

*BELGIAN ASSOCIATION
FOR MEAT SCIENCE AND
TECHNOLOGY*



BAMST ^{vzw}
_{asbl}

Journée d'étude

MICROBIOLOGIE ET VIANDE : QUE FAIRE DEMAIN ?

Studiedag

MICROBIOLOGIE EN VLEES : WELKE TOEKOMST ?

**Gembloux, 05 avril 2006
Espace Senghor, FUSAGx**



Programme – Programma

Session 1 – Sessie 1 :

MODERATEUR / MODERATOR : J. VAN HOOFF, UGent

- 08:00-09:30 Inscriptions - Inschrijvingen
09:30-09:45 Accueil -Ontvangst
M. MEEÛS, Directeur général CRA-W
09:45-10:30 A. EVERS, Commission européenne
Approche réglementaire de la gestion de la qualité microbiologique des aliments
Wettelijke aanpak van het beheer van de microbiologische kwaliteit van voedingswaren
10:30-11:00 Pause-café – Koffiepauze
11:00-11:45 A. CLINQUART, ULg
Outils technologiques pour gérer la qualité microbiologique des aliments
Technologische middelen voor het beheer van de microbiologische kwaliteit van voedingswaren
11:45-12:30 G. DAUBE, ULg
Validation de la qualité microbiologique par les opérateurs
Validatie van de microbiologische kwaliteit door de operatoren
12:30-14:15 Lunch

Session 2 – Sessie 2 :

MODERATEUR / MODERATOR : A. CLINQUART, ULg

- 14:15-14:45 L. VERMEIREN, UGent
Verpakken van vlees en vleeswaren: micro-biologische aspecten
Le conditionnement des viandes et des produits de viande : les aspects microbiologiques
14:45-15:15 Ph. THONART, FUSAGx et ULg
Les flores protectrices et la qualité microbiologique de la viande
Protectieve flora en microbiologische kwaliteit van vlees
15:15-15:45 J. WAVREILLE, CRA-W
Les probiotiques en alimentation animale et la qualité de la viande
Probiotica in veevoeder en kwaliteit van het vlees
15:45-16:00 A. THÉWIS, recteur FUSAGx
Conclusions - *Conclusies*
16:00 Drink

Sommaire des abstracts – Inhoudslijst abstracten

A. EVERS Approche réglementaire de la gestion de la qualité microbiologique des aliments <i>Wettelijke aanpak van het beheer van de micro-biologische kwaliteit van voedingswaren</i>	5
A. CLINQUART Outils technologiques pour gérer la qualité micro-biologique des aliments <i>Technologische middelen voor het beheer van de microbiologische kwaliteit van voedingswaren</i>	11
G. DAUBE Validation de la qualité microbiologique par les opérateurs <i>Validatie van de microbiologische kwaliteit door de operatoren</i>	23
L. VERMEIREN <i>Verpakken van vlees en vleeswaren: microbiologische aspecten</i> Le conditionnement des viandes et des produits de viande : les aspects microbiologiques	30
Ph. THONART, H. GHALFI, P. KOUAKOU, I. COULIBALY, C. DORTU, M. DIOP, M. DUROY, P. EVRARD, R. DUBOIS-DAUPHIN, J. DESTAIN Les flores protectrices et la qualité microbiologique de la viande <i>Protectieve flora en microbiologische kwaliteit van vlees</i>	51
J. WAVREILLE, V. NINANE, S. VANDEPLAS, Y. BECKERS, N. BARTIAUX-THILL Les probiotiques en alimentation animale et la qualité de la viande Probiotica in veevoeder en kwaliteit van het vlees	54

Outils technologiques pour gérer la qualité microbiologique des aliments

CLINQUART A.

ULg / Fac. Méd. vét. / Département des Sciences des Denrées alimentaires (Sect. Technologie), Sart Tilman B43bis, 4000 Liège – E-mail : antoine.clinquart@ulg.ac.be – URL : <http://www.tdaoa.ulg.ac.be>

1. Introduction

Les modifications que les aliments subissent, qu'elles soient d'origine microbiologique ou enzymatique, les rendent très vite inconsommables, voire impropres à la consommation. Les caractéristiques d'un aliment influencent son aptitude à la conservation (appelée également "conservabilité"). Les caractéristiques inhérentes à l'aliment sont souvent appelées caractéristiques ou paramètres "intrinsèques" par opposition aux paramètres "extrinsèques" qui sont les propriétés de l'environnement qui influencent les caractéristiques de l'aliment et le développement des microorganismes (pathogènes ou altérants) dans ou sur celui-ci.

Les caractéristiques qui influencent négativement le développement des microorganismes initialement présents dans le produit peuvent être considérées comme des "obstacles" ("*hurdle*" en anglais) que ces microorganismes doivent surmonter pour croître. Ces caractéristiques produisent donc des "effets obstacles" ou "*hurdle effects*". Ceux-ci peuvent être de nature physique, physico-chimique ou microbiologique.

2. Technologie des aliments et gestion de leur qualité microbiologique

Les traitements appliqués aux aliments exploitent très souvent ce principe des obstacles en modifiant un ou plusieurs des facteurs intrinsèques ou extrinsèques qui déterminent le développement des microorganismes ou des mécanismes d'altération non microbienne. Certaines techniques sont très anciennes, remontant parfois à la préhistoire, p.ex. le séchage (au soleil, au four), la fumaison (à froid, à chaud), la cuisson (chaleur sèche, chaleur humide, corps gras, ...), le salage (saumurage, salage à sec), l'acidification (marinade, fermentation). D'autres ne se sont répandues que grâce au développement de procédés technologiques apparus au cours de l'ère industrielle, p.ex. la production de froid, la mise sous vide, l'utilisation de radiations ionisantes, ...

Bien souvent, un obstacle seul ne permet pas d'inhiber ou de ralentir significativement le développement des microorganismes. En pratique, plusieurs de ces "obstacles" devront être combinés afin de produire un effet inhibiteur suffisant sur la flore microbienne ou sur les enzymes de l'aliment. Cet effet de synergie peut être objectivé et exploité dans certaines techniques de fabrication ou de conservation des aliments.

La maîtrise de la qualité microbiologique des aliments implique la maîtrise des traitements qui leur sont appliqués et donc la mesure d'un ou plusieurs paramètres qui permettent d'objectiver l'effet du traitement appliqué (p.ex. mesure du couple temps x température pour un traitement thermique, mesure de l'*A_w* pour un salage/séchage, mesure de la composition en gaz pour le conditionnement sous atmosphère modifiée). La maîtrise d'un point critique d'un procédé suppose de telles mesures et le non dépassement de « limites critiques ».

3. Evolutions technologiques et perspectives

En raison de la demande croissante pour des produits frais et/ou peu « modifiés », l'amélioration de la durée de conservation repose de plus en plus sur des alternatives aux traitements classiques. Il peut s'agir de traitements physiques (ultra hautes pressions ou champs électriques pulsés p.ex.) encore au stade expérimental ou déjà applicables à quelques denrées alimentaires. D'autres applications reposent sur des obstacles chimiques, p.ex. des substances présentes naturellement dans les organismes animaux et végétaux, voire dans les microorganismes (bactériocines), et présentant des propriétés antimicrobiennes et/ou antioxydantes. Les obstacles chimiques peuvent aussi être associés au conditionnement : on parle alors de conditionnement « actif »¹ car il agit sur l'aliment, p.ex. en libérant un composé aux propriétés antimicrobiennes ou en fixant l'oxygène résiduel. L'utilisation directe de microorganismes est également envisageable, sous forme de « cultures protectrices » (encore appelées « flores compétitives » ou « flores barrière »). Il ne s'agit pas, au sens strict du terme, d'une fermentation puisqu'elles ne produisent pas d'acide lactique ou d'alcool.

4. Conclusion

Même si elles peuvent contribuer de manière très spectaculaire à la maîtrise de la qualité microbiologique des aliments, les techniques de conservation elles-mêmes ne sont pourtant qu'un moyen de maîtrise parmi d'autres... Deux facteurs principaux sont tout simplement la qualité initiale –en particulier la qualité microbiologique- des aliments ou des ingrédients qui les constituent et l'hygiène observée au cours de leur production, de leur transformation et de leur distribution.

De plus, un effet « obstacle » n'est reproductible que dans des conditions précises, par exemple pour ce qui concerne le nombre de microorganismes, la composition de l'aliment, les conditions d'ambiance, etc... Une technique de conservation doit donc être validée dans des conditions données (p.ex. par validation de la durée de vie microbiologique permettant d'estimer la D.L.C. d'un produit). Toute modification de ces conditions ne permet plus de garantir la maîtrise de la qualité microbiologique. Il convient par ailleurs d'évaluer l'effet d'une contamination accidentelle de la denrée par un microorganisme pathogène, au cours de sa production, de sa transformation ou de sa distribution (test de croissance après inoculation artificielle de la denrée, encore appelé « *challenge testing* »).

L'établissement et le respect de critères microbiologiques, de bonnes pratiques de fabrication et de procédures d'assurance qualité sont des points clés de la maîtrise de la qualité et de la sécurité sanitaire des aliments. Des progrès significatifs sont en cours et sont encore attendus dans les prochaines années.

¹ Le règlement (CE) N°1935/2004 du Parlement européen et du Conseil du 27 oct. 2004 concernant les matériaux et objets destinés à entrer en contact avec les denrées alimentaires et abrogeant les directives 80/590/CEE et 89/109/CEE laisse entrevoir l'autorisation de tels conditionnements. Les composants actifs des emballages alimentaires seront autorisés s'ils respectent les autres dispositions de la législation communautaire relative à la sécurité des denrées alimentaires. L'étiquetage informera les consommateurs sur la nature de l'emballage actif.

Outils technologiques pour gérer la qualité microbologique des aliments

A. CLINQUART

Département des Sciences des denrées alimentaires
 Faculté de Médecine vétérinaire - B43bis Sart Tilman - 4000 Liège

U n i v e r s i t é d e L i è g e

Sécuriser la chaîne alimentaire

<u>Analyse</u>	<u>Hygiène & Insp.</u>	<u>Microbiologie</u>	<u>Technologie</u>
Acad. : G. Maghain-Register	N.	G. Daube	A. Clinquart
Tél : ++32 (0)4 366.40.40		(0)4.366.40.15	(0)4.366.40.48
Fax : ++32 (0)4 366.40.44		(0)4.366.40.16	(0)4.366.40.44
E-mail : G.Maghain@ulg.ac.be		Georges.Daube@...	Antoine.Clinquart@...

Microbiologie et viande, que faire demain ?

Microbiologie en vlees, welke toekomst ?

Outils technologiques pour gérer la qualité microbologique des aliments

Technologische middelen voor het beheer van de microbiologische kwaliteit van voedingswaren

A. CLINQUART

5 avril 2006
 Microbiologie et viande, que faire demain ?
 Outils technologiques pour gérer la qualité microbologique des aliments

1. Introduction (1)

Aptitude à la conservation

Développement microorganismes altérants – pathogènes

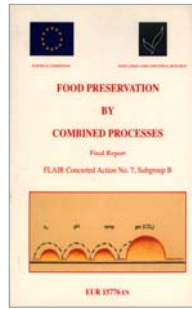
Mécanismes altération non microbienne

Paramètres INTRINSEQUES (ex. : a_w , pH)

Paramètres EXTRINSEQUES (ex. : T° , O_2)



1. Introduction (2)





1. Introduction (3a)

Classification <i>[Adapted from Bogh-Sorensen, 1995]</i>	Some « hurdle » values <i>[After Labuza & Fu, 1995]</i>
PHYSICAL Heat processing (sterilisation, pasteurisation, blanching) Storage temperature Radiations (UV; ionizing β ; γ) Electromagnetic energy (microwaves, high electric field pulses, ...) Photodynamic inactivation (light) Ultrahigh pressure Ultrasonication Packaging (vacuum, active, edible) Atmosphere (modified, controlled) Hypobaric storage Aseptic packaging Microstructure	$< 4^{\circ}\text{C}$





1. Introduction (3b)

Classification <i>[Adapted from Bogh-Sorensen, 1995]</i>	Some « hurdle » values <i>[After Labuza & Fu, 1995]</i>
PHYSICO-CHEMICAL Water activity (a_w) pH Redox Potential (Eh) Salt (NaCl) Nitrates (NO_3^-) & nitrites (NO_2^-) Carbon dioxide (CO_2) Oxygen (O_2) Ozone (O_3) Organic acids (lactic, acetic) Ascorbic acid Sulphites (SO_2) Smoking Phosphates Glucono-d-lactone Phenols Chelators Antifongic Ethanol Propylen glycol Maillardn reaction products Spices & herbs Lactoperoxidase Lysozyme	$< 0,91$ $< 4,6$ $> 2-3,5\%$ $\geq 120 \text{ ppm NO}_2$ $> 10 - 20\%$





1. Introduction (3c)

Classification <i>[Adapted from Bøgh-Sørensen, 1995]</i>	Some « hurdle » values <i>[After Labuza & Fu, 1995]</i>
MICROBIALY DERIVED Competitive flora Starter cultures Bacteriocins Antibiotics	
MISCELLANEOUS Monolaurin Free fatty acids Chitosan Chlorine	





1. Introduction (4)

- **Evolution - Exigences de qualité**
 - **Modification des modes de :**
 - Distribution
 - Conservation
 - Utilisation
 - **Formulation des exigences :**
 - Législation : autocontrôle, critères
 - Cahiers des charges
 - Certification produits, systèmes
 - Inspection, audit





2. Technologie des aliments et gestion de leur qualité microbiologique

Obstacles physiques	
1. Froid	Réfrigération, congélation, surgélation
2. Chaleur	Pasteurisation, stérilisation, etc...
Obstacles physico-chimiques	
3. A_w	Agents dépresseurs a _w , déshydratation
4. Gaz	Sous vide, atm. modif., absorbeurs O ₂
Obstacles microbiologiques	
5. Cultures starter (+pH)	Fermentation lactique

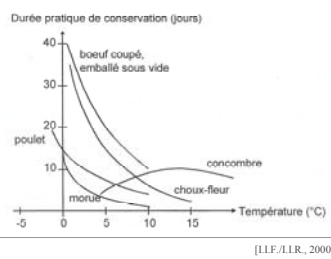




2.1. Froid Réfrigération

Produits

- qui respirent
= 'vivants'
Ex : fruits, légumes
- qui ne respirent pas
= 'morts'
Ex : viande, poisson





2.1. Froid Réfrigération

Microorganisme	Temp. minimale de croissance
<i>Yersinia enterocolitica</i>	- 1°C
<i>Listeria monocytogenes</i>	0°C
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0°C
<i>Clostridium botulinum</i> , type E	3,3°C
<i>Salmonella</i> spp.	5°C
<i>Bacillus cereus</i>	5°C
<i>E. Coli</i> O157:H7	7°C
<i>Staphylococcus aureus</i>	7°C
<i>Clostridium botulinum</i> , type A	10°C

[I.I.F./I.I.R., 2000]





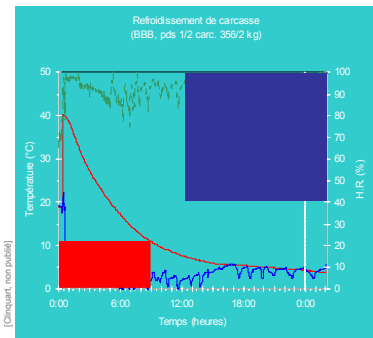
2.1. Froid Réfrigération





2.1. Froid Réfrigération

Exemple





2.2. Chaleur Traitements thermiques

- Conservation / Stabilisation
 - microbiologique
 - enzymatique
 - technologique





2.2. Chaleur Traitements thermiques

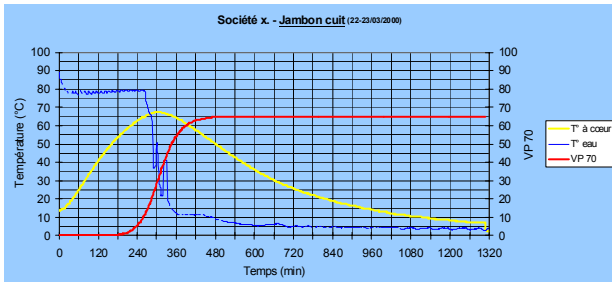
Purpose of pasteurisation for different foods			
Food	Main purpose	Subsidiary purpose	Minimum processing conditions ^a
$pH < 4.5$ Fruit juice	Enzyme inactivation (pectinesterase and polygalacturonase)	Destruction of spoilage micro-organisms (yeasts, fungi)	65°C for 30 min; 77°C for 1 min; 88°C for 15 s
Beer	Destruction of spoilage micro-organisms (wild yeasts, <i>Lactobacillus</i> species), and residual yeasts (<i>Saccharomyces</i> species)	=	65–68°C for 20 min (in bottle); 72–75°C for 1–4 min at 900–1000 kPa
$pH > 4.5$ Milk	Destruction of pathogens: <i>Brucella abortus</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , (<i>Coccidia burnetii</i>) ^b	Destruction of spoilage micro-organisms and enzymes	63°C for 30 min; 71.5°C for 15 s
Liquid egg	Destruction of pathogens <i>Salmonella seftenberg</i>	Destruction of spoilage micro-organisms	64.4°C for 2.5 min; 60°C for 3.5 min
Ice cream	Destruction of pathogens	Destruction of spoilage micro-organisms	65°C for 30 min; 71°C for 10 min; 80°C for 15 s

Felton, 2000]





2.2. Chaleur Traitements thermiques



Maitrise couple temps x température





2.3. A_w Effet obstacle ?

Approximate minimum a_w values for the growth of microorganisms of importance in foods

Organisms	a_w	Organisms	a_w
GROUPS			
Most spoilage bacteria	0.9	Halophilic bacteria	0.75
Most spoilage yeasts	0.88	Xerophilic molds	0.61
Most spoilage molds	0.80	Osmophilic yeasts	0.60
SPECIFIC ORGANISMS			
<i>Clostridium botulinum</i> , Type E	0.97	<i>Candida scottii</i>	0.92
<i>Pseudomonas</i> spp.	0.97	<i>Trichosporon pullulans</i>	0.91
<i>Acinetobacter</i> spp.	0.96	<i>Candida zeylanoides</i>	0.90
<i>Escherichia coli</i>	0.96	<i>Endomyces vernalis</i>	0.89
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.95	<i>Staphylococcus aureus</i>	0.86
<i>Bacillus subtilis</i>	0.95	<i>Alternaria citri</i>	0.84
<i>Clostridium botulinum</i> , Types A and B	0.94	<i>Penicillium patulum</i>	0.81
<i>Candida utilis</i>	0.94	<i>Aspergillus glaucus</i> *	0.70
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.94	<i>Aspergillus conicus</i>	0.70
<i>Botrytis cinerea</i>	0.93	<i>Aspergillus echinulatus</i>	0.64
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0.93	<i>Saccharomyces rouxii</i>	0.62
<i>Mucor spinosus</i>	0.93	<i>Monascus bisporus</i>	0.61
		<i>Xeromyces bisporus</i>	0.61

[Jay, 1986]

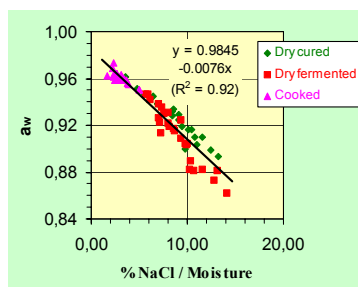




2.3. A_w Salage / salaison + Séchage

Water activity (a_w) and $\frac{NaCl}{Moisture}$ ratio of 79 Belgian meat products

[Cinquart et al., 1998]



5 avril 2006
 Microbiologie et viande, que faire demain ?
 Outils technologiques pour gérer la qualité microbiologique des aliments

2.4. Gaz
 Effet obstacle ?

Sous vide

Sous atmosphère modifiée

Air atmosphérique

ULg

5 avril 2006
 Microbiologie et viande, que faire demain ?
 Outils technologiques pour gérer la qualité microbiologique des aliments

2.4. Gaz
 Conditionnement sous atmosphère modifiée
Maîtrise volume et concentration gaz

Produit	Mélange de gaz	Volume de gaz (ml/100g)	Durée de conservation (jours)		Températ. de conserv. (° C)
			air atm.	atm. mod.	
Viandes rouges	80% O ₂ + 20% CO ₂	100 - 200	2 - 4	5 - 8	+2 à 3
Volailles	50-80% CO ₂ + 20-50% N ₂	100 - 200	7	16 - 21	+2 à 3
Prod. à base de viande	20% CO ₂ + 80% N ₂	50 - 100	2 - 4	28 - 35	+4 à 6

[D'après Röner, 1994]

Photo: Sirononi

ULg

5 avril 2006
 Microbiologie et viande, que faire demain ?
 Outils technologiques pour gérer la qualité microbiologique des aliments

2.5. Cultures starter
 Effet obstacle du pH

Niveaux de pH approximatifs permettant la croissance de quelques bactéries responsables de toxi-infections alimentaires

[Jay, 1986]

ULg



2.5. Cultures starter Fermentation lactique

Ex. : Saucisses fermentées

Microbié group	Species used as starters*	Useful metabolic activity	Benefits to sausage fermentation
Lactic acid bacteria	<i>L. plantarum</i> , <i>L. pentosus</i> , <i>L. sakei</i> , <i>L. variegatus</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>P. acidilactici</i>	Formation of lactic acid	Inhibition of pathogens and spoilage bacteria Acceleration of colour formation and drying
Catalase-positive cocci	<i>S. carnosus</i> , <i>S. xylosum</i> , <i>M. varians</i>	Nitrite reductase and oxygen consumption Proteinase destruction Lipolysis Nitrate reduction	Colour formation and stabilization Delay of rancidity Aroma formation Removal of excess nitrite
Yeasts	<i>Debaryomyces hansenii</i>	Oxygen consumption Lipolysis	Delay of rancidity Aroma formation
Moulds	<i>Penicillium stipitiforme</i> Isotypes 2, 3, 6	Oxygen consumption Proteinase destruction Lipase oxidation Presensitization Lipolysis	Colour stability Delay of rancidity Aroma formation Aroma formation Aroma formation

*Abbreviations: *L.*, *Lactobacillus*; *P.*, *Pediococcus*; *S.*, *Staphylococcus*; *M.*, *Micrococcus*.
[Locke, 1994]

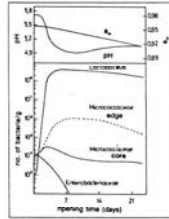


Fig. 5: Diagram showing the "normal" ripening of dry sausage (salami of German type, about 70 mm wide) based on data from REUTER (1967), AMBROSIOADIS (1981) and WIRTH (1984). Sausages made with 0.5–0.7% saccharose or glucose, nitrite (2.6–2.8% nitrite curing salt) as curing substance and at moderate ripening temperatures (in the first week 2–3 days at 22–24 °C, then 2–3 days at 20–22 °C). Unless otherwise stated the values relate to the core of the sausages.
[Locke, 1986]



2.5. Cultures starter pH de la viande et des produits à base de viande

Le pH du produit va dépendre :

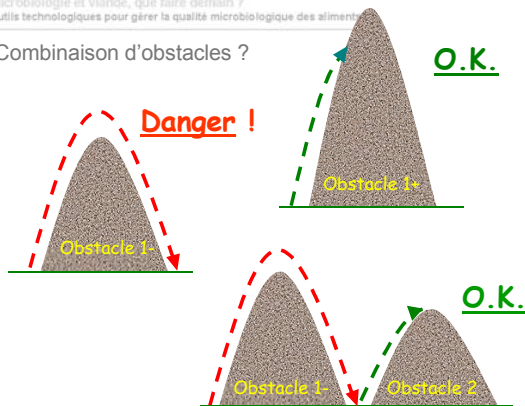
- du pH initial de l'aliment (des ingrédients)
- du traitement

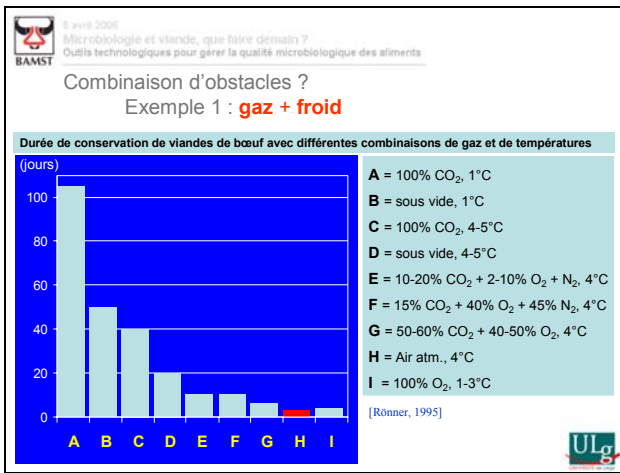
Viandes et prod. viande	pH
Muscle (animal vivant)	7,0-7,2
Viande (pH final normal)	5,3-5,8
Viande « P.S.E. » (pH1)	<5,8
Viande « D.F.D. » (pH24)	>6,2
Volaille	6,2-6,4
Jambon cuit	5,8-6,2
Jambon cru (maturé)	5,3-5,8
Pâté de foie	5,9-6,3
Saucisse de Francfort	5,8-6,3
Boudin noir	6,6-7,1
Saucisson sec	4,8-6,3

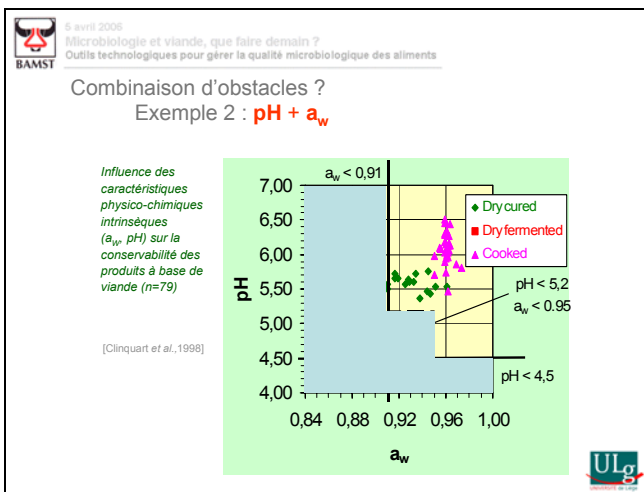
[d'après Hofmann, 1988]



Combinaison d'obstacles ?







- 5 avril 2006
 Microbiologie et viande, que faire demain ?
 Outils technologiques pour gérer la qualité microbiologique des aliments
3. Evolutions récentes et perspectives
- **Obstacles physiques**
 - Ultra-hautes pressions
 - Champs électriques pulsés
 - **Obstacles chimiques**
 - Composés à effet antioxydant
 - Composés à effet antimicrobien
 - **Obstacles biologiques**
 - Flores protectrices
-

6 avril 2006
 Microbiologie et viande, que faire demain ?
 Outils technologiques pour gérer la qualité microbiologique des aliments

L 158/4 FR Journal officiel de l'Union européenne 13.11.2004

RÈGLEMENT (CE) N° 1831/2004 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL
 du 27 octobre 2004
 concernant les matériaux et objets destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires et
 abrogeant les directives 80/590/CEE et 89/109/CEE

a) «matériaux et objets **actifs** destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires» (ci-après dénommés «matériaux et objets actifs»), les matériaux et objets destinés à prolonger la durée de conservation ou à maintenir ou améliorer l'état de denrées alimentaires emballées. Ils sont conçus de façon à **incorporer délibérément des constituants** qui libèrent ou absorbent des substances dans les denrées alimentaires emballées ou dans l'environnement des denrées alimentaires;

b) «matériaux et objets **intelligents** destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires» (ci-après dénommés «matériaux et objets intelligents»), les matériaux et objets qui contrôlent l'état des denrées alimentaires emballées ou l'environnement des denrées alimentaires;

ULg

6 avril 2006
 Microbiologie et viande, que faire demain ?
 Outils technologiques pour gérer la qualité microbiologique des aliments

4. Conclusion (1)

Les traitements appliqués aux aliments

- **contribuent** de manière très spectaculaire à (l'amélioration de) leur conservabilité,
- **ne sont qu'un moyen** parmi d'autres de contribuer à leur qualité et à leur sécurité sanitaire.

ULg

6 avril 2006
 Microbiologie et viande, que faire demain ?
 Outils technologiques pour gérer la qualité microbiologique des aliments

4. Conclusion (2)

Attention !
 l'amélioration de la conservation des aliments ne repose pas que sur les techniques de conservation
 Ex. : le nombre initial de microorganismes

x germes

Obstacle

X germes **Danger !**

Obstacle

ULg



4. Conclusion (3)

- Un effet « obstacle » n'est **reproductible** (et donc **sûr**) que dans des conditions précises
 - nombre de microorganismes,
 - composition de l'aliment,
 - conditions d'ambiance, etc...
- Une technique de conservation doit donc être **validée**
 - microbiologie prédictive
 - durée de vie microbiologique (D.L.C.)
 - *challenge-test* ('test de croissance')