ont été préparées et inoculées pour chacune des températures à l'étude. Treize des boîtes ont préalablement subi un choc thermique à 48°C. Les 13 autres boîtes ont servi de témoin. Les 26 boîtes ont été traitées selon la méthode couramment utilisée en usine. À l'aide d'une enregistreuse de données Doric 245 (Beckman Industrial, San Diego), l'augmentation de la température tout au long du procédé d'étude thermique a été constamment enregistrée.

3.3.3 Préparation de l'inoculum de LM

Cinq souches de *Listeria monocytogenes* (LM) ont été utilisées pour inoculer la chair de homard. Chaque inoculum était composé des souches suivantes: (1) HPB #4 (V7, lait, 1c); (2) Scott A (patient); (3) HPB #563 (viande hachée, 1/2b); (4) HPB #395 (Ker Noella brie, 1/2b); (5) HPB #397 (Alfalfa, 4b). Toutes les souches provenaient du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada (Sir Frederick G. Banting Research Centre, Tunney's Pasture, Ottawa, Canada). Chaque inoculum a été préparé conformément à la méthode recommandée pour les études thermiques (Brown, 1991). Pour qu'une étude thermique soit fiable, l'inoculum doit être composé d'au moins cinq souches différentes de micro-organismes, en quantité égale. De

plus, l'inoculum ne doit pas dépasser 1% du poids total du produit (Brown, 1991). Cette dernière exigence a été observée.

Dès leur réception au CRA, les cinq souches du LM ont été entreposées sur des pentes de gélose *Tryptycase soya agar* (TSA). Avant chaque étude thermique, les cinq souches de *Listeria* ont été transférées dans un bouillon de appelé *Tryptycase soya broth* contenant 0,5% d'extrait de levure (TSB+YE). Par la suite, ces souches ont été incubées à 35°C pendant 24 h, puis repiquées dans le TSB+YE une deuxième fois et réincubées à 35°C pendant un autre 24 h. Deux millilitres de chaque souche ont ensuite été mélangés ensemble et centrifugés à 1900 X g pendant 30 min. Après la centrifugation, chaque culot a été suspendu dans 10 mL d'eau peptonée à 0,1% (p/v), et par la suite transféré dans 90 mL d'eau peptonée à 0,1% (p/v). Une concentration de 10^9 cellules par millilitre a été ainsi obtenue. Des dilutions ont ensuite été effectuées en tenant compte du volume de la chair de homard afin d'obtenir la concentration de cellules voulue de 10^4 cellules par gramme de chair de homard dans les boîtes suite à l'inoculation.

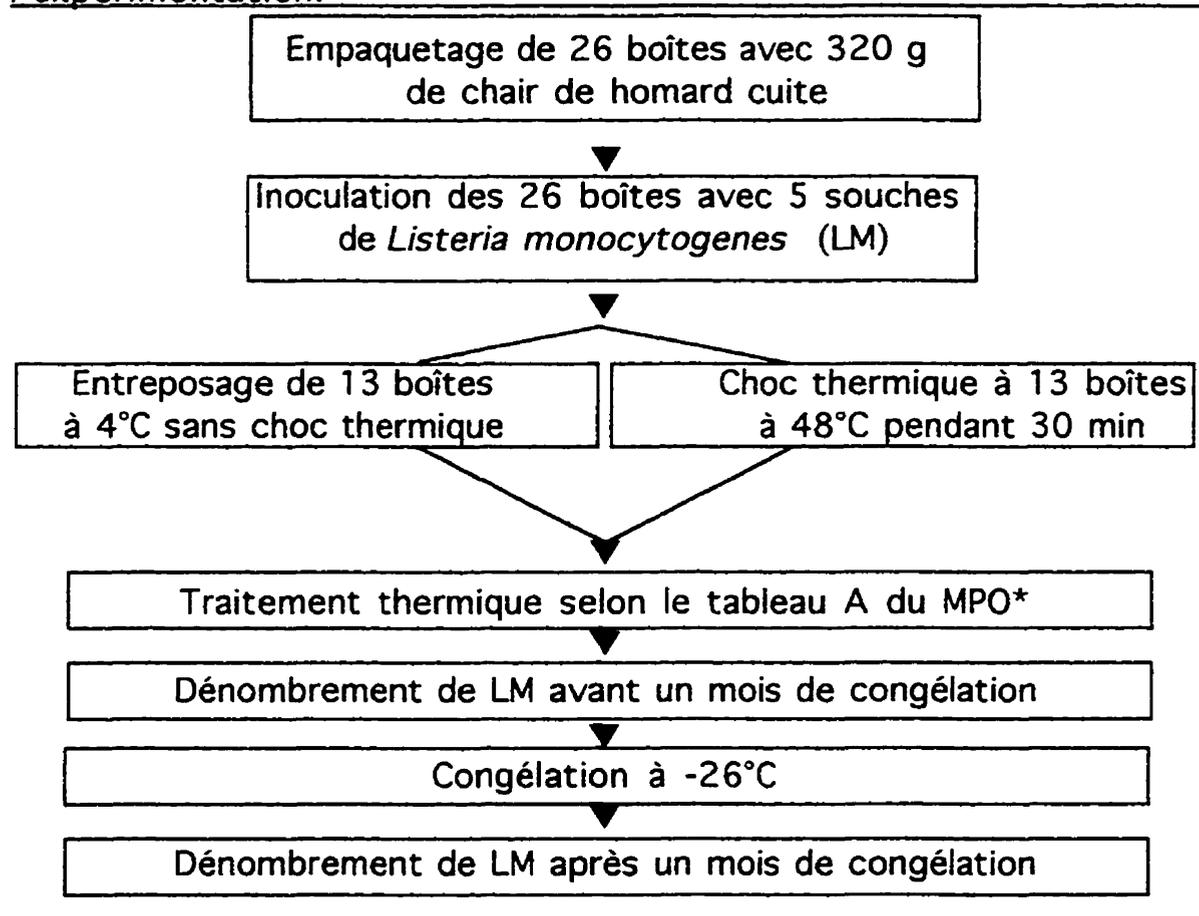
3.3.4 Mode d'inoculation des échantillons

Avant de procéder à l'inoculation, les boîtes furent placées dans un bain d'eau chaude jusqu'à ce que leur température interne atteigne 46°C, ceci pour diminuer le temps requis avant d'atteindre le 48°C visé. À l'aide d'une seringue, 1 mL d'inoculum a été injecté par le

port d'entrée de la boîte, dans la chair de homard. L'injection fut faite dans la queue, au centre géométrique de la boîte. Après l'inoculation, environ 9 mL de saumure ont été rajoutés à chaque boîte par le port d'entrée du thermocouple placé là, à cette fin.

3.3.5 Grandes lignes du procédé de traitement thermique

La figure 1 résume les grandes lignes du procédé suivi lors de l'expérimentation.



* On exécuta ce même traitement thermique aux quatre températures suivantes: 58, 60, 62 et 64°C.

Figure 1. Grandes lignes du procédé de traitement thermique.

3.3.6 Mode d'administration du choc thermique

Pour chacune des températures de traitement thermique à l'étude, 13 boîtes de homards étaient placées dans un bain d'eau muni d'un dispositif pour la circulation (Tecator, modèle 1024) et réglé à une température de 48°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$). Lorsque la température de la chair de homard atteignait 48°C, les boîtes étaient chauffées durant 30 min. Pendant toute la durée de l'administration du choc thermique, la température de la chair de homard était enregistrée au moyen d'une enregistreuse de données Doric 245 (Beckman Industrial, modèle 245). Une fois les 30 min écoulées, les échantillons de homard étaient entreposés à 4°C pendant 2 h. Une période d'entreposage plus longue que celle-ci aurait diminué légèrement la résistance thermique du LM (Farber et Brown, 1990).

3.3.7 Application du traitement thermique

À chacune des quatre températures de traitement thermique réalisées, 13 échantillons ayant reçu au choc thermique et 13 échantillons témoins étaient utilisés. Ces 26 échantillons étaient soumis traitement thermique pendant la durée de temps indiquée ci-après, soit celle spécifiée au tableau A du MPO (1990b) :

1. 58°C pendant 45 min 19 s;
2. 60°C pendant 23 min 28 s;
3. 62°C pendant 12 min 9 s;
4. 64°C pendant 6 min 18 s.

Afin de réduire le temps nécessaire pour atteindre les températures désirées et pour simuler de plus près les procédures industrielles, les échantillons étaient submergés dans un bain d'eau circulant (Blue M, Electric Co., Illinois) dont la température était supérieure de 10°C à la température interne désirée pour le produit. Pour étudier la pénétration de la chaleur dans les boîtes métalliques, chaque thermocouple utilisé était relié à une enregistreuse de données (Beckman Industrial, modèle 245). Lorsque la température interne atteignait 10°C de moins que celle visée pour le centre de la boîte de homard, les échantillons étaient transférés dans un autre bain d'eau circulant (Tecator, modèle 1024) précis à $\pm 0,5^\circ\text{C}$ réglé à la température interne visée pour le traitement thermique. Une fois que les échantillons avaient atteint la température de traitement désirée, et y étaient demeurés pendant la durée de temps exigée par les procédés de traitement thermique du tableau A du MPO, ils étaient immédiatement submergés dans un bain d'eau froide (0°C) pendant environ 15 min, puis réfrigérés à 4°C pendant 2 h.

3.3.8 Dénombrement du LM

Une fois les 2 h d'entreposage à 4°C écoulés, le homard était retirée de la boîte et placé dans un sac à Stomacker stérile. La chair était déchiquetée à la main jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène et exempt d'air. La moitié de la chair était congelée à -26°C et l'autre moitié était analysée immédiatement. Les étapes ci-après décrivent la procédure de préparation les échantillons pour

l'incubation et pour faire le compte des cellules du LM.

Étape 1 Mélanger au Stomacker 100 g de chair déchiquetée dans 300 g d'eau peptonée à 0,1% (p/v).

Étape 2 Verser 40 mL du mélange obtenu à l'étape 1 dans une bouteille à dilution contenant 60 mL d'eau peptonée à 0,1% (p/v) (dilution 10^{-1}).

Étape 3 Verser 10 mL de la dilution 10^{-1} dans 90 mL d'eau peptonée à 0,1% (p/v)(dilution 10^{-2}).

Étape 4 Verser 10 mL de la dilution 10^{-2} dans 90 mL d'eau peptonée à 0,1% (p/v) (dilution 10^{-3}).

Étape 5 Préparer deux plats de Pétri TSA+YE pour chaque bouteille à dilution. Déposer dans chaque plat, 0,5 mL des dilutions 1, 2 et 3, et faire sécher dans une hotte.

Étape 6 Incuber les plats de Pétri pendant 72 heures à 35°C.

Étape 7 Faire le compte des colonies dans les plats de Pétri.

Étape 8 Confirmer que les colonies sont réellement constituées de cellules de LM au moyen du système Vitek Jr.

(Biomérieux Vitek, Inc. Hazelwood Miss.)

3.4. Détermination de la présence ou absence de LM

Pour confirmer l'absence ou la présence d'au moins une cellule de LM par 100 g de chair, on utilisait la méthode adoptée par le Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada (1992). L'utilisation du bouillon Fraser faisait partie de la démarche. Afin de s'assurer que

les réponses positives obtenues par cette méthode étaient bien dues à la présence de *Listeria monocytogenes*, on poursuivait l'essai jusqu'à l'identification de ce micro-organisme au moyen du système d'analyse Vitek Jr. (Biomérieux Vitek, Inc. Hazelwood Miss.).

3.5 Détermination du nombre de cellules de LM

La méthode de Brown (1991) est utilisée pour (1) indiquer la présence ou l'absence de LM et (2) faire le dénombrement des cellules de LM. Cette méthode ne requiert aucun processus d'enrichissement dans un bouillon et, par conséquent, elle capte moins bien les cellules endommagées. On peut donc utiliser la méthode de Brown (1991) pour obtenir le nombre de cellules de LM présentes et non pas seulement des renseignements sur sa présence ou son absence. La seconde méthode utilisée dans cette étude est celle du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada (1992). Elle comprend une période d'enrichissement dans un bouillon, ce qui est un moyen clé pour capter et pouvoir détecter les cellules de LM endommagées.

3.6 Analyses statistiques

Un programme informatisé SYSTAT (1992) a été utilisé pour réaliser les analyses statistiques. Le test de Fisher (Plus Petite Différence Significative) a été utilisé pour évaluer les différences significatives entre les moyennes. On a admis qu'un seuil de

signification empirique plus petit que 5% est statistiquement significatif. Les analyses ont été faites sur les données brutes.

CHAPITRE IV

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Ce chapitre présente les résultats qui sont ressortis de la partie expérimentale de cette étude qui s'est déroulée entre l'été et l'automne 1994.

En premier lieu, on rapportera les concentrations de *Listeria monocytogenes* (LM) introduites dans de la chair de homard lors des inoculations. En deuxième lieu, on présentera les patrons de montée de température lors du traitement thermique. Ceci sera suivi des données reliées au choc thermique et à son impact sur la survie des cellules de LM ainsi que sur le nombre d'échantillons positifs et négatifs par rapport à LM. Par après, on présentera les données reliées à l'effet de la congélation sur les cellules de LM. À la fin du chapitre, une section traitera de l'effet du choc thermique sur la valeur D du LM. Finalement, au chapitre de la conclusion, on résumera les grandes lignes de l'étude et on y fera ressortir les résultats majeurs.

4.1 Compte des cellules de *Listeria monocytogenes* (LM) utilisées pour inoculer la chair de homard

Pour démontrer l'effet d'un choc thermique sur la concentration des cellules du LM, on a dû reproduire d'assez près les conditions rencontrées en usine. Or, comme le compte de LM dans les produits marins est bas (Percudani et Gola, 1995), on a visé à inoculer la chair de homard avec des cellules de LM ne dépassant pas 10 000 par

gramme (4,0 exprimé en \log_{10}). Ceci fut fait dans le but d'utiliser les résultats de l'étude pour guider les transformateurs de crustacés. Il fallait donc s'assurer que le compte de LM introduit dans la chair de homard lors de l'inoculation ne soit pas trop élevé.

Le compte des cellules de LM inoculées a été vérifié de deux façons. Premièrement, à chaque session d'expérimentation où l'on a préparé un inoculum, une partie de celui-ci a été étalé sur une plaque de TSA+YE, et on en a fait le dénombrement. Le nombre de colonies exprimé en unités formant colonies (UFC) de LM par millilitre d'inoculum qui fut ainsi obtenu pour huit essais successifs est présentés au tableau 1.

Tableau 1.

Nombre de colonies de *Listeria monocytogenes* par mL d'inoculum préparé pour huit sessions d'inoculation.

| Session d'inoculation | Nombre de colonies de <i>Listeria monocytogenes</i> (\log_{10} (UFC/mL)) |
|-----------------------|---|
| 1 | 4,61 |
| 2 | 4,85 |
| 3 | 4,77 |
| 4 | 4,60 |
| 5 | 4,57 |
| 6 | 4,60 |
| 7 | 4,65 |
| 8 | 4,60 |
| Moyenne | 4,66 |
| Écart-type | 0,09 |

Les résultats de cette première méthode de vérification du nombre de cellules de LM dans un inoculum (tableau 1) indiquent que le mode de préparation de l'inoculum, tel que décrit dans la section de la méthodologie, donne un compte moyen de LM de $4,6 \times 10^4$ UFC/mL, valeur variant peu d'une session à l'autre, soit de $3,7 \times 10^4$ à $7,1 \times 10^4$ UFC/mL. Les valeurs présentées au Tableau 1 ont été transformées en \log_{10} .

Ces résultats s'accordent relativement bien avec la concentration de cellules de LM visée, soit 10^4 cellules par gramme de chair. L'obtention d'une concentration d'inoculum d'exactly 10^4 cellules par millilitre eut été très difficile, sinon impossible. Il faut se rappeler que pendant que l'on manipule les cellules de LM, celles-ci continuent à se reproduire, même à basse température, en raison du temps que l'on ne peut arrêter.

Une seconde vérification de la teneur en LM de l'inoculum fut faite lors du dénombrement de ce micro-organisme dans 12 boîtes de 320g de chair de homard, après qu'elles furent inoculées et exposées à un choc thermique. En plus d'estimer le compte de cellules dans l'inoculum, on voulait ainsi s'assurer qu'un choc thermique de 30 min à 48°C n'était pas létal pour toutes les cellules de LM. Douze boîtes de chair de homard ont donc été inoculées avec 1 mL de la suspension de cellules de LM préparée de la façon décrite dans la méthodologie. Comme ces boîtes de homard étaient remplies d'une chair de homard traitée à la chaleur pour inactiver toutes les cellules de LM, il n'y

avait donc au départ aucune cellule de LM. Tel que décrit préalablement, l'inoculum de 1,0 mL (environ $4,6 \times 10^4$ UFC/g de chair de homard) a été introduit dans la boîte au moyen d'une seringue. On a injecté la suspension de cellules dans une queue placée au centre géométrique de la boîte, puis on l'a scellée. Le contenu de la boîte a ensuite été soumis à un choc thermique de 48°C pendant 30 min. On a retiré la chair, on l'a rendue homogène, puis on a procédé au dénombrement des cellules de LM soumise à ce choc thermique. Les résultats apparaissent au tableau 2.

Tableau 2.

Compte de *Listeria monocytogenes* (LM) dans du homard inoculé avec 1 mL d'une suspension de LM puis exposé à 48°C pendant 30 min.

| Numéro de l'échantillon | Colonies de <i>Listeria monocytogenes</i> (log ₁₀ (UFC/g)) |
|-------------------------|---|
| 1 | 4,36 |
| 2 | 4,40 |
| 3 | 4,36 |
| 4 | 4,35 |
| 5 | 4,30 |
| 6 | 4,30 |
| 7 | 4,30 |
| 8 | 4,45 |
| 9 | 4,29 |
| 10 | 4,28 |
| 11 | 4,34 |
| 12 | 4,22 |
| Moyenne | 4,33 |
| Écart-type | ± 0,06 |

Comme on peut le constater au tableau 2, la quantité moyenne de colonies de LM retrouvées dans la chair de homard était de $2,1 \times 10^4$ UFC/g. Cette valeur est relativement près de la population moyenne de $4,6 \times 10^4$ UFC/mL contenue dans l'inoculum avant le choc thermique. La petite diminution du nombre de colonies observées pourrait être attribuée au chauffage des cellules. En effet, une petite quantité de cellules ont possiblement été endommagées lors du traitement à 48°C pendant 30 min. Ces cellules endommagées n'auraient pas été identifiées lors du dénombrement.

On peut conclure que les manipulations pour mélanger les cinq souches de LM, les dilutions et l'injection de l'inoculum dans la chair de homard n'ont pas apporté de variations marquées. Comme toutes ces démarches ont été faites avec grand soin, on peut donc se fier au procédé d'inoculation.

4.2 Temps de montée de la température lors du traitement thermique

La figure 2 illustre la variabilité du temps requis, en min, pour que les 26 boîtes de homard atteignent toutes la température visée au centre des boîtes, soit 58°C , 60°C , 62°C et 64°C . Il faut signaler qu'avant d'être mises dans le bain-marie, toutes les boîtes avaient été préalablement réchauffées jusqu'à ce qu'elles atteignent 10°C de moins que la température interne visée lors de l'expérimentation.

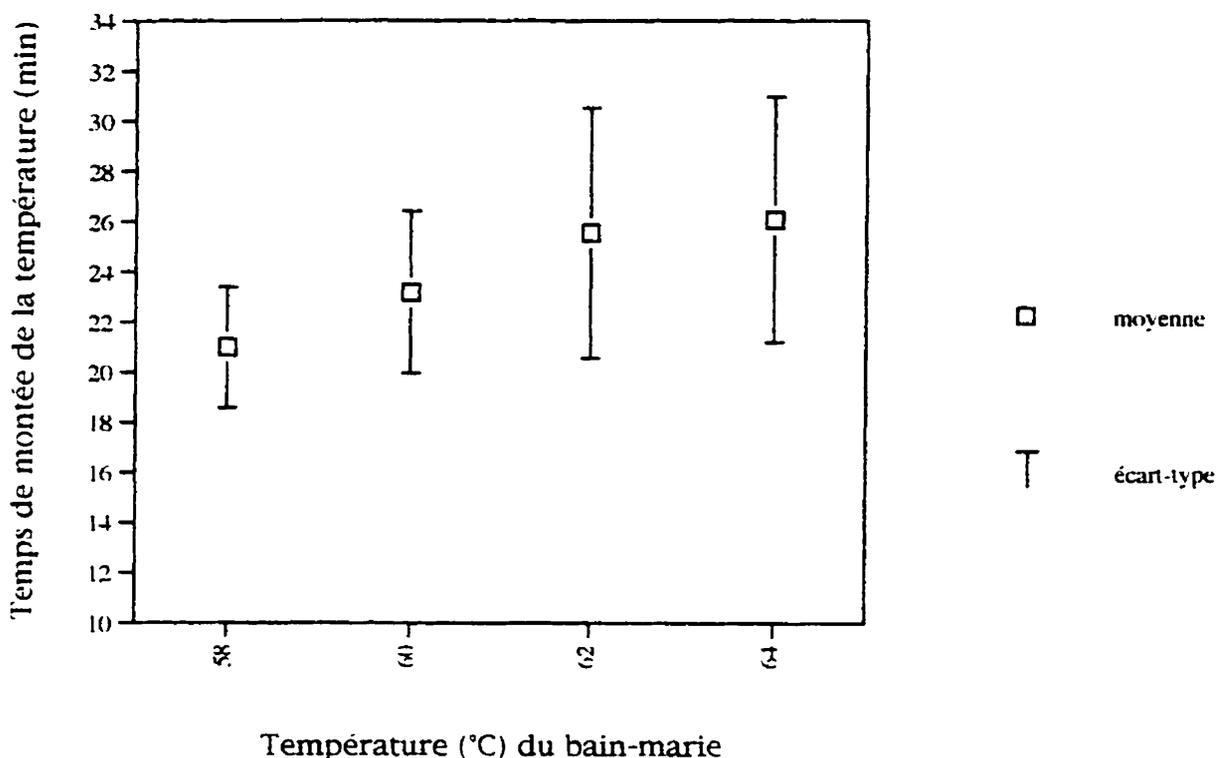


Figure 2. Temps moyen de montée de la température dans des boîtes de 320 g de chair de homard exposées à 58, 60, 62 et 64°C.

En observant la figure 2, on peut constater qu'il fallait, en moyenne, de 20 à 26 min de chauffage au bain-marie pour atteindre la température interne indiquée pour le traitement thermique tel que spécifié au tableau A du MPO (Ministère des Pêches et des Océans Canada, 1990b). Le patron de montée de la température est assez consistant, ce qui laisse croire que le procédé de chauffage des boîtes de homard s'est fait de façon relativement uniforme.

4.3 Survie du LM dans du homard préexposé à la chaleur

Dans cette section on présentera les résultats obtenues avec la chair de homard préexposée à la chaleur, puis analysée à l'état frais, avant qu'elle ne soit congelée. Les données sur la survie de LM dans des échantillons congelés seront présentés à la prochaine section.

Une fois les traitements thermiques terminés, on a retiré la chair de homard des boîtes, et on a fait, à partir des 13 boîtes préexposées à la chaleur et des 13 boîtes témoin, trois types d'analyses :

1. Détermination de l'absence ou de la présence de LM dans la chair selon la méthode de Brown (1991).
2. Détermination de l'absence ou de la présence de LM selon la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada, (1992)
3. Dénombrement des cellules ayant résisté au traitement thermique, selon la méthode de Brown (1991).

On présentera d'abord les données obtenues pour les deux méthodes pour évaluer la présence ou l'absence de LM dans les échantillons frais. On comparera ensuite les résultats de ces deux méthodes. Les données sur le dénombrement du LM seront présentées par après.

4.3.1 Survie de LM après préexposition à la chaleur selon une analyse utilisant la méthode de Brown

Le tableau 3 présente le nombre d'échantillons positifs et négatifs pour le LM selon la méthode de Brown (1991). Ces données ont été

obtenus sur des échantillons soumis à des traitements thermiques à 58, 60, 62 et 64°C. La moitié des échantillons avait préalablement été soumise à un choc thermique à 48°C pendant 30 min. L'autre moitié des échantillons servait de témoin non stressé par un choc thermique.

Tableau 3.

Nombre d'échantillons de homard positifs ou négatifs pour *Listeria monocytogenes*, selon la méthode de Brown, après chauffage entre 58 et 64°C, précédé ou non d'un choc thermique.

| Prétraitement administré | Traitement thermique (°C) | Réponse pour LM | | | | Seuil de signification |
|--------------------------|---------------------------|-----------------|----|----------|-----|------------------------|
| | | Positive | | Négative | | |
| | | No | % | No | % | |
| Aucun (témoin) | 58 | 2 | 15 | 11 | 85 | 0,041 |
| Choc thermique | 58 | 8 | 62 | 5 | 38 | |
| Aucun (témoin) | 60 | 1 | 8 | 12 | 92 | 0,160 |
| Choc thermique | 60 | 5 | 38 | 8 | 62 | |
| Aucun (témoin) | 62 | 0 | 0 | 13 | 100 | - |
| Choc thermique | 62 | 0 | 0 | 13 | 100 | |
| Aucun (témoin) | 64 | 0 | 0 | 13 | 100 | - |
| Choc thermique | 64 | 0 | 0 | 13 | 100 | |

En regardant de près le tableau 3, il est possible de constater qu'un choc thermique a un effet significatif sur la survie du *Listeria monocytogenes*. Cependant, cet effet est particulièrement évident

au traitement thermique de 58°C. En effet, à 58°C, 62% des échantillons ayant subi un choc contenaient des cellules vivantes de LM. Cependant, il y avait une diminution dans l'incidence de «positif» à la température de traitement de 60°C mais la différence n'atteignait que le seuil de signification de 0,16. Aux deux traitements thermiques les plus élevés, soit 62°C et 64°C, le choc thermique n'avait pas suffisamment augmenté la résistance des cellules pour prévenir leur destruction lors du traitement thermique.

On se rappellera que la concentration de cellules composant l'inoculum utilisé n'était, en moyenne que de $4,6 \times 10^4$ UFC/mL (voir le tableau 1) et ceci afin que le niveau de contamination simule le mieux possible les conditions en usine. Cependant, si une plus forte concentration de cellules de LM avaient été présentes dans l'inoculum, ceci aurait mené à un plus grand nombre de réponses positives entre 58 et 60°C et possiblement à 62 et 64°C.

4.3.2 Survie de LM après une préexposition à la chaleur analysé selon la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada

Le tableau 4 présente le nombre d'échantillons positifs et négatifs obtenus, cette fois-ci, avec la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada, (1992). Cependant, la chair de homard avait été soumise aux mêmes traitements thermiques et elle avait subi le même choc thermique préalable que la chair analysée selon la méthode de Brown (1991) et dont les résultats figurent au Tableau 3.

Tableau 4.

Nombre d'échantillons de homard positifs ou négatifs pour *Listeria monocytogenes*, selon la méthode conventionnelle de Santé et Bien-Être Social Canada, après un chauffage entre 58 et 64°C, précédé ou non d'un choc thermique.

| Prétraitement administré | Traitement thermique (°C) | Réponse pour LM | | | | Seuil de signification |
|--------------------------|---------------------------|-----------------|-----|----------|-----|------------------------|
| | | Positive | | Négative | | |
| | | No | % | No | % | |
| Aucun (témoin) | 58 | 4 | 31 | 9 | 69 | 0,000 |
| Choc thermique | 58 | 13 | 100 | 0 | 0 | |
| Aucun (témoin) | 60 | 0 | 0 | 13 | 100 | 0,096 |
| Choc thermique | 60 | 4 | 31 | 9 | 69 | |
| Aucun (témoin) | 62 | 0 | 0 | 13 | 100 | - |
| Choc thermique | 62 | 0 | 0 | 13 | 100 | |
| Aucun (témoin) | 64 | 0 | 0 | 13 | 100 | - |
| Choc thermique | 64 | 0 | 0 | 13 | 100 | |

Les données au tableau 4 démontrent bien que, peu importe la méthode utilisée pour le dépistage des cellules vivantes de LM soit la méthode recommandée pour études thermiques (Brown, 1991) ou la méthode conventionnelle (Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada, 1992), les résultats suivent la même tendance. Bien qu'à 58°C, la méthode conventionnelle du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada ait décelé des cellules vivantes dans chacun des 13 échantillons (au lieu de 12 seulement avec la méthode de Brown), la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être

Social Canada a été un peu moins efficace pour identifier les cellules du LM à 60°C. En effet, à cette température de 60°C, seulement 4 des 13 échantillons étaient positifs avec la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada alors que 5 l'étaient avec la méthode de Brown (1991). Toutefois, à 62°C ainsi qu'à 64°C, les résultats obtenus avec les deux méthodes étaient identiques, c'est-à-dire qu'il y eut une destruction totale de LM à ces températures.

Ces données obtenues lors de la présente étude confirment les observations faites par Schlesinger (1986) ainsi que celles faites par Farber et Brown (1990). Une préexposition de LM à la chaleur augmente sa résistance lors d'un traitement thermique subséquent.

4.3.3 Sort des l'hypothèses 1 et 2

La première hypothèse de cette recherche stipule qu'un choc thermique de 30 min à 48°C est suffisant pour augmenter la résistance thermique du LM lors de traitements thermiques subséquents. Les données présentées aux tableaux 3 et 4 indiquent que la première hypothèse doit être acceptée. Il faut cependant signaler que cette résistance n'est plus décelable aux températures de traitement thermique de 62 et 64°C. À ces deux températures, soit que la chaleur dénature trop intensément les protéines du LM, soit que le stress thermique est trop long pour que les cellules puissent survivre, même si elles avaient une résistance accrue.

La deuxième hypothèse stipule que les durées de chauffage proposées par le MPO pour le traitement thermique entre 58 et 64°C ne sont pas suffisamment longues pour détruire toutes les cellules du LM dans du homard qui a préalablement subi un choc thermique. Les données présentées aux tableaux 3 et 4 indiquent que cette deuxième hypothèse doit être acceptée mais seulement pour ce qui est des températures de 58 et 60°C. En effet, à 58°C, il y a eut survie du LM préexposé à la chaleur dans 62% des cas, avec la méthode de Brown (1991) et dans 69% des cas avec la méthode du Ministère de la Santé et Bien-Être Social Canada (Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada, 1992). Lorsqu'à 58°C, on ne chauffe les échantillons que pendant les 45 min et 19 s recommandées par le MPO, il y a un pourcentage élevé de cellules de LM qui survivent au procédé. Il faudrait que cette durée de chauffage soit réexaminée et augmentée si l'on veut éviter d'avoir des produits contaminés par le LM.

À 60°C, il y a eut survie du LM préexposé à la chaleur dans 38% des cas, avec la méthode de Brown (1991) et dans 31% des cas avec la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada (1992). Lorsqu'à 60°C, on ne chauffe les échantillons que pendant 23 min et 28 s, tel que recommandé par le MPO, de 30 à 38% des échantillons contiennent des cellules de LM qui survivent au procédé. Tout comme dans le cas de 58°C, il faudrait que la durée du chauffage à 60°C soit réexaminée et augmentée si l'on veut s'assurer qu'on n'expose pas les consommateurs à produits contaminés par le LM.

Aux températures de traitement de 62 et 64°C, les durées de chauffage semblent adéquates. Pour ces deux températures, l'hypothèse 2 doit être rejetée.

4.4 Effet de la congélation sur la survie de LM dans du homard

Un des objectifs de cette recherche était de voir si la congélation avait un effet négatif sur la survie du LM. Avant d'effectuer le dénombrement des cellules pour vérifier si celles-ci avaient résisté au traitement thermique ou non, la chair de homard contenu dans chaque boîte fut divisée en deux parties. La première partie était utilisée pour effectuer le dénombrement à l'état frais. Ces résultats furent discutés à la section 4.3 qui précède. La seconde partie de cette chair de homard fut congelée à -26°C, dans des sacs de plastique imperméables à l'oxygène et à l'humidité, et elle fut maintenue en entrepôt frigorifique pendant un mois. Suite à cette période de congélation, on effectua les mêmes analyses microbiologiques qu'on avait faites sur la chair de homard non congelée. Les données obtenus sur la survie de LM dans les échantillons congelés sont présentés dans cette section.

4.4.1 Survie de LM après une préexposition à la chaleur et une congélation d'un mois selon la méthode d'analyse de Brown

Le tableau 5 présente les résultats de survie du LM suite à des traitements thermiques à 58, 60, 62 et 64°C, suivis d'une

congélation d'un mois à -26°C. La méthode de Brown (1991) fut utilisée pour analyser ces échantillons. On visait à déterminer comment le LM, lorsque préexposé à la chaleur puis traité à la chaleur selon le tableau A du MPO, résisterait à la congélation.

Tableau 5

Nombre d'échantillons de homard positifs ou négatifs pour *Listeria monocytogenes*, selon la méthode de Brown, après un choc thermique suivi d'un traitement thermique entre 58 et 64°C ainsi qu'une congélation d'un mois à -26°C.

| Prétraitement administré | Traitement thermique (°C) | Réponse pour LM | | | |
|--------------------------|---------------------------|-----------------|----|----------|-----|
| | | Positive | | Négative | |
| | | No | % | No | % |
| Aucun (témoin) | 58 | 2 | 15 | 11 | 85 |
| Choc thermique | 58 | 9 | 69 | 4 | 31 |
| Aucun (témoin) | 60 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| Choc thermique | 60 | 1 | 8 | 12 | 92 |
| Aucun (témoin) | 62 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| Choc thermique | 62 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| Aucun (témoin) | 64 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| Choc thermique | 64 | 0 | 0 | 13 | 100 |

En comparant attentivement les tableaux 3 et 5, on note certaines différences dans le nombre d'échantillons positif et négatif. À 58°C les résultats sont assez semblables puis qu'à l'état frais, il y avait 8 cas de survie sur 13 et qu'à l'état congelé, il y en avait 9 sur 13. Les données obtenues à 60°C démontre cependant une légère diminution dans le nombre d'échantillons positifs. Le traitement thermique à 60°C, a possiblement endommagé plus sévèrement les cellules de LM, ce qui a été létal pour une partie d'entre elles.

4.4.2 Survie de LM après une préexposition à la chaleur et une congélation d'un mois selon la méthode d'analyse du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada

Le tableau 6 présente le nombre d'échantillons positifs et négatifs obtenus selon la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada (Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada, 1992) suite au traitement thermique à 58, 60, 62 et 64°C suivit d'une congélation d'un mois et selon que la chair avait reçu un choc thermique ou non. Les conditions dans lesquelles les échantillons ont été préparés sont les mêmes que pour la méthode de Brown (1991).

Tableau 6

Nombre d'échantillons de homard positifs ou négatifs pour *Listeria monocytogenes*, selon la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada, après un choc thermique suivi d'un traitement thermique entre 58 et 64°C et d'une congélation d'un mois à -26°C.

| Prétraitement administré | Traitement thermique (°C) | Réponse pour LM | | | |
|--------------------------|---------------------------|-----------------|----|----------|-----|
| | | Positive | | Négative | |
| | | No | % | No | % |
| Aucun (témoin) | 58 | 3 | 23 | 10 | 77 |
| Choc thermique | 58 | 11 | 85 | 2 | 15 |
| Aucun (témoin) | 60 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| Choc thermique | 60 | 1 | 8 | 12 | 92 |
| Aucun (témoin) | 62 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| Choc thermique | 62 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| Aucun (témoin) | 64 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| Choc thermique | 64 | 0 | 0 | 13 | 100 |

En comparant le tableau 6 au tableau 4, on constate qu'à 58°C, la congélation n'a pas eu un grand effet sur le LM. Il y avait 13 sur 13 échantillons non congelés mais préexposés à la chaleur qui étaient positifs pour LM alors qu'il y en avait 11 sur 13 dans le cas des échantillons congelés. On peut conclure que dans ces circonstances, la congélation ne semble pas beaucoup affecter la survie de LM. Par contre, lors du traitement thermique à 60°C, 4 des 13 échantillons à

l'état frais étaient positifs alors que seulement 1 sur 13 l'était après un mois de congélation.

Le tableau 7 présente une vue d'ensemble du nombre d'échantillons positifs et négatifs obtenus selon la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada (1992) pour les échantillons ayant reçu un choc thermique suivi d'un traitement thermique de 58 et 60°C et selon que la chair de homard avait subi une congélation ou non.

Tableau 7

Nombre d'échantillons de homard positifs ou négatifs pour *Listeria monocytogenes*, selon la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada, après un choc thermique suivi d'un traitement thermique de 58 et 60°C pour des échantillons frais et congelés à -26°C.

| État | Traitement thermique (°C) | Réponse pour LM | | | | Seuil de signification |
|----------|---------------------------|-----------------|-----|----------|----|------------------------|
| | | Positive | | Négative | | |
| | | No | % | No | % | |
| Frais | 58 | 13 | 100 | 0 | 0 | 0,480 |
| Congelés | | 11 | 85 | 2 | 15 | |
| Frais | 60 | 4 | 31 | 9 | 69 | 0,322 |
| Congelés | | 1 | 8 | 12 | 92 | |

Afin d'évaluer statistiquement l'effet de la congélation sur les cellules du LM, le seuil de signification empirique a été calculé. Le tableau 7 exprime la différence entre les résultats obtenus à l'état frais et ceux obtenus à l'état congelé, pour tous les échantillons ayant été dénombrés par la méthode conventionnelle du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada. Cette dernière méthode est en effet celle qui dépiste le mieux les cellules endommagées. Les valeurs du seuil de signification (p) obtenues pour les traitements thermique à 58°C et à 60°C étaient de 0,480 et 0,322 respectivement. Ces résultats statistiques démontrent que la congélation n'a pas d'effet statistiquement significatif sur la survie de LM. On peut donc dire conclure que la congélation n'a pas d'effet majeur sur la viabilité des cellules du LM.

Les données sur la congélation obtenues lors de la présente recherche confirment les observations faites par Lammerding et Doyle (1990) voulant que la congélation a peu d'effet sur les cellules de LM. Un autre étude effectuée par Sheridan et al. (1994) a également démontré une incidence élevée de cellules de LM dans des échantillons de homard congelées.

4.5 Sort de l'hypothèse 3

L'hypothèse 3 énonce que les LM qui se trouvent dans la chair de homard survivent le procédé de congélation. Comme on vient de le démontrer, cette dernière hypothèse doit être rejetée puisque la différence entre les cas positifs et négatifs était faible et n'a pas atteint le seuil de signification statistique.

4.6 Comparaison entre la méthode conventionnelle du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada et la méthode de Brown recommandée pour les études thermiques.

Tel que signalé préalablement, le dénombrement du *Listeria monocytogenes* (LM) a été effectué de deux façons, soit selon la méthode conventionnelle (Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada, 1988) et selon la méthode recommandée pour les études thermiques (Brown, 1991). Dans le but de vérifier la validité des résultats et d'obtenir des données supplémentaires sur les deux méthodes utilisées, un résumé des différentes combinaisons de résultats est présenté au tableau 8.

Tableau 8.

Comparaison du nombre de positifs et négatifs obtenus avec la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada (MSBSC) et celle de Brown.

| Température (°C) | État | Traitement administré | Concordance des positifs et négatifs | | No de cas | |
|---------------------|---------|--------------------------|--------------------------------------|------------------|-----------------|------|
| | | | Méthode MSBSC | Méthode de Brown | | |
| 58 | Frais | Témoin | Positif | Positif | n= 2 | |
| | | | Positif | Négatif | n= 2 | |
| | | | Négatif | Négatif | n= 9 | |
| 58 | Frais | Choc thermique | Positif | Positif | n=10 | |
| | | | Positif | Négatif | n= 2 | |
| 60 | Frais | Témoin | Négatif | Négatif | n=12 | |
| | | | Négatif | Positif | n= 1 | |
| 60 | Frais | Choc thermique | Positif | Positif | n= 4 | |
| | | | Positif | Négatif | n= 1 | |
| | | | Négatif | Négatif | n= 8 | |
| 58 | Congelé | Témoin | Positif | Positif | n= 2 | |
| | | | Positif | Négatif | n= 1 | |
| | | | Négatif | Négatif | n=10 | |
| 58 | Congelé | Choc thermique | Positif | Positif | n= 8 | |
| | | | Positif | Négatif | n= 2 | |
| | | | Négatif | Négatif | n= 3 | |
| 60 | Congelé | Témoin | Négatif | Négatif | n=13 | |
| | | | Choc thermique | Positif | Négatif | n= 1 |
| | | | | Négatif | Négatif | n=11 |
| | | | Négatif | Positif | n= 1 | |

En observant attentivement le tableau 8, on constate que la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada donne, dans 9 cas sur 10, un résultat négatif lorsque la méthode de Brown donne également un résultat négatif. De plus, lorsque la méthode de Santé et Bien-être est utilisée, les échantillons qui ont subi un choc thermique semblent être plus souvent trouvés positifs que lorsque la méthode de Brown est utilisée. À la lumière de ces faits, il est évident que dans le cadre de cette recherche, la méthode du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada est la meilleure pour dépister des cellules endommagées par la chaleur. Il faut signaler que la procédure de Brown ne serait pas une bonne méthode pour déterminer si des échantillons sont positifs ou négatifs car elle produit trop de faux négatifs.

4.7 Nombre de colonies de LM par gramme dans le homard

La méthode de Brown (1991) a l'avantage de permettre de compter le nombre de colonies par gramme dans les échantillons positifs pour LM. Le tableau 8 fait le bilan de ces résultats en exprimant le nombre moyen de colonies par gramme pour les échantillons analysés à non congelé de même que ceux analysés à l'état congelé.

Tableau 9

Nombre moyen de colonies de LM par g dans les échantillons non congelés et congelés soumis ou non à choc thermique et traités thermiquement soit à 58°C ou 60°C.

| Température de chauffage | État du produit | Traitement administré | No de positifs | No de colonies LM ($\log_{10}(\text{UFC/g})$) | |
|--------------------------|-----------------|-----------------------|----------------|---|---|
| | | | | Moyenne \pm écart type | |
| 58°C | Frais | Aucun (témoin) | 2 | 1,65 \pm 0,08 | |
| | Frais | Choc thermique | 8 | 1,30 \pm 0,21 | |
| 60°C | Frais | Aucun (témoin) | 1 | 1,46 | |
| | Frais | Choc thermique | 5 | 2,34 \pm 1,11 | |
| 58°C | Congelé | Aucun (témoin) | 2 | 1,15 \pm 0,21 | |
| | Congelé | Choc thermique | 9 | 1,70 \pm 0,75 | |
| 60°C | Congelé | Aucun (témoin) | 0 | - | - |
| | Congelé | Choc thermique | 1 | 1,10 | |

Deux observations peuvent être faites à partir du tableau 9. Premièrement, le compte moyen de colonies, exprimé en \log_{10} (UFC/g) diminue un peu lorsqu'on passe d'un échantillon frais à un échantillon congelé. Cependant, la différence à 58°C n'est pas significative ($p=0,87$). Deuxièmement, dans les échantillons qui ont subi un choc thermique, il y a, dans trois cas sur quatre, un compte plus élevé de colonies que lorsque qu'il n'y a pas eu de choc thermique. Cependant, la différence n'est pas statistiquement significative ($p=0,73$). À 60°C, le seuil de signification ne fut pas effectué en raison de l'insuffisance de données à cette température.

Les valeurs obtenues à 58°C, ont démontrées que les comptes de LM entre les produits congelés et non congelés ne sont pas assez marqués pour atteindre le seuil de différence de $p < 0,05$. Le nombre limité de répliques pourrait expliquer cette observation.

Il est possible dire qu'un choc thermique tend à augmenter la résistance des cellules. Cependant la magnitude de la différence dans l'augmentation de la résistance reste à être déterminée. De plus, vu la très légère diminution dans la quantité de cellules suite à la congélation, il est possible de conclure que la congélation n'a pas d'effet marqué sur la population microbienne.

Il est important pour le lecteur d'interpréter ces résultats avec prudence puisque, comme il a été noté préalablement, le compte de cellules présentes dans l'échantillon a été effectuée en utilisant des dilutions de 10^{-1} , 10^{-2} , et 10^{-3} , ce qui peut causer des fluctuations dans les résultats. De plus, il était parfois difficile d'identifier les colonies, surtout à la dilution de 10^{-1} .

4.7 Valeur D

La valeur D, tel que mentionné au Chapitre II, est la durée de chauffage nécessaire, à une température donnée, pour détruire 90% des cellules. Elle est donc très importante pour les études portant sur l'inactivation d'un micro-organisme.

Pour tous des échantillons de cette étude soumis à un procédé de chauffage, la valeur D a été calculée. Par la suite, le ratio suivant a été calculé:

Valeur D après choc thermique/ valeur D sans choc thermique.

Un ratio supérieur à 1,0 indique qu'un choc thermique augmente la résistance thermique du LM. Le tableau 10 exprime la moyenne des valeurs D pour les échantillons témoins ainsi que pour ceux ayant reçu un choc thermique avant d'être traités thermiquement aux températures suivantes : 58°C, 60°C, 62°C et 64°C.

Tableau 10

Valeur D moyenne et ratio (la Valeur D avec choc thermique sur la Valeur D sans choc thermique) pour les quatre températures de traitement thermique, soit 58°C, 60°C, 62°C et 64°C.

| Température de chauffage °C | Prétraitement | Valeur D min | Ratio (<u>Valeur D avec choc</u>) (Valeur D sans choc) |
|-----------------------------|----------------|--------------|---|
| 58°C | Aucun (témoin) | 11,58 | 1,25 |
| | Choc thermique | 14,46 | |
| 60°C | Aucun (témoin) | 6,07 | 1,86 |
| | Choc thermique | 11,32 | |
| 62°C | Aucun (témoin) | 3,02 | 1,00 |
| | Choc thermique | 3,02 | |
| 64°C | Aucun (témoin) | 1,34 | 1,00 |
| | Choc thermique | 1,34 | |

Le tableau 10 démontre une valeur D plus élevée pour les échantillons soumis à un choc thermique que les échantillons témoins aux températures de chauffage de 58°C et de 60°C. On note ainsi que le ratio pour ces deux températures de traitement est supérieur à 1,00, ce qui indique qu'un choc thermique a effectivement comme conséquence d'augmenter la résistance du LM. Cependant, un choc thermique ne semble pas affecter la durée du chauffage requise pour détruire les micro-organismes aux températures de 62°C et de 64°C. Pour ces deux températures, la durée du traitement thermique suggérée au tableau A du MPO est donc suffisante pour détruire toutes les cellules de LM, qu'elles aient reçu un choc thermique ou non à une température supérieure à 62°C.

Il est important de souligner que même si les cellules n'ont reçu aucun choc thermique, il y a encore une faible présence de cellules du LM à la température de traitement thermique de 60°C. Les valeurs de D obtenues dans le cadre de la présente étude coïncident très bien avec les observations fait Bremer et Osborne (1995).

CHAPITRE V

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Les données recueillies au cours de cette étude ont servi à évaluer la survie du *Listeria monocytogenes* (LM) dans du homard ayant subi un traitement thermique après avoir été préexposé à la chaleur. L'objectif premier consistait à clarifier si oui ou non la contamination des boîtes de chair de homard par le LM est reliée à la résistance du LM à un traitement thermique préalable.

La recherche fut divisée en deux parties. La première partie avait comme but de déterminer l'effet d'un choc thermique sur la présence et le nombre de cellules de LM qui résistent à un traitement thermique administré à de la chair de homard. La présence ou l'absence de LM fut déterminée en utilisant deux procédures différentes: celle du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada (Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada, 1992) qui comprend une étape pour dépister les cellules endommagées et celle de Brown (1991) qui ommet cette étape. Quatre températures de traitement thermique furent étudiées, soit 58, 60, 62 et 64°C, et cela aux durées de traitement recommandées au tableau A du document publié par le Ministère des Pêches et des Océans Canada (1990b).

La deuxième partie de cette recherche visait à étudier l'effet d'une congélation d'un mois à -26°C sur la survie des cellules du LM dans du homard qui a subi un choc thermique préalable à un traitement thermique.

Les résultats obtenus démontrent qu'un choc thermique a un effet significatif sur la survie du *Listeria monocytogenes*. Cet effet est particulièrement évident au traitement thermique de 58°C . À la température de traitement de 60°C , l'effet est apparent mais la différence n'atteint pas le seuil de signification de 0,05. Aux deux températures de traitements thermiques les plus élevées, soit 62°C et 64°C , le choc thermique n'a pas suffisamment augmenté la résistance des cellules pour prévenir leur destruction lors du traitement thermique. Les résultats démontrent que les durées de chauffage proposées par le Ministère des Pêches et des Océans Canada pour le traitement thermique à 58 et 60°C ne sont pas suffisamment longues pour détruire toutes les cellules du LM dans du homard qui ont préalablement subi un choc thermique.

Les résultats obtenus lors de la deuxième partie de cette étude portent sur la survie de LM suite à une congélation d'un mois à -26°C . Les données de la présente étude démontrent que la congélation n'a pas d'effet significatif sur la population de cellules du LM. Ceci confirme ce que certains chercheurs avaient déjà rapporté.

Les résultats de cette étude invitent les transformateurs à reconnaître l'importance d'un traitement thermique adéquat ainsi que la mise en application de normes strictes d'assainissement afin d'éliminer le potentiel de contamination microbienne en usine. L'étude démontre qu'il ne faut pas se fier à la congélation pour éliminer ou réduire la présence des cellules de LM dans un produit.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude ont aussi permis de constater que la méthode de dépistage du LM du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada (Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada, 1992) est la meilleure pour dépister des cellules endommagées par la chaleur. Cependant la méthode de Brown (1991) a l'avantage de fournir un compte précis du nombre de cellules du LM présentes dans un échantillon.

Les calculs de valeur D faits à partir des données de cette étude révèlent que les durées de chauffage recommandées par le tableau A du MPO aux températures de 62 et 64°C suffisent pour détruire toutes cellules de LM. Les valeurs D obtenues au cours de l'étude coïncident avec les données obtenues par d'autres chercheurs. Les valeurs D pour les échantillons ayant subi un choc thermique à 48°C pendant 30 min et ensuite ayant subi un traitement thermique à 58, 60, 62 et 64°C sont: 14,48; 11,32; 3,02 et 1,24 min, respectivement.

Il est évident que la présence de LM dans un produit alimentaire cause d'énormes problèmes à l'industrie de la pêche. Les problèmes associés à la présence d'un micro-organisme pathogène tel que le LM dans un produit sont énormes. Les transformateurs doivent assumer leurs responsabilités de protection de consommateurs. Ils doivent sensibiliser les employés aux facteurs environnementaux qui ont le potentiel d'augmenter la résistance de LM.

Il serait de mise que l'Association des empaqueteurs de poisson du Nouveau-Brunswick invite ses membres qui transforment le homard à se concerter pour identifier où pourrait se produire un choc thermique en usine. Ces personnes pourraient par la suite faire des recommandations pour prévenir de telle situation indésirable.

Les résultats obtenus sur la survie de LM suite à un traitement thermique aux températures inférieures à 62°C indiquent qu'à 58°C et 60°C la durée du traitement de chaleur recommandée par le tableau A du MPO n'est pas suffisante pour détruire toutes les cellules du *Listeria monocytogenes* présentes dans la chair de homard. Il serait bon que les hauts fonctionnaires du Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada et du Ministère des Pêches et des Océans Canada se concertent à ce sujet et prennent les actions appropriées.

LISTE DES RÉFÉRENCES

- Anonymous (1988). FDA regional workshop to discuss microbial concerns in seafood. *Food Chemistry News*, 30, 27.
- Anonymous (1993a). *Listeria* continues to be found in seafood. *Food Chemistry News*, 34, 52.
- Anonymous (1993b). FDA places import alert on cooked seafood, surimi products. *Food Chemistry News*, 35, 51-52.
- Anonymous (1993c). Cheese, seafood subject to Class I recalls due to *Listeria* contamination. *Food Chemistry News*, 35, 16-17.
- Anonymous (1993d). *Listeria* cases reduced by half since 1986: CDC Official. *Food Chemistry News*, 35, 33.
- Atlas, R.M. (1984). *Microbiology: Fundamentals and Applications*. New York: Macmillan.
- Beaudin, M et Savoie, D. (1992). Les défis de l'industrie des pêches au Nouveau-Brunswick. Moncton: Editions de l'Acadie.
- Ben Embarek, P. K. (1994). Presence, detection and growth of *Listeria monocytogenes* in seafoods. A review. *International Journal of Food Microbiology*, 23 (1), 17-34.
- Ben Embarek, P. K. & Huss, H. H. (1993). Heat resistance of *Listeria monocytogenes* in vacuum packaged pasteurized fish fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 20, 85-95.
- Bradshaw, J. G., Peeler, J. T., Corwin, J. J., Hunt, J. M., Tierney, J. T., Larkin, E. P., & Twedt, R. M. (1985). Thermal resistance of *Listeria monocytogenes* in milk. *Journal of Food Protection*, 48, 743-745.

- Bremer, P. J. & Osborne, C. M. (1995). Thermal Death times of *Listeria monocytogenes* in green shell mussels prepared for hot smoking. *Journal of Food Protection*, 58 (6), 604-608.
- Brown, W.L. (1991). Designing *Listeria monocytogenes* thermal inactivation studies for extended-shelf-life refrigerated foods. *Food Technology*, 45, 152-153.
- Buchanan, R. L., Stahl, H. G., Bencivengo, M. M., & Del Corral, F. (1989). Comparison of lithium chloride-phenylethanol-moxalactam and modified Vogel Johnson agars for detection of *Listeria* spp. in retail-level meats, poultry, and seafood. *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 599-603.
- Budu-Amoako, E., Toora, S., Walton, C., Ablett, R. F., & Smith, J.(1992). Thermal death times for *Listeria monocytogenes* in lobster meat. *Journal of Food Protection*, 55, 211-213.
- Bunning, V. K., Crawford, R. G., Tierney, J. T., & Peeler, J. T. (1990). Thermotolerance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* after sublethal heat shock. *Applied and Environmental Microbiology*, 56, 3216-3219.
- Ciobanu, A. (1976). Freezing. In *Cooling Technology in the Food Industry* (p.140). Tunbridge Wells, Kent: Abacus Press.
- Conner, D. E., Brackett, R. E., & Beuchat, L. R. (1986). Effect of temperature, sodium chloride, and pH on growth of *Listeria monocytogenes* in cabbage juice. *Applied and Environmental Microbiology*, 52, 59.
- Cormier, A., Chiasson, S. & Malouin, H. (1993). Survival of *Listeria monocytogenes* in lobster meat during selected heat treatment conditions. In W.S. Otwell (Ed.) *Tropical and Subtropical Fisheries Technological Conference of the Americas* (pp.127-135). Gainesville FL: Florida Sea Grant College Program

- Cox, L. J., Kleiss, T., Cordier, J. L., Cordellana, C., Konkel, P., Pedrazzini, C., Beumer, R., & Siebenga, A. (1989). *Listeria* spp. in food processing, non-food and domestic environments. *Food Microbiology*, 6, 49-61.
- Czuprynski, C.J. (1994). Host defense against *Listeria monocytogenes* implications for food safety. *Food Microbiology*, 11, 131-147.
- Dillon, R. M. & Patel, T. R. (1992). *Listeria* in seafood: A review. *Journal of Food Protection*, 55, 1009-1015.
- Donnelly, C. W. & Briggs, E. H. (1986). Psychrotrophic growth and thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* as a function of milk composition. *Journal of Food Protection*, 49, 994-998.
- Donnelly, C. W., Briggs, E. H., & Donnelly, L. S. (1987). Comparison of heat resistance of *Listeria monocytogenes* in milk as determined by two methods. *Journal of Food Protection*, 50, 14-17.
- Doyle, M. P. (1988). Effect of environmental and processing conditions on *Listeria monocytogenes*. *Food Technology*, 42(4), 169-171.
- El-Kest, S. E., & Marth, E. H. (1992). Freezing of *Listeria monocytogenes* and other microorganisms: A review. *Journal of Food Protection*, 55, 639-648.
- El-Kest, S. E., Yousef, A. E., & Marth, E. H. (1991). Fate of *Listeria monocytogenes* during freezing and frozen storage. *Journal of Food Science*, 56, 1068-1071.
- Farber, J. M. (1993). Current research on *Listeria monocytogenes* in foods: An overview. *Journal of Food Protection*, 56, 640-643.
- Farber, J. M. (1989). Thermal resistance of *Listeria monocytogenes* in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 8, 285-291.

- Farber, J. M., & Brown, B. E. (1990). Effect of prior heat shock on heat resistance of *Listeria monocytogenes* in meat. *Applied and Environmental Microbiology*, 56, 1584-1587.
- Farber, J. M., & Peterkin, P. I. (1991). *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. *Microbiology Review*, 55, 476-511.
- Farber, J. M., Sanders, G. W., & Johnston, M. A. (1989). A survey of various foods for the presence of *Listeria* species. *Journal of Food Protection*, 52, 456-458.
- Fedio, W. M., & Jackson, H. (1989). Effect of tempering on the heat resistance of *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*, 9, 157-160.
- Friedman, L. M., Fuberg, C. D., & DeMets, D. L. (1985). *Fundamentals of clinical trial*. (2nd ed., pp499) MA:POG Publishing Co. Inc.
- Food and Drug Administration (1983). *Grade A pasteurized milk ordinance, 1978 recommendations*. (Publications 229, revised 1983). Washington, D.C.:U.S. Public Health Service.
- Food and Drug Administration (1991, March 27). *FDA enforcement report*. Rockland MD:Press Office of Food and Drug Administration.
- Gaman, P. M., & Sherrington, K. B. (1990). *The Science of Food*. New York:Pergamon Press.
- Gill, P. (1988) Is listeriosis often a foodborne illness? *J. Infect.*, 17, 1-5.
- Gray, M. L., & Killinger, A. H. (1966). *Listeria monocytogenes* and listeric infections. *Bacteriological Review*, 30, 309-382.
- Hardin, M. D., Williams, S. E., & Harrison, M. A. (1993). Survival of *Listeria monocytogenes* in postpasteurized precooked beef roasts. *Journal of Food Protection*, 56, 655-660.

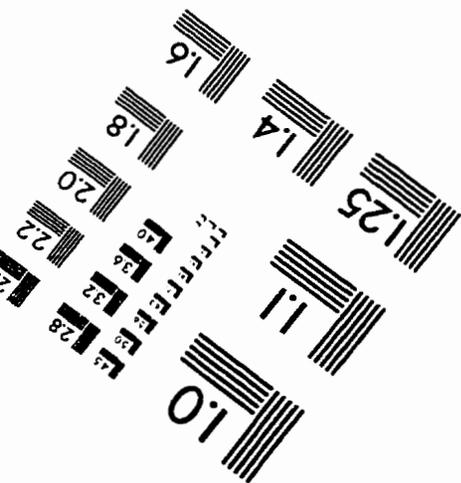
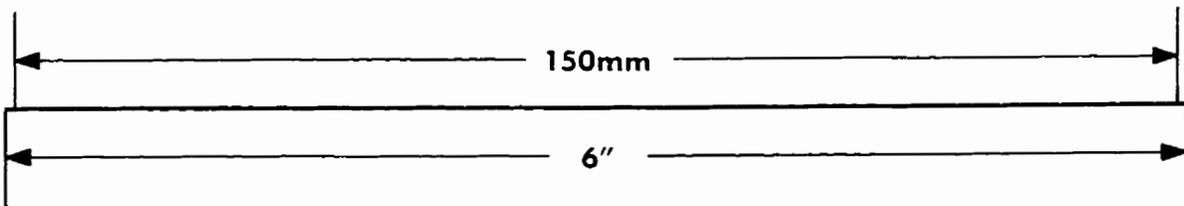
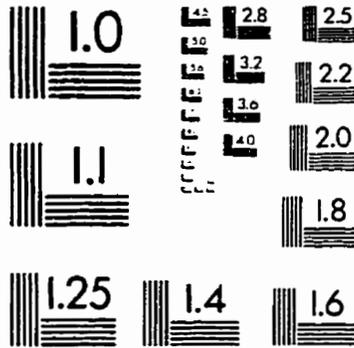
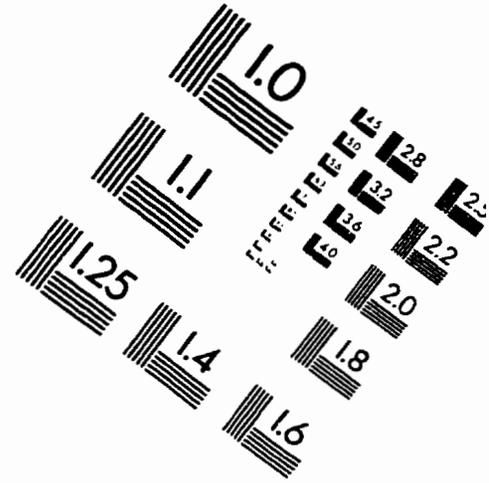
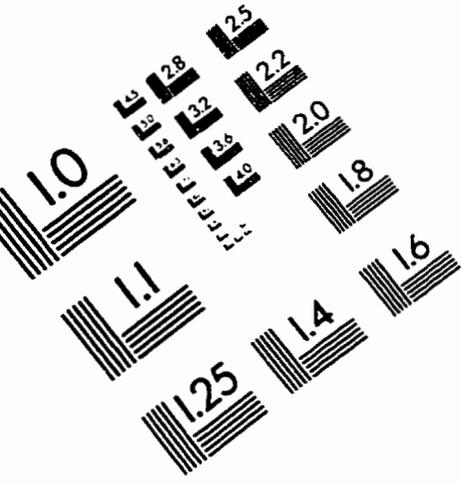
- Harrison, M. A., & Yao-Wen, H.(1990). Thermal death times for *Listeria monocytogenes* (ScottA) in crabmeat. *Journal of Food Protection*, 53, 878-880.
- Horne, S. (1992). PEI Lobster now Listeria-Free. *Food in Canada*, 52, 26-27.
- Huang, I-P. D., Yousef, A. E., Marth, E. H., & Matthews, M. E. (1992). Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in chicken gravy. *Journal of Food Protection*, 55, 492-496.
- Jackson, T. C., Acuff, G. R., Lucia, L. M., Prasai, R. K., Benner, R. A., & Terry, C. T. (1993). Survey of residential refrigerators for the presence of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 56, 874-875.
- Johnson, J. L., Doyle, M. P., & Cassens, R. G. (1990). *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in meat and meat products: A review. *Journal of Food Protection*, 53, 81-91.
- Knabel, S. J., Walker, H. W., Hartman, P. A., & Mendoca, A. F. (1990). Effects of growth temperature and strictly anaerobic recovery on the survival of *Listeria monocytogenes* during pasteurization. *Applied and Environmental Microbiology*, 56, 370-376.
- Lammerding, A. M., & Doyle, M. P. (1990). Stability of *Listeria monocytogenes* to non-thermal processing conditions. *Journal of Food Protection*, 52, 195-202.
- Lindquist, S., & Craig, E. A. (1988). The heat shock proteins. *Annual Review of Genetics*, 22, 631-677.
- Linton, R. H., Pierson, M. D., Bishop, J. R. (1990). Increase in heat resistance of *Listeria monocytogenes* Scott A by sublethal heat shock. *Journal of Food Protection*, 53, 924-927

- Linton, R. H., Webster, J. B., Pierson, M. D., Bishop, J. R., & Hackney, C. R. (1992). The effect of sublethal heat shock and the growth atmosphere on the heat resistance of *Listeria monocytogenes* Scott A. *Journal of Food Protection*, 55, 84-87.
- Lund, B.M. (1990). The prevention of foodborne Listeriosis. *Brit.Food Journal*, 92, 13-22.
- Mackey, B. M., & Bratchell, N. (1989). The heat resistance of *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*, 9, 89-94.
- Mazure, P. (1966). Physical and chemical basis of injury in single celled micro-organisms subjected to freezing and thawing. In H. Meryman (Ed.), *Cryobiology*. (pp.214-317). New York:Academic Press Inc.
- Miller, A. L., Smith, J. L., & Somkuti, G. A. (1990). Foodborne Listeriosis. New York: Elsevier Science Publishers.
- Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada. (1992). Isolation of *Listeria monocytogenes* form all food and environmental samples. In *Compendium of analytical methods* (MFHPB-30). Ottawa: Polysciences Publication.
- Ministère de la Santé et du Bien-Être Social Canada. (1990). *Listeria monocytogenes: An information handbook*. Ottawa: Health and Welfare Canada.
- Ministère des Pêches et des Océans Canada. (1990a). *Programme de gestion de la qualité*. Ottawa: Ministère des Pêches et Océans.
- Ministère des Pêches et des Océans Canada. (1990b). *Traitement par la chaleur et pasteurisation courante et corrective*, (Document #901001-58-XX1).Ottawa: Ministère des Pêches et Océans.

- Noah, C. W., Perez, J. C., Ramos, N. C., Mckee, C. R., & Gipson, M. V. (1991). Detection of *Listeria* spp. in naturally contaminated seafoods using four enrichment procedures. *Journal of Food Protection*, 54, 174-177.
- Peason, L. J., & Marth, E. H. (1990). *Listeria monocytogenes* threat to a safe food supply: a review. *Journal of Dairy Science*, 73, 912-928.
- Percudani, A. & Gola, S. (1995). Investigation into the presence of *Listeria* sp. in frozen foods. *Industria-Conserve*, 70 (2) 133-137.
- Pinner, R. W., Schuchat, A., Swaminathan, B., Hayes, P. S., Deaver, K. A., Weaver, R. E., Plikaytis, B. D., Reeve, M., Broome, C. V., Wenger, J. D., and the *Listeria* Study Group. (1992). Role of food in sporadic listeriosis, II: Microbiologic and epidemiologic investigation. *Journal of the American Medical Association*, 267, 2046-2050.
- Quintavalla, S., & Barbuti, S. (1989). Heat resistance of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* isolated from pork. *Industria conserve*, 64, 8-12.
- Quintavalla, S., Campanini, M., & Miglioli, L. (1988). Effect of heating rate on the heat resistance of *Streptococcus faecium*. *Industria Conserve*, 63, 252-256.
- Ryser, E. T., & Marth, E. H. (1991). *Listeria, Listeriosis and food safety*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Schlech, W. F., Lavigne, P. M., Bortolussi, R. A., Allen, A. C., Haldane, E. V., Wort, A. J., Hightower, A. W., Johnson, S. E., King, S. H., Nicholls, E. S., & Broome, C. V. (1983). Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food. *New England Journal of Medicine*, 308, 203.
- Schlesinger, M. J. (1986). Heat shock proteins: The search for functions. *Journal of Cellular Biology*, 103, 321-325.

- Seelinger, H. P. R. (1961). *Listeriosis*. New York: Hafner Pub. Co.
- Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E., & Hotl, J. G. (1986). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (Vol. 2, sect. 14). Baltimore: Williams and Wilkins.
- Stephens, P. J., Jones, M. V. (1993). Reduced ribosomal thermal denaturation in *Listeria monocytogenes* following osmotic and heat shocks. *FEMS Microbiology Letters*, 106, 177-182.
- SYSTAT Inc.(1992) Systat for Windows, Version 5. Evanston, Illinois (1st printing) (ISBN 0-928 789-14-4 SET).
- Todd, E. C. D. (1989). Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the United States. *Journal of Food Protection*, 52, 595-601.
- Tsuchido, T., Takano, M., & Shibaski, I . (1974). Effect of temperature elevating process on the subsequent isothermal death of *Escherichia coli* K-12. *Journal of Fermentation Technology*, 52, 788-792.
- Weagant, S. D., Sado, P. N., Colburn, K. G., Torkelson, J. D., Stanley, F. A., Krane, M. H., Shields, S. C., & Thayer, C. F. (1988). The incidence of *Listeria* species in frozen seafood products, *Journal of Food Protection*, 51, 655-657.
- Wehr, H. M. (1987). *Listeria monocytogenes* a current dilemma. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 70, 769-772.
- Wilkins, P. O., Bourgeois, R., & Murray, R. G. E. (1972). Psychrotrophic properties of *Listeria monocytogenes*. *Canadian Journal of Microbiology*, 18, 543.

IMAGE EVALUATION TEST TARGET (QA-3)



APPLIED IMAGE, Inc.
1653 East Main Street
Rochester, NY 14609 USA
Phone: 716/482-0300
Fax: 716/288-5989

© 1993, Applied Image, Inc., All Rights Reserved

