



La réglementation européenne, communément appelée "Paquet Hygiène", composée entre autres du Règlement 852/2004 (1), demande aux exploitants du secteur alimentaire de maîtriser la qualité sanitaire finale des aliments préparés, c'est-à-dire de fournir au consommateur un aliment sain. Les professionnels ont la responsabilité des moyens nécessaires pour répondre à cette obligation de résultat. Pour y parvenir, ils peuvent avoir besoin de quantifier l'évolution des dangers bactériens lors des différentes étapes du procédé.

Le présent article tente de répondre au besoin des professionnels de l'agroalimentaire et de la restauration collective responsables de la sécurité alimentaire des aliments en leur proposant une méthodologie de calcul des potentiels de croissance/destruction microbiennes. Les résultats de calcul leur permettront ainsi d'évaluer les effets des couples temps-température sur la qualité microbiologique de leurs produits. Ce calcul est réalisé à partir de progiciels d'utilisation aisée ou par modèle mathématique simple. Un exemple est proposé à travers l'évolution de la forme végétative de *Clostridium perfringens* dans des portions de poulet. Les moyens de recueil des profils de température sont indiqués et la méthode de calcul des potentiels de croissance et de destruction microbiennes est précisée. Les résultats sont commentés. Les limites et les précautions pour leur interprétation sont discutées.

Approche quantitative de l'évolution des dangers

Comment évaluer les potentiels de croissance /destruction bactériennes

Le calcul de potentiels de croissance/destruction bactériennes constitue un outil intéressant pour évaluer la sécurité sanitaire des aliments. Des progiciels disponibles sur internet ou des modèles mathématiques simples permettent de répondre à ce besoin. Comment les utiliser ? Quelles en sont les limites et quelles sont les précautions à prendre ? Réponses à travers un exemple pratique : Appréciation de l'évolution de *Clostridium perfringens* dans des portions de poulet préparées en liaison froide.

ROSSET PH., MORELLI E., NOËL V., POUMEYROL G.
Agence française de sécurité des Aliments (Afssa),
Laboratoire d'Études et de Recherches sur la qualité des Aliments et sur les
Procédés agroalimentaires, Unité Sécurité microbiologique en restauration
hors foyer et dans les procédés industriels
94 MAISONS-ALFORT, France

Science et technique

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Pourquoi choisir *Clostridium perfringens*?

Les profils temps-température, présentés à titre d'exemple, sont issus d'une étude de suivi de températures réalisée dans des cuisines d'établissements hospitaliers. Ces cuisines sont organisées selon le principe de la liaison froide qui consiste à dissocier dans le temps et l'espace la préparation des aliments de leur consommation. Les aliments (viandes, légumes,...) sont cuisinés, rapidement refroidis puis entreposés en chambre froide pendant 2 à 3 jours. Le jour de leur consommation, ils sont assemblés, à l'état réfrigéré, pour constituer le plateau-repas du malade. La distribution des plateaux-repas vers les unités de soins est réalisée à l'aide de chariots spécifiques, permettant le maintien au froid puis la remise en température des denrées à consommer chaudes, tout en maintenant les autres aliments réfrigérés.

Dans le cas d'une denrée préparée à l'avance et distribuée suivant le principe de liaison froide, le principal danger microbiologique à prendre en compte est *Clostridium perfringens*.

Cette bactérie se présente sous deux formes, forme végétative et spore. La forme végétative est l'unique forme permettant la multiplication de la bactérie; elle est facilement détruite par la chaleur (cf. tableau 1). Dès que les conditions environnementales sont défavorables à sa multiplication, la forme végétative se transforme en spore (processus dénommé sporulation), forme très résistante de la bactérie. Lorsque le milieu redevient favorable, la spore se transforme en forme végétative (processus dénommé germination).

Lorsqu'elles sont mal maîtrisées, certaines étapes du procédé - refroidissement, remise en température - peuvent favoriser le développement des *C. perfringens*. Les formes sporulées présentes dans les matières premières (viandes, épices,...) étant thermorésistantes, elles ne sont pas en totalité détruites à la cuisson et peuvent, si le refroidissement est trop lent, se transformer en formes végétatives. Lorsque ces dernières sont en quantité suffisante dans l'aliment consommé, elles peuvent alors être à l'origine de toxi-infections alimentaires (TIA) (tableau 1). Le calcul des potentiels de croissance et de destruction sera donc à effectuer sur la forme végétative de *C. perfringens*.

Mesure des couples temps température

Pour enregistrer la température dans l'aliment on aura recours à un moyen de mesure n'entraînant pas de perturbation lors de la prise de température, tel que sonde autonome ou dispositif performant intégré à l'appareil de refroidissement ou de cuisson.

Dans notre cas nous utilisons un capteur (figure 1) de la taille et de la forme d'une pile bouton (Proges Plus, Willems, France). L'enregistrement (date et heure du début d'enregistrement, fréquence de mesure) de la température est programmé (logiciel Thermotrack®, Proges Plus, Willems, France) sur ordinateur en disposant le capteur sur un boîtier de lecture spécifique (figure 2).

Dans notre exemple, le capteur est placé au cœur de l'aliment; l'enregistrement de la température est effectué depuis la fin de la cuisson du poulet jusqu'à la fin de sa distribution aux consommateurs. À la fin du suivi de température, l'aliment instrumenté est retiré du circuit grâce à un repérage rigoureux. Le capteur est raccordé à l'ordinateur et une courbe temps-température est établie sur un fichier Excel.

Calcul du potentiel de croissance microbienne

Pour la phase de refroidissement après cuisson, la croissance de *C. perfringens* est calculée en recourant au site internet ComBase, Perfringens Predictor (www.combase.cc/browse.html), seul site aujourd'hui accessible sans abonnement et présentant un progiciel dédié à *C. perfringens*. Ce progiciel prend en compte le temps nécessaire à la spore de *C. perfringens* pour se transformer en forme végétative et retrouver ses capacités de croissance (tableau 1). Certaines caractéristiques de l'aliment considéré sont introduites : l'acidité (mesurée par le pH), le taux de sel et le caractère saumuré ou non. Les colonnes temps (en heures) et température (en °C) du profil temps-température sont ensuite, par copier/coller, transférées dans la fenêtre d'entrée de données. En cas de difficultés, une rubrique d'aide « Show me how » est disponible. Après lancement des calculs, les résultats s'affichent à l'écran accompagnés d'une courbe d'évolution et d'un commentaire.

Pour le calcul de la croissance lors de la phase de remontée en température, le progiciel Perfringens Predictor ne peut être utilisé car il n'accepte comme données que des profils de descente en température. Nous avons donc recours à un autre progiciel, ComBase Predictor, disponible également sur le site ComBase.

Le détail des équations mathématiques utilisées par les progiciels est indiqué dans les rubriques « About Perfringens Predictor » et « About ComBase Predictor ».

Calcul du potentiel de destruction microbienne

À ce jour, le site ComBase ne propose pas de modèle de destruction pour *C. perfringens*. De ce fait, nous avons recours au modèle de Bigelow (11, 12) pour réaliser ces calculs. Le modèle, sur fichier Excel, peut être obtenu par demande auprès des auteurs.

La modélisation de la destruction microbienne repose sur deux paramètres : les valeurs D et z. La valeur D représente le temps de traitement thermique permettant, à une température donnée, la réduction du nombre de cellules microbiennes d'un facteur 10 (ou $1 \log_{10}$), soit la destruction de 90% de la population bactérienne considérée. La valeur z correspond à la variation de température nécessaire pour entraîner une variation de D d'un facteur 10.

La littérature propose pour la forme végétative de *C. perfringens* plusieurs valeurs de D et z observées dans différents milieux (2, 3, 4, 5, 6). Par choix sécuritaire nous choisissons celles calculées pour le 3e quartile des valeurs D et z observées, le 3e quartile étant la valeur supérieure ou égale à 75% des valeurs observées. Ainsi pour le 3e quartile, D55 est égal à 12,4 min et z est égal à 9,3.

Figure 1
CAPTEUR DE TEMPÉRATURE



Figure 2
CAPTEUR DE TEMPÉRATURE ET DISPOSITIF DE RACCORDEMENT À L'ORDINATEUR



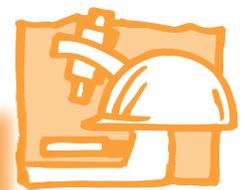


TABLEAU 1
RÔLE RESPECTIF DES FORMES VÉGÉTATIVES ET DES SPORES DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*
DANS LA GÈNESE D'UNE TOXI-INFECTION ALIMENTAIRE (TIA)

étape du procédé	Impact sur les formes végétatives (●) et les spores (■) de <i>C. perfringens</i>	Données bibliographiques
Matières premières Préparation	Notamment dans la viande et les épices : ● présence de formes végétatives, ■ présence de spores.	
Cuisson de l'aliment	● Formes végétatives : destruction rapide ■ Spores : destruction partielle.	● D ₅₅ entre 2 et 21,6 min (2, 3, 4, 5, 6) ■ D ₉₉ = 30 min. (*) (7)
Refroidissement (en cellule de refroidissement rapide)	■● Spores et formes végétatives → germination puis multiplication des formes végétatives en cas de refroidissement lent	Délai germination ≥ 1h30 (8)
Stockage au froid		
Transport	● Formes végétatives : multiplication possible en cas de rupture de la chaîne du froid.	● Température minimale de croissance : 10 °C (9)
Réchauffage	● Formes végétatives : - multiplication en cas de remontée en température lente, - destruction incomplète en cas de réchauffage insuffisant.	● Température maximale de croissance : 52,3 °C (10)
Consommation	●■ Formes végétatives → spores : - transformation des formes végétatives en spores (sporulation) dans le tube digestif du consommateur du fait de l'agressivité du milieu (acidité,...), - sporulation entraînant la libération d'entérotoxines qui provoqueront la TIA si les formes végétatives sporulantes sont en quantité suffisante	La dose infectante est souvent supérieure à 10 ⁵ cellules végétatives par gramme d'aliment (9)

(*) : valeur D (ou temps de réduction décimale). Durée d'application d'une température donnée (notée D_{température}) nécessaire pour détruire 90% du nombre de germes initialement présents.

RÉSULTATS

Les étapes de refroidissement après cuisson d'une part, de remise en température et de distribution aux consommateurs d'autre part, sont étudiées séparément.

Refroidissement après cuisson

Sont présentés à titre d'exemple trois profils observés lors de notre étude : le profil A caractéristique des situations les plus fréquentes, les profils B et C correspondant à des situations de refroidissement très lent, peu fréquentes mais intéressantes pour notre étude (figure 3). Les couples temps-température sont traduits en potentiels de croissance de *Clostridium perfringens* (tableau 2).

Les potentiels de croissance (tableau 2) sont calculés pour deux plages de températures : (i) entre 63 °C et 10 °C, valeurs préconisées par la réglementation française relative à la restauration collective (13); (ii) entre 54 °C et 26 °C, principales valeurs de températures retenues aux USA (14).

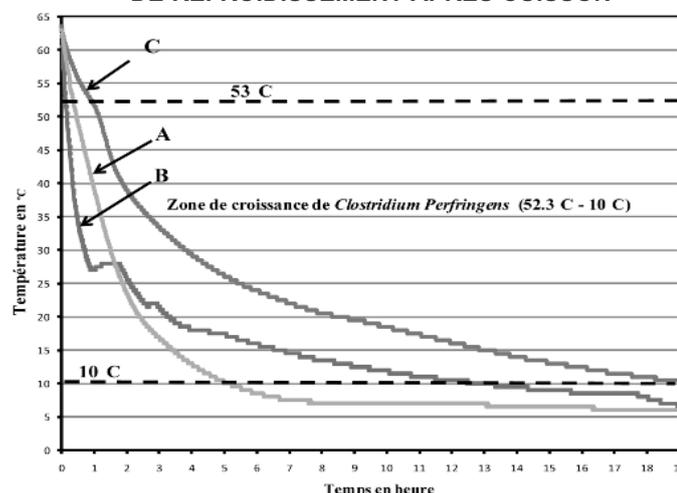
Pour le profil A, le calcul du potentiel ne met pas en évidence de croissance de *C. perfringens*. Pour

Tableau 2
TEMPS DE REFROIDISSEMENT APRÈS CUISSON ET POTENTIELS DE CROISSANCE DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* (PROGICIEL PERFRINGENS PREDICTOR *)

Profil	Temps de refroidissement (h, min)		Potentiel de croissance de <i>C. perfringens</i> (*) (Δlog ₁₀ cfu.g ⁻¹)	
	de 63 à 10 °C	de 54 à 26 °C	de 63 à 10 °C	entre 54 et 26 °C
C	19h 03	4 h 19	3	3
B	12 h 29	1 h 51	0	0
A	5 h 00	1 h 30	0	0

(*) Informations fournies au progiciel : pH : 6,2 NaCl : 0,2%, meat product uncured

Figure 3
PROFILS TEMPS-TEMPÉRATURE OBTENUS LORS DE L'ÉTAPE DE REFROIDISSEMENT APRÈS CUISSON



le profil C, nous pouvons constater que la croissance de *C. perfringens* est importante et se situe essentiellement entre 54 et 26 °C. Ceci est confirmé par l'analyse du profil B : la durée de passage de 1h 51 entre 54 °C et 26 °C ne permet pas de croissance.

Remise en température et distribution aux consommateurs

Pour l'étape de remise en température et de distribution aux consommateurs, sont présentés à titre d'exemple 3 profils correspondant à des situations observées lors de notre étude (figure 4). Dans ces

profils, deux phases sont à distinguer : une phase de croissance et une phase de destruction, chacune faisant l'objet d'un calcul de potentiel distinct.

La première phase permet la croissance de *C. perfringens* à partir de 10 °C - température minimale de croissance de cette bactérie - jusqu'à 53 °C - température maximale de croissance.

La seconde période, au-dessus de 53 °C, peut entraîner la destruction de la forme végétative de *C. perfringens*. La remise en température étant pratiquée par conduction sur des plaques chauffantes pendant un temps fixe prédéfini et identique

pour toutes les préparations (45 min), la température continue de s'élever par inertie après arrêt des éléments de chauffe. Afin de prendre en compte ce phénomène, le calcul de potentiel de destruction est réalisé d'une part en fin de remise en température/début de service (premier consommateur servi), d'autre part en fin de service (dernier consommateur servi).

Les potentiels de croissance sont calculés entre 10 °C et 53 °C, plage comprise entre les températures minimale et maximale de croissance. Par ailleurs les durées de remise en température de 10 °C à 63 °C sont signalées en référence à la réglementation française relative à la restauration collective (tableau 3).

Lors de la phase de remise en température, les potentiels de croissance sont négligeables pour ces trois profils du fait du temps de passage relativement court de 10 °C à 53 °C (tableau 3).

Les potentiels de destruction des formes végétatives de *C. perfringens* sont indiqués en tableau 4.

La destruction calculée correspond bien à l'effet attendu du fait des températures enregistrées. En effet pour le profil F, conduisant à une très faible destruction microbienne, la température maximale des aliments n'atteint que 54,5 °C. En revanche, le profil D (température maximale atteinte de 82 °C) entraîne une valeur de destruction supérieure à 12 unités \log_{10} cfu.g⁻¹, critère habituellement retenu pour considérer que la concentration en germe étudié est négligeable.

DISCUSSION

Le calcul des potentiels de croissance ou de destruction permet d'avoir une estimation de l'évolution du danger pour un procédé donné. À ce titre, il constitue un outil intéressant pour les professionnels de l'agroalimentaire dans leur analyse des dangers. Toutefois les résultats sont à interpréter avec précaution en prenant en compte : (i) la méthodologie suivie pour la mesure des températures; (ii) les limites propres à la modélisation; (iii) l'évolution maximale acceptable du danger pour l'ensemble du procédé ainsi que pour ses différentes étapes.

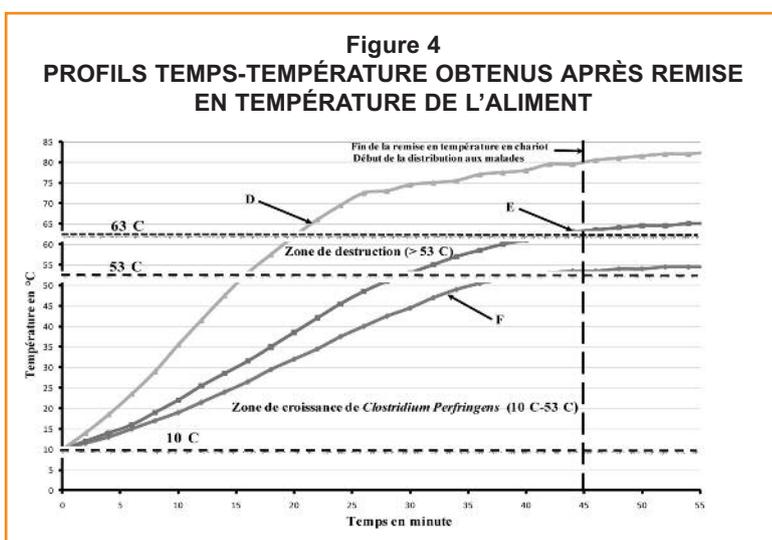


Tableau 3
DURÉE DE REMISE EN TEMPÉRATURE ET POTENTIEL DE CROISSANCE DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS (PROGICIEL COMBASE PREDICTOR *)

Profil	Durée de remise en température (min)		Potentiel de croissance de <i>C. perfringens</i> (*) ($\Delta\log_{10}$ cfu.g ⁻¹)
	de 10 à 63 °C	de 10 à 53 °C	entre 10 et 53 °C
F	(**)	42	0,1
E	44	30	0,1
D	32	16	0

(*) Informations fournies au progiciel :
Initial level : 1 Physiologic state ; 0,5 pH ; 6,2 NaCl ; 0,2%
(**) Température de 63 °C non atteinte

Tableau 4
POTENTIELS DE DESTRUCTION DE LA FORME VÉGÉTATIVE DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS EN DÉBUT ET FIN DE DISTRIBUTION

Profil	Potentiel de destruction de la forme végétative de <i>C. perfringens</i> ($\Delta\log_{10}$ cfu.g ⁻¹)	
	en fin de remise en température/début de distribution	en fin de distribution
F	-0,2	-0,7
E	-4,9	>> -12
D	>> -12	>> -12

Méthodologie des mesures de température : l'exploitant doit s'assurer que la température mesurée est bien représentative de la situation réelle. Pour ce faire, il convient tout d'abord de s'assurer que la mesure de température est effectuée au point le plus défavorable : (i) à cœur de la viande et non dans la sauce ; (ii) au centre géométrique du contenant ; (iii) pour l'étape de refroidissement au point le plus chaud de l'appareil, ou pour l'étape de réchauffage à l'endroit le plus froid. Pour déterminer ces emplacements dans l'appareil une étude préalable est utile. Enfin le capteur de température utilisé doit être fiable et faire l'objet d'un étalonnage ou d'une vérification périodique.

Limites de la modélisation : les résultats obtenus ne sont qu'une estimation plus ou moins précise de la réalité : les caractéristiques effectives de la denrée étudiée telles que le pH, la teneur en matières grasses, en NaCl, peuvent différer de celles qui ont été utilisées pour la modélisation. De même le comportement réel des bactéries potentiellement présentes dans l'aliment peut être différent du comportement théorique : certaines étapes du procédé (cuisson, refroidissement,...) pouvant entraîner une agression (stress ou inhibition) génératrice de modification de comportement (sensibilité accrue/diminuée à la température, vitesse de croissance/destruction accrue/diminuée...). Enfin, il est à noter que le potentiel de croissance ou de destruction calculé ne concerne qu'un nombre limité de profils temps-température enregistrés dans des conditions données. Il est donc nécessaire de répéter les mesures de température afin de cerner au mieux la réalité et de prendre en compte autant que possible les situations défavorables.

Détermination de l'évolution maximale acceptable : les mesures de maîtrise mises en place aux différentes étapes d'un procédé donné doivent permettre de fournir

au consommateur un aliment dans lequel une concentration maximale acceptable du danger, appelée FSO (Food Safety Objective) (15, 16, 17), n'est pas dépassée.

Un moyen pour y parvenir est de définir les évolutions maximales acceptables du danger (CP ou Critère de Performance) (17) à chaque étape clé du procédé. Ainsi, pour le danger *C. perfringens* à l'étape de refroidissement après cuisson, le critère de performance retenu par certains auteurs (18) est l'augmentation d'un facteur 10 ($\Delta \log_{10} = 1$) des formes végétatives. Les profils A et B (figure 3) répondent à cet objectif et peuvent donc a priori être considérés comme non dangereux vis-à-vis de la sécurité sanitaire.

Néanmoins en restauration collective, du fait des importantes sources de variabilité existant dans les cuisines, les calculs simples de potentiels de croissance issus de profils temps-température ne sont pas suffisants pour obtenir des dérogations à la réglementation.

Ce type d'approche peut être très utile pour apprécier l'efficacité d'une mesure de maîtrise. Elle peut servir à répondre aux interrogations sur la sécurité sanitaire liée à une (ou plusieurs) étape(s) d'un procédé de fabrication. Cela peut concerner par exemple les étapes sensibles de la chaîne du froid, les phases de refroidissement, de décongélation ou de remise en température.

Bien que les résultats obtenus ne soient qu'une estimation plus ou moins précise de la réalité, ils permettent pour un procédé donné d'apprécier si la marge existante entre l'incidence du procédé sur la qualité microbiologique et les objectifs de sécurité sanitaire est importante.

Si c'est le cas, et après s'être assuré que les situations défavorables (temps et températures appliqués, composition du produit, contamination microbienne initiale...) ont bien été prises en compte, les paramètres du procédé seront acceptés.

Si à l'inverse les résultats montrent une marge faible avec les objectifs de sécurité sanitaire, il est nécessaire de compléter l'étude en ayant recours à des investigations plus poussées, telle que la quantification des sources de variabilité associées au procédé en utilisant des outils de modélisation probabiliste, ou l'interprétation statistique des résultats des analyses microbiologiques, et/ou la réalisation de tests de croissance.

CONCLUSION

Pour apprécier la sécurité sanitaire d'un procédé, l'exploitant peut avoir recours à une analyse quantitative de l'évolution des dangers microbiologiques. Le calcul des potentiels de croissance ou de destruction réalisé à partir des progiciels actuellement disponibles sur internet (site ComBase par exemple), ou par des modèles mathématiques simples, constitue un outil utile pour répondre à ce besoin.

Couplée à une caractérisation rigoureuse du procédé et à une mesure correcte des couples temps-température aux différentes étapes, l'estimation des potentiels de croissance ou de destruction bactérienne permet une première appréciation de la sécurité sanitaire d'un procédé de fabrication d'un aliment. Cela peut être très utile quand des interrogations existent sur l'efficacité sanitaire d'une mesure de maîtrise.

Les résultats qui découlent de cette analyse étant estimatifs, l'exploitant ne pourra considérer une mesure de maîtrise comme satisfaisante que si la marge sécuritaire est importante. Dans certains cas, ces marges de sécurité peuvent s'avérer difficilement applicables, voire non-réalistes vis-à-vis des contraintes techniques et/ou économiques, le gestionnaire peut alors utiliser des outils d'investigation plus performants et en particulier adopter une approche probabiliste.

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

- (1) **RÈGLEMENT (CE) N°852/2004 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL DU 29 AVRIL 2004** relatif à l'hygiène des denrées alimentaires. (2004) JOUE du 29-04-2004, 19 p.
- (2) **BYRNE B., DUNNE G., BOLTON D.J. (2006)** Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores in pork luncheon roll. Food Microbiol., 23 (8), 803-8
- (3) **HEREDIA N.L., GARCIA G.A., LUEVANOS R., LABBE R.G., GARCIA-ALVARADO J.S. (1997)** Elevation of the heat resistance of vegetative cells and spores of *Clostridium perfringens* type A by sublethal heat shock. Journal of Food Protection, 60 (8), 998-1000.
- (4) **JUNEJA V.K., MARMER B.S. (1998)** Thermal inactivation of *Clostridium perfringens* vegetative cells in ground beef and turkey as affected by sodium pyrophosphate. Food Microbiol., (15), 281 - 7.
- (5) **SARKER M.R., SHIVERS R.P., SPARKS S.G., JUNEJA V.K., MCCLANE B.A., (2000)** Comparative experiments to examine the effects of heating on vegetative cells and spores of *Clostridium perfringens* isolates carrying plasmid genes versus chromosomal enterotoxin genes. Appl. Environ. Microbiol., 66 (8), 3234-40.
- (6) **WIJNANDS L.M. (2009)** Food borne disease associated with *Clostridium perfringens* : investigations on exposure assessment. Congrès « Spore forming bacteria in food SPORE » Quimper (France), 17-19 juin, poster.
- (7) **BRADSHAW J.G., PEELER J.T., TWEDT R.M. (1977)** Thermal inactivation of ileal loop-reactive *Clostridium perfringens* type A strains in phosphate buffer and beef gravy. Appl. Environ. Microbiol., 34 (3), 280-4.
- (8) **SANCHEZ-PLATA M.X., AMEZQUITA A., BLANKENSHIP E., BURSON D.E., JUNEJA V., THIPPAREDDI H. (2005)** Predictive model for *Clostridium perfringens* growth in roast beef during cooling and inhibition of spore germination and out-growth by organic acid salts. J.Food Protect, 68 (12), 2594-2605.
- (9) **AFSSA (2006)** Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments : *Clostridium perfringens*. Site www.afssa.fr ; rubrique « autres publications » ; fiches, thème MIC.
- (10) **JONG (DE) A.E.I., BEUMER R.R., ZWIETERING M.H. (2005)** Modeling growth of *Clostridium perfringens* in pea soup during cooling. Risk Analysis, 25 (1), 61-73.
- (11) **BIGELOW W.D., ESLY J.R. (1920)** The thermal death point in relation to typical hemophilic organisms. J. Infect. Dis. (27), 602-17.
- (12) **MAFART P. (1999)** Les modèles de destruction thermique des microorganismes. Sci. Aliments, (19), 131-46.
- (13) **ARRÊTÉ DU 21 DÉCEMBRE 2009** relatif aux règles sanitaires applicables aux activités de commerce de détail, d'entreposage et de transport de produits d'origine animale et denrées alimentaires en contenant JORF 0303 31/12/2009, page 23335 texte 241.
- (14) **USDA FSIS (1999)** Performance standards for the production of certain meat and poultry products. Final rule. US Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service, Federal register, 64, 732-49.
- (15) **ICMSF (INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS) (2002)** Micro-organisms in foods Vol. 7. Microbiological testing in food safety management. Kluwer Academic/Plenum Publ., New York (USA), 33-4.
- (16) **CERF O. (2008)** L'innocuité des aliments : de la maîtrise des dangers à la gestion des risques. Revue Générale du Froid, (1081), 53-7.
- (17) **GORRIS L. (2005)** Food safety objective : an integral of food management. Food Control, 16 (9), 801-9.
- (18) **SMITH-SIMPSON S., SCHAFFNER W.D. (2005)** Development of a model to predict growth of *Clostridium perfringens* in cooked beef during cooling. J. Food Protect. 68 (2), 336-41.