

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université 8 mai 1945-Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de Biologie

Polycopié pour le Master Qualité des Produits et
Sécurité Alimentaire

Aspect Microbiologique de la Sécurité et de la Qualité

Elaboré par Dr. GUEROUI Yassine

Année Universitaire 2017/2018

TABLE DES MATIÈRES

	Page
Introduction	1
Chapitre I : Comportement des microorganismes dans les aliments	
1. Origine des microorganismes dans les aliments	2
2. Conditions de la multiplication des microorganismes dans les aliments	4
3. Conséquence de l'activité microbienne au niveau de l'aliment	8
4. Microbiologie prévisionnelle	9
Chapitre II : Intoxications alimentaires	
1. Agents infectieux responsable de Toxi-infections alimentaires	16
1.1. Genre <i>Salmonella</i>	16
1.2. Genre <i>Campylobacter</i>	18
1.3. Genre <i>Listeria</i>	19
1.4. Staphylocoques	21
1.5. <i>Clostridium botulinum</i>	22
1.6. <i>Clostridium perfringens</i> ,	24
1.7. <i>Bacillus cereus</i>	25
1.8. <i>Yersinia enterocolitica</i>	27
1.9. Mycotoxines	29
1.10. Amines biogènes	34
Chapitre III : Principales flores d'altération des aliments	
1. <i>Pseudomonas</i> et autres bactéries Gram (-) d'altération	37
1.1. Bactéries psychrotrophes	37
1.2. Genre <i>Pseudomonas</i>	37
1.3. Autres bactéries Gram (-)	42
1.3.1. La famille des <i>Enterobacteriaceae</i>	42
1.3.2. <i>Achromobacter</i>	45
1.3.3. <i>Acinetobacter</i>	46

1.3.4. <i>Alcaligenes</i>	46
1.3.5. <i>Flavobacterium</i>	47
1.3.6. <i>Moraxella</i>	47
2. Levures	47
3. Moisissures	50

Chapitre IV : Étude de la microflore des différents aliments et de ses effets

1. Eaux de consommation	53
2. Laites et produits laitiers non fermentés	55
3. L'œuf et les ovoproduits	60
4. Viandes de volailles	61
5. Autres viandes et produits carnés	62
6. Poissons et autres produits de la mer	64
7. Fruits	65
8. Légumes	66
9. Céréales et produits dérivés	69
10. Boissons rafraîchissantes non-fermentées	70

Chapitre V : Prévention des contaminations

1. Maîtrise de l'hygiène dans l'industrie alimentaire	73
2. Désinfection	75
3. Filtration de l'air pour la maîtrise de la qualité dans les IAA	77
4. Maîtrise de la contamination microbienne aéroportée des aliments	77
5. HACCP = un outil pour l'assurance de la sécurité des aliments	78

Chapitre VI : Techniques de conservation des aliments

1. Elimination des microorganismes	86
1.1. Pasteurisation et stérilisation thermique	86
1.1.1. Destruction de microorganismes par la chaleur	86
1.1.2. Stérilisation	88
1.1.3. Pasteurisation	91
1.2. Filtration stérilisante	92
1.3. Traitements ionisants	93

1.3.1. Radiations électromagnétiques	93
1.3.2. Radiations électroniques	93
1.3.3. Radiations soniques	94
2. Stabilisation des aliments par inhibition de la croissance de la microflore	94
2.1. Réfrigération et congélation	94
2.1.1. Réfrigération	94
2.1.2. Congélation	95
2.2. Conservation sous vide et sous atmosphère modifiée	96
2.2.1. Conservation sous vide	96
2.2.2. Conservation et sous atmosphère modifiée	97
2.3. Conservateurs chimiques	97
2.3.1. Définition	97
2.3.2. Principaux conservateurs	97
a. Conservateurs de nature minérale	97
b. Conservateurs de nature organique	98
Références Bibliographiques	100

Introduction

Au cours de nombreux millénaires, l'humanité a appris que les espèces végétales et animales sont comestibles et comment les plus utiles entre elles pourraient être cultivées, récoltées et stockées pour fournir un approvisionnement d'aliments sains et nutritifs tout au long de l'année. Au cours de l'urbanisation, il a été reconnu que certaines pratiques établies pour la préparation et l'entreposage des denrées alimentaires pourraient conduire à des maladies associées aux aliments. Le public est en droit d'attendre que les aliments qu'il consomme soient sans danger et propres à la consommation. Les intoxications alimentaires et les maladies transmises par les aliments sont dans la meilleure des hypothèses déplaisantes; au pire, elles peuvent être fatales. Mais elles ont aussi d'autres conséquences. Les foyers d'intoxication alimentaire peuvent perturber les échanges, et entraîner un manque à gagner, du chômage et des litiges. La détérioration des aliments est une source de gâchis, elle est coûteuse et peut se répercuter négativement sur le commerce et la confiance des consommateurs.

Les échanges internationaux de denrées alimentaires et les voyages à l'étranger sont en augmentation, apportant des avantages économiques importants. Mais cela facilite aussi la propagation des maladies à travers le monde. En outre, les habitudes alimentaires ont considérablement évolué dans de nombreux pays au cours des vingt dernières années et de nouvelles techniques de production des aliments se sont développées en conséquence. Un contrôle efficace de l'hygiène est donc essentiel pour éviter les conséquences négatives, sur la santé publique et sur l'économie, des intoxications alimentaires et des maladies transmises par les aliments, ainsi que de la détérioration des aliments. Chacun de nous - agriculteurs et cultivateurs, fabricants et industriels, personnel chargé de la manutention des aliments et consommateurs - a la responsabilité de s'assurer que les aliments sont salubres et propres à la consommation.

Ce support de cours vise d'approfondir les connaissances aux étudiants et permettra, d'améliorer leurs compétences et de s'entraîner sur des cas proches de la réalité. Le présent cours est réparti en trois chapitres : Comportement des microorganismes dans les aliments, Intoxications alimentaires, Principales flores d'altération des aliments, Étude de la microflore des différents aliments et de ses effets, Prévention des contaminations, Techniques de conservation des aliments.

Le cours ne renvoie à aucune référence particulière. Il a pour origine plusieurs ouvrages

1. Origine des microorganismes dans les aliments

Les aliments sont des substances nécessaires à la croissance et l'entretien de notre organisme. Ils sont très nombreux et existent sous des formes très variables d'origines animales et végétales. La flore microbienne normalement associée aux plantes et aux animaux est potentiellement présente à côté de l'apport microbien exogène qui est souvent inéluctable. Les microorganismes contaminants sont très variés et peuvent être classés en deux catégories : **Endogène et Exogène.**

1.1. Contamination d'origine endogène

Les microorganismes préexistent dans la matière brute ou l'aliment avant toute manipulation. Ils proviennent de l'organisme animal ou végétal à partir duquel est produit l'aliment.

a. Microorganismes appartiennent aux flores commensales de l'organisme

La plupart des contaminants d'origine endogène sont cependant d'origine intestinale. Ils peuvent être des bactéries anaérobies (*Clostridium*, *Bacteroides*), aéro-anaérobies (Entérobactéries) et micro-aérophile (Entérocoques, *Campylobacter*).

b. L'aliment est préparé à partir d'un organisme malade

Ce type de contamination est moins fréquent du fait des contrôles vétérinaires alors que les produits végétaux ne constituent pas un grand danger pour le consommateur du fait que les microorganismes phytopathogènes sont presque inoffensifs pour l'homme et l'animal.

1.2. Contamination d'origine exogène

Elle se définit comme l'apport accidentel des microorganismes lors de la transformation de la matière première :

1.2.1. Aliments contaminés par des microorganismes provenant des milieux naturels

a. Flore du sol

Le sol est naturellement pourvu en microorganismes différents : Bactéries, Champignons ou même des Algues microscopiques. Un gramme de terre prélevé à la surface d'un champ peut contenir deux milliards de bactéries ou bien trois milliards si le prélèvement est provient d'un sol de forêt. Parmi les microorganismes les plus représentés, on trouve :

- **Bactéries** : Actinomycètes (100.000 à 30.000.000 par gramme de terre), *Achromabacter*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Sarcina*, *Azotobacter*, *Nitrobacter*, *Nitrosomonas*...etc.

Chapitre I : Comportement des microorganismes dans les aliments

- **Moisissures** : *Aspergillus*; *Rhizopus*, *Penicillium*, *Trichothecium*, *Bothrytis*, *Fusarium* ... etc.

- **Levures** : *Saccharomyces* , *Rhodotorula* , *Torula* ...etc., souvent associées aux plantes dans le sol.

b. Flore de l'eau

Généralement lorsque l'eau est indemne de toute pollution d'origine animale ou humaine, les microorganismes présents dans l'eau proviennent des plantes aquatiques et des végétaux bordant le cours d'eau. La flore est très diversifiée : des Bacilles à Gram négatif tels que : *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes* et aussi des Cocci à Gram positif : Microcoques qui se développent bien en milieux humides.

En revanche, les cours d'eau peuvent recueillir des polluants humains ou animaux changeant des microorganismes intestinaux : Entérobactéries, Entérocoques, *Clostridium*. Parmi ces derniers, on peut trouver des germes pathogènes (*Salmonella*), alors que, la flore d'origine fécale peut engendrer plusieurs infections. Donc, la contamination des aliments par une eau polluée peut être dommageable : Intoxication, Altération.

c. Flore de l'air

L'air est un milieu qui ne contient pas des éléments nutritifs, donc, les microorganismes qui y sont présents n'ont pas la capacité de s'y multiplier durablement, ils sont considérés en transit.

L'air d'une salle où la composition de la flore dépend de l'activité qui y exercée ; les microorganismes sont fixés sur les poussières arrachées du sol et disséminées par le vent, les chaussures et les vêtements. Les bactéries apportées par l'air extérieur sont des Microcoques, des Staphylocoques, des *Bacillus*, des Bactéries provenant du rhino-pharynx projetées avec les particules de la salive et aussi des spores de moisissures.

1.2.1. Aliments contaminés par les microorganismes de la flore commensale de l'homme et des animaux à l'occasion d'un contact direct avec la peau

a. Flore de la peau

Les microorganismes se trouvent sur les couches kératinisées de la peau. Deux espèces sont constantes quelque soit l'endroit cutané : *Staphylococcus epidermidis* et *Propionibacterium acnes*. D'autres espèces sont fréquentes comme les Corynébactéries, les Microcoques, les levures et les moisissures. Certaines espèces ne sont présentes qu'occasionnellement ou sur des sites particuliers tels que : *Staphylococcus aureus* dans les fosses nasales et sur le périnée.

b. Flore cutanée résidente et transitoire

La flore cutanée résidente est constituée par l'ensemble des espèces microbiennes qu'on peut trouver en quantité notable dans tous les prélèvements. Elle varie selon les zones considérées, par exemple : *Staphylococcus epidermidis* sur la main et *Staphylococcus aureus* sur le périnée.

En effet, les germes de la flore transitoire sont souvent pathogènes, occasionnellement pathogènes ou même pathogènes opportunistes : *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas*, Entérobactéries, *Acinetobacter*...etc.

Donc, le contact des denrées alimentaires avec la peau lorsque les conditions d'hygiène sont négligées, peut être à l'origine des contaminations par des microorganismes d'origine fécale et susceptibles d'engendrer des Toxi-infections alimentaires.

c. Lieu de transformation des aliments

Le travail des aliments dans l'usine ou en cuisine est considéré comme une source de nouvelles contaminations potentielles. Les microorganismes s'attachent bien aux parois en bois, en verre et aux surfaces métalliques au contraire des objets en matières plastiques. Le contact entre l'aliment et les surfaces sales augmente leur charge microbienne.

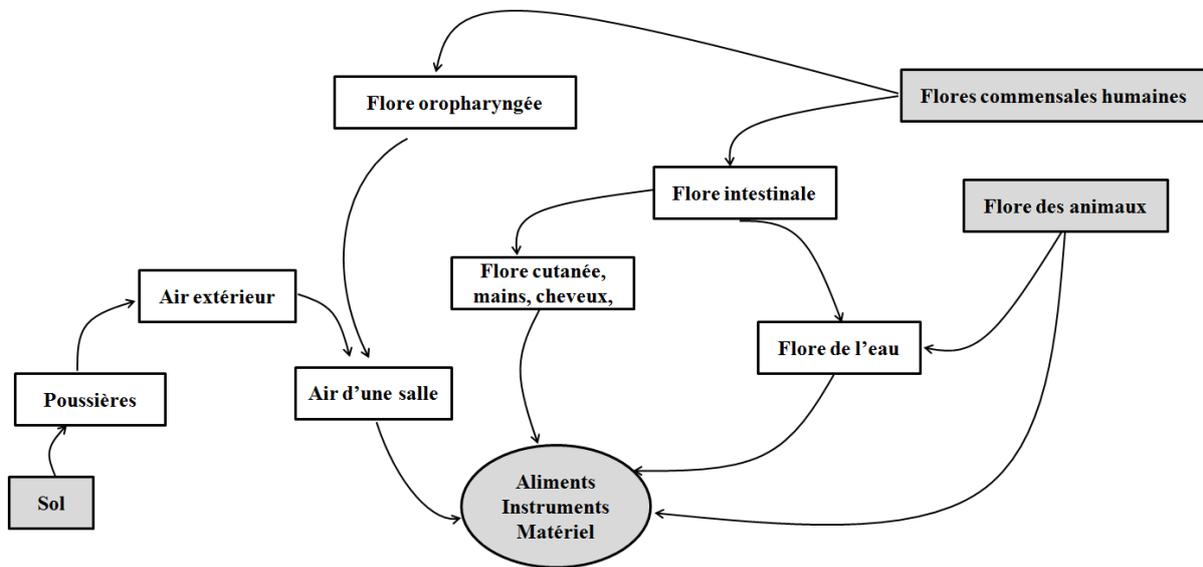


Figure 01 : Origine des contaminants dans les aliments (modifiée) (Leyral & Vierling, 2007).

2. Conditions de la multiplication des microorganismes dans les aliments

Dans les aliments, la croissance des germes est influée par nombreux facteurs. Seuls quelques microbiens adaptés à ces facteurs pourront s'y maintenir et s'y développer ; ceci explique que la flore définitive d'un aliment soit sensiblement différente de la flore originelle.

2.1. Facteurs intrinsèques

Les facteurs intrinsèques tenant aux caractères physico-chimiques de la substance qui les héberge :

2.1.1. pH

L'action du pH se situe à trois niveaux : l'aliment, la perméabilité membranaire et l'activité métabolique. Le pH de l'aliment favorisera d'autant mieux la prolifération qu'il sera voisin du pH optimum de croissance.

De nombreux moisissures et levures préfèrent pour leur développement un pH acide (3 à 6) et se développent même pour certaines espèces à pH entre 1,5 et 2 (*Saccharomyces bailii*). C'est pourquoi les moisissures et les levures sont les microorganismes les plus représentés à la surface des fruits acides. Au contraire, les viandes et les poissons, dont le pH est proche de 7, constituent un substrat favorable pour le développement des bactéries. Pour la plupart d'entre elles, ces limites sont assez larges : *E. Coli* se multiplie à partir du pH 4,4 jusqu'à pH 9. D'autres, au contraire ont une préférence marquée pour les milieux fortement acides ou basiques. Les *Lactobacillus* exigent un pH relativement bas voisin de 6, ces germes sont appelées **acidophiles** et jouent un rôle essentiel dans l'évolution naturelle ou provoquée des produits laitiers. Les *Vibrio* se reproduisent au pH optimal de 9, on les appelle des **basophiles** ou **alcalophiles**.

2.1.2. Potentiel d'oxydoréduction

C'est surtout vis-à-vis l'oxygène que les exigences gazeuses des microorganismes sont précises : certains sont **aérobies stricts**, exigeant l'oxygène libre pour leur développement ; d'autres, **anaérobies stricts**, ne peuvent se multiplier qu'en l'absence d'oxygène libre ; d'autres encore sont **aéro-anaérobies** capables de croître avec ou sans oxygène libre ; d'autres enfin, les **micro-aérophiles**, ne se reproduisent qu'en présence d'une faible tension d'oxygène.

Le potentiel d'oxydoréduction d'un aliment dépend :

- De sa composition et de sa texture ;
- De son conditionnement :
 - Avec emballage ;
 - Emballage plus ou moins perméable à l'air ;
 - L'aliment se trouve ou non sous une atmosphère artificielle (vide, atmosphère d'azote et de dioxyde de carbone).

2.1.3. Activité de l'eau

L'eau dans un aliment est plus ou moins disponible, on distingue l'eau libre et l'eau liée retenue par les molécules de l'aliment. On désigne sous le nom d'activité de l'eau ou **Aw**, un paramètre de l'aliment mesurant la disponibilité globale de l'eau pour participer à des réactions chimiques ou se transformer en vapeur. Elle est définie comme étant le rapport de la pression de vapeur saturante du milieu (aliment) à la pression de vapeur saturante de l'eau pure à la même température (**Aw = P/Po**). L'activité de l'eau d'une eau pure est égale à 1. Par contre, elle varie de 0 à 1 pour une solution (ou aliment).

Chaque aliment est caractérisé par son Aw. On peut, d'autre part, déterminer pour chaque groupe bactérien, une valeur de l'Aw au-dessous de laquelle la croissance sera inhibée. Lorsque l'humidité relative d'un aliment, donc son Aw, est élevée, la plupart des microorganismes peuvent s'y installer. Ce sont les bactéries qui s'y développer car elles prolifèrent plus vite que les champignons microscopiques.

Tableau 01 : Aw de quelques microorganismes et aliments (Meyer *et al.*, 2004).

Microorganismes	Aliments
<i>Acinetobacter</i> (0,99)	Viandes (0,99)
<i>Clostridium botulinum</i> (0,97)	Raisin (0,986)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (0,957)	Pommes (0,98)
<i>E. coli</i> (0,95)	Confiture (0,75-0,80)
<i>Salmonella spp.</i> (0,95)	Céréales (< 0,70)
<i>Staphylococcus aureus</i> (0,86)	Chocolat (< 0,60)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (0,90-0,94)	
<i>Mucor</i> (0,80-0,90)	
<i>Aspergillus flavus</i> (0,78)	

2.1.4. Composition chimique de l'aliment

La plupart des microorganismes se développent sur un aliment y trouvent l'ensemble des nutriments pour leur croissance. Rappelons que les microorganismes dangereux sont pour la plupart hétérotrophes chimio-organotrophes et doivent donc trouver leur énergie dans les composants de l'aliment. Ils doivent aussi y trouver de l'eau, une source d'azote, des minéraux et pour certains des vitamines et des facteurs de croissance. Plus la diversité de composition d'un aliment est grande (produits animaux tels que les viandes et dérivés, le lait) et plus sa susceptibilité à servir de milieu de culture est grande.

Certains microorganismes sont cependant spécialisés : pectinolytiques (hydrolysant la pectine), cellulolytiques, lignolytiques...etc., ils se développent préférentiellement soit sur ces substrats, soit sur et dans les aliments riches en pectine, en cellulose, en lignine...etc.

2.1.5. Agents antimicrobiens naturellement présents dans l'aliment

Les substances antimicrobiennes existent déjà dans les aliments sont d'origine végétale ou animale. Le lait frais contient des lacténines et des facteurs anti-coliformes à activité limitée dans le temps. L'œuf contient du lysozyme actif sur des germes à Gram positif. Les ailées contiennent de l'acide benzoïque actif sur les levures et moisissures ; des composés comme le thymol (thym), l'eugénol (clou de girofle) ou l'aldéhyde cinnamique (cannelle) ont des activités antimicrobiennes.

2.2. Facteurs extrinsèques

Ces paramètres sont liés aux caractéristiques de l'environnement de l'aliment et influencent à la fois la stabilité du produit et le comportement des microorganismes qu'il contient.

2.2.1. Température

La température influence profondément la croissance aussi bien que le métabolisme des microorganismes. Selon la température optimale de développement on distingue :

- Les **mésophiles** (mésos = médiane) préférant une température moyenne comprise entre 20 °C et 40 °C (optimum : 30-37 °C).
- Les **psychrophiles** (psychro = froid), dont la température optimale de croissance est située aux environs de 10 °C, mais qui peuvent se développer à 0 °C.
- Les **psychrotrophes**, plus proches des mésophiles, ayant un optimum à 25 °C mais pouvant s'adapter à 0 °C.
- Les **thermophiles** (thermo = chaud) qui se multiplient préférentiellement entre 45 et 55 °C.
- Les **thermophiles extrêmes** (hyper-thermophiles), ayant un optimum situé vers 70 °C.
- Les **thermotrophes**, qui se développent aux environs de 50 °C mais plus nettement à la température moyenne de 30 °C.

Cette classification n'a pas de limites strictes, il peut exister des chevauchements d'un groupe à l'autre. Les conditions de stockage influencent la composition de la flore microbienne d'un aliment, cependant, l'exposition au froid favorise les espèces psychrotrophes et psychrophiles comme les espèces de *Pseudomonas*, *Flavobacterium* mais aussi *Listeria* et *Yersinia* dont elles sont responsables des toxi-infections alimentaires.

Inversement, le maintien d'un aliment à une température élevée a pour effet de détruire les espèces psychrotrophes et psychrophiles et de sélectionner les microorganismes thermophiles.

2.2.2. Humidité relative

L'humidité relative influe à la fois sur l'activité de l'eau de l'aliment et sur la croissance des microorganismes à la surface de cet aliment. Par contre, un endroit sec avec très peu d'eau dans l'air sèche la surface du produit alimentaire. Par exemple quand un aliment a une activité d'eau de 0,6 il faut éviter que les conditions d'humidité relative de l'atmosphère environnante ne conduisent pas à une augmentation de l'activité d'eau en surface jusqu'à une valeur compatible avec une croissance microbienne.

2.2.3. Gaz environnants ou l'atmosphère de conservation

Pour les germes aérobies, la présence de l'O₂ favorise leur multiplication. Une augmentation de la teneur en CO₂ (jusqu'à 10 %) et une diminution de la teneur en oxygène permettent une meilleure conservation des aliments en retardant le développement de certains microorganismes et plus particulièrement des moisissures. Une atmosphère d'azote ou un conditionnement sous vide permet d'éviter des contaminations par des microorganismes aérobies.

2.2.4. Antimicrobiens produits au cours de la fabrication de l'aliment

Il s'agit de substances qui sont soit bactériostatiques soit bactéricides (éthanol, acides organiques comme les acides lactique, acétique, citrique, etc.). L'addition de composés antimicrobiens aux produits alimentaires (additifs) ou l'utilisation d'agents antimicrobiens divers dans l'environnement de production des aliments (agents de désinfection, de nettoyage, etc.) est réglementée.

3. Conséquence de l'activité microbienne au niveau de l'aliment

3.1. Conséquences négatives : Altérations

Leurs manifestations sont de trois sortes :

- **Modification de l'aspect** : l'aspect extérieur d'un aliment est souvent affecté par la prolifération d'une flore microbienne.
- **Modification de l'aspect et des caractères organoleptiques** : le développement des microorganismes sur un aliment s'accompagne généralement de la transformation de certains substrats et de la production de molécules nouvelles qui modifient l'aspect, le goût et l'odeur de l'aliment.

- **Augmentation du risque toxique** : dans la plupart des cas d'altérations, les microorganismes présents sur l'aliment ne constituent pas un réel danger pour la santé du consommateur. Cependant, le développement dans un aliment de certaines espèces microbiennes peut être à l'origine d'intoxications (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* et *Campylobacter* sont entéropathogènes pour l'homme ; *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* produisent une toxine très active...etc.).

3.2. Conséquences positives : fabrication des aliments

L'activité d'un ou de plusieurs groupes microbiens bien choisis peut être utilisée pour transformer les aliments. C'est le cas des dérivés du lait (yaourts, fromages), de boissons alcoolisées et d'aliments fermentés. Dans ce cas, les conditions devront être réunies pour que soient sélectionnés les groupes microbiens compétents pour assurer ces transformations et que soient inhibés ceux dont l'activité serait nuisible au processus recherché.

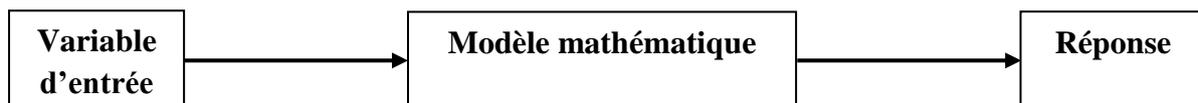
4. Microbiologie prévisionnelle

La sécurité et la durée de conservation des produits alimentaires ont toujours été estimées par des différents tests ou par un pack inoculé des expériences. L'aliment est inoculé avec le microbe de préoccupation, et stocké dans des conditions contrôlées ; après l'entreposage, il est testé pour déterminer si les microbes inoculés ont multiplié, survécu, ou ont perdu la viabilité. Il est alors indispensable de connaître l'évolution des flores microbiennes tout au long de la vie du produit depuis la sortie d'usine jusqu'à sa consommation. La microbiologie prévisionnelle (ou prédictive) s'appuie pour atteindre ces objectifs sur l'emploi de modèles mathématiques.

4.1. Définition

La microbiologie prévisionnelle « prédictive » est une branche scientifique du domaine de la microbiologie alimentaire, vise à étudier et prédire le comportement et l'évolution microbienne dans les aliments à l'aide de l'application des modèles mathématiques, en tenant compte de l'effet des facteurs environnementaux les plus importants (température, pH, activité de l'eau...etc.).

Un modèle mathématique est une description d'un système réel en utilisant des équations mathématiques, qui sont des simplifications du système en fonction de ses propriétés les plus importantes. Le modèle mathématique estime la réponse du système ou processus représentés selon les valeurs des variables d'entrée.



4.2. Historique

Les premiers modèles de prévision ont été datés au début du 20^{ème} siècle ; l'origine de la microbiologie prédictive est souvent liée aux travaux de Bigelow et Esty, (1920) ; Bigelow, (1921) et Esty et Meyer, (1922) dans lequel un modèle log-linéaire a été proposé pour décrire la cinétique de destruction thermique des microorganismes. Ce modèle est cependant une simplification des phénomènes complexes et ne tient pas compte de certaines particularités des micro-organismes. Malgré cette faiblesse, ce modèle reste encore utilisé aujourd'hui. Un exemple d'application de ce modèle est la prédiction du couple temps/température adéquat pour la destruction des spores de *Clostridium botulinum* dans les boîtes de conserve.

Cependant, En 1937, Scott envisage pour la première fois le potentiel d'utilisation de la microbiologie prédictive pour déterminer la croissance de bactéries pathogènes à différentes températures sur la viande de bœuf durant sa manipulation. Au cours des années 1960 et 1970, plusieurs efforts ont été consacrés à appliquer des modèles mathématiques pour l'inactivation des agents pathogènes (par exemple, *Clostridium botulinum* et *Staphylococcus aureus*) et la croissance des bactéries d'altération.

Néanmoins, le grand développement de microbiologie prédictive a commencé pendant les années 1980 lorsque les ordinateurs et logiciels spécifiques a facilité l'élaboration de modèles plus complexes et précises. Mais c'est surtout au cours de ces vingt dernières années qu'un progrès considérable en modélisation a permis des avancées spectaculaires avec l'apparition de modèles plus précis et flexibles en tenant compte des conditions environnementales.

4.3. Principes de base

La microbiologie prévisionnelle est basée sur l'hypothèse que les réponses de populations de micro-organismes à des conditions environnementales identiques sont reproductibles. Par conséquent, il est possible, à partir d'observations disponibles sur la croissance, la survie ou l'inactivation des microorganismes en fonction de facteurs environnementaux, de prédire les réponses des mêmes microorganismes sous d'autres conditions, en suivant les facteurs environnementaux plutôt qu'en réalisant des analyses microbiologiques lourdes et coûteuses.

4.4. Modélisation

La démarche de modélisation comporte :

- a. Identification des paramètres intrinsèques et extrinsèques limitant la conservation des aliments.
- b. Délimitation du champ de l'expérimentation, planification et recueil des données.

c. Modélisation

Si les conditions sont favorables à la croissance, l'évolution de la population microbienne suit toujours le même profil : la phase de latence, la phase d'accélération, phase exponentielle, phase stationnaire et la phase décélération ou de déclin.

Traditionnellement, les modèles ont été classés en deux catégories en fonction de la base d'informations utilisées pour construire le modèle : l'empirique et le mécaniste. Les modèles empiriques ont pour unique but le meilleur ajustement possible aux données observées sans expliquer les phénomènes provoquant la réponse observée. Les modèles mécanistes sont développés à partir de théories ou d'hypothèses et permettent d'expliquer la réponse à modéliser par l'action de phénomènes physiques, biologiques et/ou chimiques. En microbiologie prévisionnelle, la grande majorité des modèles ne sont pas purement empiriques ou purement mécanistes, mais peuvent être considérés comme semi-mécanistes car les mécanismes de croissance ou d'inactivation gouvernant le comportement des micro-organismes ne sont pas encore tous compris et intégrés dans les modèles actuels. Les modèles sont classés en : modèles primaires, secondaires et tertiaires.

c.1. Modèles primaires

Les modèles primaires décrivent la croissance d'un micro-organisme bien défini dans un contexte environnemental donné. Ils visent à reproduire l'évolution de la concentration en micro-organismes au cours du temps dans un environnement donné. On les distingue en modèles **déterministes** ou **stochastiques**. La plupart des modèles utilisés actuellement sont des modèles déterministes. Dans ces modèles, l'évolution du nombre de cellules d'une population microbienne peut être décrite par un ensemble de paramètres. Mais certains modèles tentent également de connecter le comportement des cellules individuelles à celui de toute la population. Ceci conduit aux modèles stochastiques ou probabilistes dans lesquels les paramètres du modèle sont des variables de distributions aléatoires représentant l'ensemble de la population bactérienne.

- Le premier modèle primaire de croissance qui ait été décrit en microbiologie prévisionnelle est le modèle exponentiel (Buchanan, 1918). Ce modèle très simple décrit la phase exponentielle, mais ne tient pas compte de la phase de latence ni de la phase stationnaire. Ce modèle ne permet pas un bon ajustement sur des données obtenues expérimentalement.
- Les modèles non linéaires comme le modèle logistique avec délai et rupture est un des plus utilisés actuellement. Il suppose qu'il n'y a pas de possibilité de croissance lors de la phase de latence et qu'il n'y a pas de transition entre la phase de latence et la phase exponentielle.
- Un autre modèle de croissance a été proposé par Baranyi et al. (1993). Il est également un des plus utilisés actuellement. Ce modèle est basé sur une équation différentielle (phase exponentielle) et complété par deux fonctions d'ajustement. La première fonction d'ajustement décrit la phase de transition entre la phase de latence et la phase exponentielle. La seconde fonction d'ajustement permet de décrire la phase d'inhibition entre la phase exponentielle et la phase stationnaire. Elle est basée sur le principe d'une diminution progressive des nutriments.
- La plupart des modèles actuels s'intéressent uniquement au comportement d'une population bactérienne, mais il existe d'autres modèles décrivent le comportement de cellules individuelles. L'idée est de représenter le comportement à un niveau microscopique (cellule individuelle) pour in fine simuler le comportement à un niveau macroscopique (population).

c.2. Modèles secondaires

Ces modèles prédisent les changements dans les paramètres des modèles primaires tels que le taux de croissance bactérienne et le temps en fonction des facteurs intrinsèques et extrinsèques. Autrement dit, Les modèles secondaires permettent de décrire l'effet des conditions environnementales sur les paramètres du modèle primaire. Des expressions mathématiques peuvent se distinguer comme deux approches différentes :

- Les effets des facteurs de l'environnement sont décrits simultanément par l'intermédiaire d'une fonction **polynomiale** ; ce type de modèle a été probablement le plus largement utilisé au sein de microbiologie prédictive ;
- Les facteurs environnementaux sont modélisés individuellement, et un modèle général décrit les effets combinés des facteurs.

c.2.1. Modèles secondaires pour la vitesse de croissance

La température est le facteur environnemental qui aura le plus d'impact sur la croissance des micro-organismes dans les aliments. Le suivi des températures à différentes

étapes de la chaîne alimentaire permet d'introduire ces données dans un modèle secondaire intégrant l'effet de la température au cours du temps, afin de prédire les conséquences en termes de croissance.

- **Le gamma concept** : il a été introduit par Zwietering et al., (1992) et s'appuie sur deux principes :

- Tous les facteurs mesurables, ayant une influence sur le taux de croissance, sont indépendants et interviennent de façon multiplicative ;
- L'effet de chaque facteur sur la vitesse de croissance peut être représenté par une fraction du taux de croissance maximum.

- **Modèles de type racine carrée** : ces modèles ont été proposés par Ratkowsky et al., (1982), qui ont observé une relation linéaire entre la racine carrée du taux de croissance maximum et de la température.

- **Modèle cardinal** : il est basé sur le même principe d'utilisation que le modèle gamma, à savoir que l'influence de chaque effet environnemental peut être intégré dans une fonction par des facteurs multiplicatifs.

- **Les modèles polynomiaux** : permettent de décrire la vitesse de croissance d'une bactérie en fonction de plusieurs facteurs environnementaux.

c.2.2. Modèle secondaire pour le temps de latence

Le temps de latence apparent est défini comme le temps nécessaire pour la multiplication par deux de la population. Il ne dépend pas uniquement de l'environnement actuel, mais aussi de l'environnement précédent et de l'état physiologique des bactéries. De ce fait, le développement de modèles secondaires pour prédire le temps de latence est compliqué. Deux approches ont été adoptées pour modéliser le temps de latence : la première considère que le temps de latence et la vitesse de croissance doivent être modélisés séparément, la deuxième considère que le temps de latence est proportionnel au temps de génération des bactéries car celles-ci doivent réaliser une certaine quantité de travail pour s'adapter à leur nouvel environnement.

c.3. Modèles tertiaires

Les modèles utilisant des systèmes experts et des bases de données pour faire le lien entre les modèles primaires et secondaires sont appelés modèles tertiaires. Un système expert est un logiciel capable de répondre à des questions, en effectuant une relation à partir des

bases de données et de règles connues (modèles primaires et secondaires). Les modèles tertiaires sont donc constitués d'une base de données permettant de sélectionner la matrice alimentaire et les micro-organismes d'intérêt.

Cependant, à partir des données collectées pour un micro-organisme dans une matrice alimentaire déterminée dans des conditions environnementales connues, un modèle tertiaire permet de prédire l'évolution de ce micro-organisme dans des conditions environnementales différentes dans la plage d'interpolation pour laquelle les données sont disponibles dans la base de données.

4.5. Validation

La validation est une étape essentielle dans le processus de modélisation. Les modèles ne peuvent être appliqués si un processus de validation n'est pas accompli antérieurement, qui se compose généralement de la confirmation des prédictions expérimentalement en utilisant toute méthode quantitative. Le principe est simple : il faut comparer les prédictions des modèles avec des résultats indépendants de ceux qui ont servi à établir le modèle. La validation peut se réaliser en deux étapes :

- **La validation mathématique**, qui consiste à vérifier que les écarts entre les valeurs théoriques prévues par le modèle et les données obtenues dans les conditions qui ont servi à le construire ne sont pas excessifs.

- **La validation dans des produits**, qui consiste à vérifier que les écarts entre les valeurs théoriques prévues par le modèle construit à partir des données obtenues en conditions expérimentales et les valeurs réelles obtenues sur des produits industriels contaminés naturellement ne sont pas excessifs.

Si le modèle a été validé, il peut être utilisé pour la prévision, à condition de se limiter, pour ce qui concerne la variation des facteurs, à la gamme des valeurs comprises entre les valeurs qui ont fait l'objet de la validation.

4.6. Application

L'utilisation de la microbiologie prévisionnelle peut concerner :

-Le système HACCP (Hazard Analysis - Critical Control Point ou Analyse des Dangers - Points Critiques pour leur Maitrise) qui comprend différentes étapes : analyse des dangers, identification et établissement des points critiques, surveillance, actions correctives et vérification;

Chapitre I : Comportement des microorganismes dans les aliments

- Appréciation Quantitative du Risque qui est l'estimation de l'évolution du nombre de microorganismes dans une chaîne de production;
- La détermination de la durée de vie d'un aliment et la prédiction de la croissance de microorganismes pathogènes ou d'altérations sur un aliment déterminé ;
- La mise au point d'une nouvelle formulation d'un produit sur l'évolution des microorganismes ;
- La formation du personnel responsable de la qualité microbiologique du produit ;
- La planification d'expériences entre chaque échantillonnage et nombre d'échantillons à prélever.

Introduction

Les aliments peuvent être les vecteurs ou de véritables milieux de culture de microorganismes. Ils sont potentiellement capables de provoquer diverses affections chez le consommateur dont la gravité dépend d'abord de la nature et du nombre de microorganismes et/ou de la toxicité de leurs produits d'excrétion.

Le rôle de l'aliment dans la transmission d'agents microbiens infectieux peut être :

- Uniquement **passif**, l'aliment n'est alors qu'un simple véhicule de microorganisme (exemple des brucelloses) ;
- Un rôle **actif**, c'est le cas général. L'aliment est le siège d'une multiplication des agents pathogènes avec ou sans production de toxines.

L'**intoxication alimentaire** résulte de l'ingestion d'une toxine préformée dans l'aliment. Dans la **Toxi-infection alimentaire (TIA)**, le microorganisme se multiplie dans l'aliment et élabore des toxines et des métabolites toxiques qui seront ingérés par l'organisme. Alors, une **Toxi-infection alimentaire collective (TIAC)** est définie par l'apparition d'au moins deux cas similaires d'une symptomatologie dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire.

1. Agents infectieux responsable de Toxi-infections alimentaires

1.1. Genre *Salmonella*

1.1.1. Position taxonomique et principaux caractères

Les travaux taxonomiques les plus récents ont montré que le genre *Salmonella* ne comprend qu'une seule espèce *Salmonella enterica* composée de 7 sous-espèces qui correspondent aux anciens sous-genres I, II, III et IV de Kauffmann. La dénomination *S. enterica* a été préférée à celle initialement proposée de *S. choleraesuis* qui désigne aussi un sérovar. La sous-espèce I représente plus de 99,5 % des souches isolées en pathologie. Plus de 2200 sérovares ont été isolés, ils se différencient par leur antigènes de paroi (antigènes O) et leurs antigènes flagellaires (antigènes H).

Les Salmonelles sont des bacilles à Gram -, cultivant bien sur les milieux ordinaires, appartenant à la famille des Entérobactéries. Elles sont capables de fermenter le glucose, de réduire les nitrates en nitrites et dépourvues d'oxydase. Leur identification différentielle repose sur leur capacité à produire du sulfure d'hydrogène H₂S (il y a des exceptions), la possession d'une lysine-décarboxylase, l'absence d'uréase et de tryptophane-désaminase.

1.1.2. Réservoir

Le réservoir du germe est le tube digestif à partir duquel les bactéries sont éliminées dans le milieu extérieur. *S. Typhi* et *S. Paratyphi* sont strictement adaptées à l'homme. Il n'est pas possible de reproduire la fièvre typhoïde chez l'animal. Les autres Salmonelles peuvent être hébergées par divers espèces animales : mammifères domestiques ou sauvages, reptiles, oiseaux. Certains sont classiquement sujets à un simple portage intestinal asymptomatique : porcs et volailles ; d'autres comme les bovins, font une entérite.

1.1.3. Transmission

La contamination de l'homme se fait par voie buccale. La contamination est directement ou indirectement liée à un contact avec les excréments d'animaux ou à un milieu souillé par ces matières. La contamination peut être aussi le fait de porteurs sains humains : 5% de la population hébergent des Salmonelles dans les voies biliaires et les éliminent dans leurs matières fécales. Les aliments incriminés sont majoritairement les œufs et les ovoproduits, mais aussi les viandes, les volailles, le lait, les poissons, les huitres et autres mollusques marins.

1.1.4. Physiopathologie et symptomatologies des Salmonelloses

Les salmonelloses peuvent revêtir deux aspects :

a. Les formes septicémiques

Ce sont les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes dues à *S. Typhi*, *S. Paratyphi* A, B et rarement C. Ce sont des septicémies à point de départ lymphatique. Chez le nouveau-né ou le jeune enfant, d'autres sérotypes comme *S. panama* ou *S. wien* peuvent être responsables de septicémies qui mettent en jeu le pronostic vital. La transmission est essentiellement interhumaine et se fait par l'eau et les aliments souillés.

Pour la fièvre typhoïde, l'incubation dure de 8 à 48 heures. Après, il y a deux phases : La première le germe pénètre dans les cellules intestinales provoquant une diarrhée et la deuxième phase se manifeste par une septicémie. Pour la fièvre paratyphoïde, les symptômes sont presque les mêmes de la fièvre typhoïde à l'exception d'une débute brutale avec des symptômes légers une durée courte.

b. Les salmonelloses purement digestives

Les toxi-infections alimentaires et les gastro-entérites du nourrisson dues à des sérovars ubiquitaires, donc pouvant transiter chez l'homme et chez l'animal. Quelques sérovars ont

Chapitre II : Intoxications alimentaires

une incidence particulière : essentiellement *S. enteritidis*, *S. typhimurium* ; cependant, toute *Salmonella* quel que soit son sérovar peut être responsable de toxi-infections.

Les toxi-infections alimentaires à *Salmonella* se manifestent par des diarrhées, de la fièvre, et des vomissements. Les premiers signes surviennent 8 à 10 heures après l'ingestion de l'aliment contaminé. L'évolution de ces gastro-entérites est en règle générale spontanément favorable en quelques jours. Les entérites à *Salmonella* s'observent principalement chez le jeune enfant.

1.1.5. Epidémiologie et prévention

La fréquence des infections à *Salmonella* est en augmentation. Elle est favorisée par le développement des repas pris en collectivité où les aliments sont préparés avant d'être consommés et dans lesquels les bactéries peuvent se multiplier. *S. typhimurium* est rencontrée dans tous les pays. Elle est isolée chez l'homme, chez les animaux et dans l'environnement. *S. typhimurium* occupe la première place dans l'étiologie des toxi-infections alimentaires. Pratiquement toutes les denrées peuvent héberger quelques *Salmonella* ; mais les denrées d'origine animale jouent le rôle principal.

Pour prévenir la contamination par ces germes, il faut procéder à une éradication chez les animaux producteurs d'aliments, la décontamination des denrées alimentaires et la surveillance des chaînes de production dans les industries agroalimentaires sans oublier la bonne préparation et conservation des aliments.

1.2. Genre *Campylobacter*

1.2.1. Position taxonomique et principaux caractères

Les *Campylobacter* sont des bacilles à Gram négatif caractérisés par leur morphologie : Bacilles fins de 0,5 à 5 μm de long, incurvés en forme de virgule, en forme de S, ou de forme hélicoïdale pour les formes longues. Leur mobilité est très vive due à une ciliature polaire monotriche. Les formes longues peuvent être flagellées aux deux extrémités. Leur métabolisme respiratoire est aérobies ou micro-aérophiles avec une réaction oxydase (+). Leur forme incurvée et leur mobilité par ciliature polaire, expliquent que ces microorganismes furent classés, dans un premier temps avec les Vibrions mais en fait ils diffèrent par des caractères métaboliques, ils sont aujourd'hui au sein de la famille des *Campylobacteriaceae* comprenant 17 espèces.

La catalase permet de diviser le genre *Campylobacter* en deux groupes :

- **Groupe catalase négatif** : les espèces qui forment ce groupe ne sont pas pathogènes pour l'homme. *C. sputorum* est subdivisé en 3 sous-espèces : Subsp. *sputorum*, Subsp. *bubulus*, Subsp. *mucosalis*.
- **Groupe catalase positif** : dans ce groupe on distingue, *C. fetus*, *C. jejuni* responsable de diarrhées chez l'homme et *C. coli* proche de *C. jejuni* et a un pouvoir pathogène identique.

1.2.2. Réservoir, transmission et épidémiologie

Les *Campylobacter* sont des bactéries trouvées dans le tube digestif des animaux, notamment les volailles, les ovins et les porcs. Les animaux de compagnie (chien et chat) ont été incriminés comme vecteurs de *Campylobacter*. La contamination de l'homme se fait par voie digestive. Ce sont particulièrement les viandes et les volailles, au cours d'abattage, les carcasses sont superficiellement contaminées par des *Campylobacter* intestinale. Le lait cru est une cause de petites épidémies survenant sur le monde familial ou dans les collectivités. La contamination du lait peut provenir d'une souillure fécale lors de la traite ou d'une mammite à *Campylobacter*.

1.2.3. Physiopathologie et symptomatologie à *Campylobacter jejuni* et *C. coli*

Deux espèces interviennent dans les TIA : *C. jejuni* et *C. coli* avec prédominance de *C. jejuni* qui est responsable de 99% des Campylobactérioses. Les *Campylobacter* peuvent exercer leur action pathogène tout au long du tube digestif, notamment au niveau de jéjunum et du colon. Ils provoquent essentiellement des entérites. Après une période d'incubation de un à trois jours, ils surviennent la fièvre, la diarrhée et des douleurs abdominales avec parfois du sang dans les selles et des vomissements. Leur physiopathologie est mal connue, ils sont particulièrement bien adaptés à la vie dans le mucus et agissent principalement par leur pouvoir d'invasion. La dose infectante est faible, elle a été estimée à quelques centaines de bactéries.

1.3. Genre *Listeria*

1.3.1. Position taxonomique et principaux caractères

Le genre *Listeria* regroupe de petits bacilles à Gram positif de forme régulière, courts, à bouts arrondis parfois incurvés isolés ou en courtes chaînes présentant un arrangement en palissade et en lettres avec parfois des formes filamenteuses. Ils sont non sporulés, non capsulés et mobiles à 20-25 °C par des flagelles péritriches. Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives. Elles ont les caractères suivants : catalase +, oxydase - ; glucose

fermenté avec production d'acide lactique ; esculine et hippurate hydrolyses, réactions rouge de méthyle et Voges-Proskauer positives ; pas de production d'indole, pas d'hydrolyse de l'urée. Il existe des types antigéniques définis par des antigènes O et des antigènes H.

La position taxonomique du genre *Listeria* n'est pas définitivement établie. Il s'agit d'un genre distinct mais à rapprocher avec les données de la taxonomie numérique, de la sérologie, de la biochimie et l'étude des acides nucléiques des genres *Bacillus*, *Lactobacillus* et *Streptococcus*. Parmi les sept espèces actuellement répertoriées, *Listeria monocytogenes* est responsable de la plupart des infections humaines ou animales.

1.3.2. Réservoir et transmission

L. monocytogenes est une bactérie saprophyte et ubiquitaire. Largement répandue dans la nature, elle a été isolée dans le sol, l'eau, les végétaux mais aussi dans le lait, la viande de poulet, les légumes (choux) et dans les matières fécales de sujets sains (homme et nombreuses espèces animales). La bactérie survit dans l'environnement naturel, résiste à des conditions hostiles et peut s'y multiplier même à basse température. L'infection par *L. monocytogenes* ou listériose, maladie commune à l'homme et à l'animal. La contamination humaine est le plus souvent réalisée par voie digestive.

1.3.3. Physiopathologie et Symptomatologie

L. monocytogenes est une bactérie à multiplication intracellulaire et sa virulence est liée à sa possibilité de multiplication dans les macrophages. La bactérie produit une hémolysine, toxine protéique extracellulaire ayant une parenté antigénique avec la Streptolysine de type O.

En médecine vétérinaire, *L. monocytogenes* est à l'origine de nombreux cas d'encéphalites, de septicémies, d'avortements et de mammites. En médecine humaine, la maladie peut être observée à tous les âges de la vie avec cependant une répartition des cas selon les tranches d'âge qui fait apparaître trois pics : un premier pic est observé avant l'âge de 1 an et correspond à la listériose néo-natale ; un pic entre 20 et 40 ans, ce qui correspond essentiellement aux cas maternels d'infection materno-foetale ; enfin un troisième pic entre 60 et 80 ans, soulignant ainsi le rôle du terrain. *L. monocytogenes* est mise en cause dans les infections chez la femme enceinte et le nouveau-né, mais aussi chez adultes, essentiellement dans les cas d'immunodépression. Chez ces derniers, il s'agit d'une méningo-encéphalite avec atteinte du tronc cérébral et des nerfs crâniens ; plus rarement, la Listériose se manifeste par une septicémie sans atteinte nerveuse.

1.3.4. Epidémiologie et prévention

Les aliments qui provoquent des listérioses sont souvent contaminés à fort taux (> 10⁵ germes/g). Les aliments incriminés sont indiqués dans le tableau ci-dessous. Un renforcement des mesures d'hygiène et la révision des plans d'hygiène dans les établissements assurant des préparations à base de denrées d'origine animale doit être mis en place.

Tableau 02 : Aliments associés à la listériose dans le monde (Leyral & Vierling, 2007).

Aliments	Nombre de cas
Produits laitiers	597
Produits carnés	741
Produits végétaux	91
Produits de la mer	32
Ovoproduits	33

1.4. Staphylocoques

1.4.1. Position taxonomique et principaux caractères

Les Staphylocoques sont des cocci Gram positif qui tendent à se grouper en amas appartenant à la famille des *Micrococcaceae*. Ces bactéries se développent en aérobiose, possédant une catalase et ayant un métabolisme fermentatif. La classification actuelle distingue une vingtaine d'espèces ; un certain nombre d'entre elles sont trouvées chez l'homme, d'autres sont présentes chez les animaux ou dans les aliments (viandes, produits laitiers...). Parmi les espèces retrouvées chez l'homme : trois espèces occupent une place privilégiée : *S. aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*. Les autres, plus rarement impliquées en pathologie humaine, sont : *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. saccharolyticus*, *S. auricularis*, *S. simulons*, *S. cohnii*, *S. xylosus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. lugdunensis* et *S. schleiferi*. Parmi ces espèces, trois peuvent coaguler le sang et sont considérés comme potentiellement pathogènes: *S. aureus*, *S. intermedius* et *S. hyicus*. L'espèce *S. aureus* est divisée en plusieurs biotypes selon l'origine animale ou humaine.

1.4.2. Réservoir et transmission

Il s'agit de germes très répandus dans la nature (air, eau, sol). Les staphylocoques, en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis*, font partie de la flore normale de nombreux individus qui sont des « porteurs asymptomatiques ». La transmission est interhumaine directe (contact) ou indirecte par l'intermédiaire des aliments ou du milieu extérieur.

La contamination de l'aliment peut être originelle (laits de mammites) mais elle résulte en général de la manipulation d'aliments par les porteurs sains ou par des personnes atteintes d'une rhinopharyngite ou des lésions cutanées. Les aliments en cause sont des produits cuits contaminés après la cuisson : viandes, poissons, charcuterie, plats cuisinés divers, crèmes glacées et pâtisseries ou des aliments à faibles Aw : salaisons, laits concentrés et laits en poudre

1.4.3. Physiopathologie et Symptomatologie

Parmi les Staphylocoques coagulase +, seules les espèces productrices d'entérotoxine sont impliquées dans une intoxication alimentaire. *S. intermedius* et *S. hyicus* peuvent sécréter une entérotoxine mais celle-ci peut être abondante et peu active et la contamination d'un aliment par ces deux espèces est peu probable. L'espèce *S. aureus* est la seule espèce impliquée dans les TIA au sens large. Les entérotoxines Staphylococciques A à E, G et I à U sont différentes des autres. Elles sont constituées d'une seule chaîne d'acides aminés et ne provoquent aucune lésion de l'épithélium intestinal. Elles ont une activité dite superantigène capable de provoquer une activation des lymphocytes T indépendamment de leur spécificité antigénique ouvrant la possibilité d'une activation massive du système immunitaire, la libération de cytokines de l'inflammation et la survenue du choc toxique.

La symptomatologie est brutale : après deux à quatre heures d'incubation ils apparaissent des céphalées, des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements violents et répétés et de la diarrhée.

1.4.4. Epidémiologie

En 1985, les travaux de Buyser ont montré que la proportion de Staphylocoques entérotoxiques est variable selon le biotype : 30 à 60% du biotype humain, 10% des souches du biotype bovin et 80% des souches du biotype ovin. C'est le biotype humain qui joue le rôle essentiel dans les TIA à Staphylocoques, du fait du portage de *S. aureus* relativement fréquent.

1.5. *Clostridium botulinum*

1.5.1. Position taxonomique et principaux caractères

C. botulinum est responsable de la maladie consécutive à l'ingestion de toxine préformée dans un aliment contaminé par cette espèce, le botulisme. Cette maladie cosmopolite est redoutable. Ce sont des Bacilles Gram positif anaérobies stricts, mobiles, sporulés et non capsulés, inhibés à des pH < 4,5 et thermorésistants. Dans les cultures jeunes, on peut observer de courtes chaînettes. A l'inverse dans les cultures âgées, on observe des

formes d'involutions vacuolaires et des spores. Cette bactérie est classée en quatre groupes : I, II, III et IV et sécrète une neurotoxine parmi les plus actives. Il existe sept neurotoxines différentes correspondantes à sept types de *Clostridium botulinum* : A, B, C, D, E, F, G. Le groupe I comporte les toxines A, B et F, le groupe II renferme les toxines de type B, E et F, le groupe III les toxines de type C et D, le plus souvent aviaires et le groupe IV qui comprend la toxine de type G.

Les types A et B sont les plus classiques ; le type E est psychrotrophe considéré comme le plus dangereux rapidement mortelle et se multiplie lentement au cours de la réfrigération. Le type G est responsable de la mort subite chez le nourrisson et le type C est probablement sans danger.

1.5.2. Réservoir et transmission

C. botulinum est un germe tellurique très répandu dans la nature sous forme de spores dans la terre, la boue et l'eau. Les végétaux sont contaminés par la spore (fruits, légumes, fourrages). La spore est présente dans l'intestin de nombreux animaux : équidés, moutons, et porcs. Les poissons se contaminent au contact de la boue. La transmission se fait après ingestion d'une quantité suffisante de toxine. Cette toxine n'est produite que si la spore survit dans l'aliment pour donner une forme végétative productrice de toxine.

1.5.3. Physiopathologie et Symptomatologie

Le développement de *Clostridium botulinum* dans les aliments dépend des conditions de milieu bien précises : un potentiel d'oxydoréduction peu élevé, un pH > 4,5 et une température supérieure à + 10 °C et inférieure à 48 °C. Les toxines botuliques sont produites en association avec des polypeptides non toxiques qui jouent un rôle protecteur dans le tube digestif contre l'action des acides et des enzymes protéolytiques. Elles passent dans le sang et gagnent par cette voie leurs récepteurs au niveau des jonctions neuromusculaires. Ces toxines sont produites pendant la phase exponentielle et libérées pendant la phase stationnaire.

L'incubation varie de quelques heures à quelques jours, généralement de 1 à 2 jours. Un des premiers signes à se manifester peut être une diarrhée, des nausées, douleurs abdominales, constipation sévère, la fatigue et asthénie puis ils apparaissent des troubles oculaires (diplopie), des difficultés d'accommodation, sécheresse, des troubles de la déglutition, de langue, intestins, vessies et enfin des troubles respiratoires entraînant la mort par asphyxie.

1.5.4. Epidémiologie et prévention

Le type A prédomine sur la côte Est des Etats-Unis, le type B en Europe et sur la côte Ouest de l'Amérique du Nord, les types C et D sont plus fréquents en Afrique et dans les pays de l'Europe du Nord, le type E, transmis en général par les produits de la mer, est le plus fréquent au Japon. Les cas de Botulisme concernent aujourd'hui les conserves insuffisamment stérilisées, les jambons crus et les poissons fumés.

Certaines mesures préventives peuvent éviter le Botulisme : faire jeûner les animaux avant l'abattage, éviter la contamination des carcasses par des souillures telluriques, appliquer aux conserves des traitements thermiques suffisants et enfin maintenir les produits non stérilisés à une température inférieure à +4 °C.

1.6. *Clostridium perfringens*

1.6.1. Position taxonomique et principaux caractères

Clostridium perfringens est connue comme l'agent des gangrènes gazeuses ou des septicémies du post-partum. Comme toutes les *Clostridium*, ces bactéries sont de gros bacilles Gram positif anaérobies strictes et sporulées, se distinguent des autres *Clostridium* par leur immobilité et par la présence d'une capsule. La température optimale de croissance est de 45 °C, ce qui peut expliquer leur persistance au sein d'un morceau de viande après la cuisson et la capacité à s'y multiplier dans la zone profonde dans les heures qui suivent la cuisson. Elles tolèrent jusqu'à 5 % d'oxygène. La présence du sang protège *C. perfringens* de l'action toxique de l'oxygène, du fait de l'activité de la catalase sanguine qui détruit les peroxydes responsables de cette action toxique. C'est pourquoi, ses capacités de multiplication dans un produit carné sont supérieures à celles constatées pour d'autres aliments.

L'espèce *C. perfringens* est divisée en cinq types toxiques antigéniquement différents désignés par des lettres de A à E. Le type A est surtout rencontré en pathologie humaine ; les autres types sont responsables d'entérotoxémies d'origine endogène chez l'animal (ovins, bovins), rarement d'infections humaines.

1.6.2. Réservoir et transmission

C. perfringens est présent dans la flore intestinale de l'homme et de nombreuses espèces animales. Le sol contient des spores de cette bactérie. La présence de cette espèce ou de ses spores dans les eaux ou les aliments est en faveur d'une contamination fécale.

L'homme se contamine soit à partir d'une source endogène (intestin, vagin...) à l'occasion d'une effraction ou d'une intervention chirurgicale ; soit à partir d'une source

exogène à la faveur : d'une plaie ou de l'ingestion des aliments contaminés, ce qui peut provoquer une toxi-infection alimentaire.

1.6.3. Physiopathologie et Symptomatologie

Certaines souches de *C. perfringens* A produisent une entérotoxine constituée de sous unités : l'une hydrophile, l'autre hydrophobe. La distinction est importante, car seules ces souches sont susceptibles de provoquer des intoxications alimentaires. La sécrétion de l'entérotoxine est liée à la sporulation du germe. Lorsqu'un aliment contenant de grandes quantités de formes végétatives est ingéré, ces dernières sporulent dans l'intestin et l'entérotoxine est libérée. Elle se fixe sur les entérocytes par sa partie hydrophile, la partie hydrophobe passe à l'intérieur de la cellule et y exerce ses effets biologiques. La toxine provoque des lésions superficielles de l'épithélium ce qui entraîne une diminution de l'absorption de l'eau et stimule leur sécrétion avec le chlorure de sodium. Les deux effets se conjuguent pour donner la diarrhée.

La période d'incubation est entre 8 et 12 heures, les symptômes se manifestent par deux signes cliniques constants : la diarrhée profuse et les douleurs abdominales. Il n'y a en général ni vomissement ni fièvre. La maladie régresse en 24 à 48 heures sans séquelles.

1.6.4. Epidémiologie et prévention

Les principaux aliments incriminés sont les langues de bovins, les viandes bouillies, les plats cuisinés et les pâtés.

C. perfringens représente la quatrième cause de TIA dans les pays industrialisés après *Salmonella*, *Campylobacter* et *Staphylococcus aureus*. Elle représente un quart de l'ensemble des accidents d'origine alimentaire aux Pays-Bas. En Grande-Bretagne, en France et aux Etats-Unis, son incidence est aussi considérable. En Afrique, elle ne fait pas exception, même si l'incidence des TIA *C. perfringens* tend à diminuer mais elle reste toujours élevée.

1.7. *Bacillus cereus*

1.7.1. Position taxonomique et principaux caractères

Le genre *Bacillus* comprend des bactéries en forme de bâtonnets, généralement mobiles, sporogènes. Ces bacilles sont à Gram positif, aérobies stricts ou anaérobies facultatifs. Le genre *Bacillus* comprend une vingtaine d'espèces, dont deux sont intéressantes *B. anthracis*, en raison de son pouvoir pathogène (animaux, homme) et à *B. cereus* impliquée en intoxication alimentaire. Selon leur morphologie et la position de leurs spores, le genre *Bacillus* se divise en 3 groupes :

Chapitre II : Intoxications alimentaires

- Groupe 1 : Bacilles à spores ne déformant pas le corps microbien ;
- Groupe 2 : Bacilles à spores déformantes, ovales ;
- Groupe 3 : Bacilles à spores déformantes, rondes.

Bacillus cereus appartient au Groupe 1 du genre *Bacillus*. C'est un bacille à Gram +, sporulé, aérobique, possédant une catalase et une lécithinase et dépourvu d'oxydase. Sa température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37 °C, les températures extrêmes de croissance sont, respectivement, de l'ordre de 5 et de 55 °C. sa croissance peut être inhibée par l'acide sorbique.

1.7.2. Réservoir et transmission

B. cereus est un germe tellurique mais aussi saprophyte de l'homme et de l'animal. Il est fréquent dans le sol, sur les végétaux, les céréales (particulièrement le riz). La transmission se fait après ingestion d'un aliment contaminé.

1.7.3. Physiopathologie et Symptomatologie

B. cereus sécrète, pendant la phase exponentielle de sa croissance, l'une des deux toxines :

- Soit une toxine émétique thermostable (stable à haute température), responsable de vomissements ;
- Soit une toxine diarrhéigène thermolabile (détruite ou perd ses propriétés à une température peu élevée).

Il existe des souches émétiques et des souches diarrhéigènes, les deux pouvant être existé dans un même aliment. Une intoxication à *Bacillus cereus* peut donc se manifester de deux façons :

- Un syndrome émétique avec nausées, vomissements qui surviennent une demi-heure à six heures après l'ingestion de l'aliment ;
- Un syndrome diarrhéique avec apparition, après six à quinze heures d'incubation, de diarrhée aqueuse et de crampes abdominales sans fièvre.

La guérison est totale en moins de 24 heures.

1.7.4. Epidémiologie

Les intoxications à *B. cereus* eurent une incidence élevée par le passé. Elles sont moindres de nos jours mais elles restent assez fréquentes dans certains pays. Les aliments incriminés sont :

- Le riz préparé dans les restaurants orientaux est le principal aliment responsable des formes émétiques. En effet, *B. cereus* se développe bien dans les aliments riches en polysaccharides. Il contamine le riz après sa cuisson et se multiplie lorsque l'aliment est laissé plusieurs heures à la température ambiante. Les traitements thermiques ultérieurs sélectionnent la toxine émétique.
- La toxine diarrhéigène a pu être mise en évidence dans des aliments plus variés : purée de pommes de terre, saucisses, plats cuisinés...etc.
- Les produits laitiers où le germe y existe à l'état de spores qui survivent à la cuisson ordinaire.

1.8. *Yersinia enterocolitica*

1.8.1. Position taxonomique et principaux caractères

Yersiniose ou entérocolite est une gastro-entérite due à *Yersinia enterocolitica*. Le terme de *Yersinia* a été choisi en hommage à Alexandre Yersin, jeune médecin d'origine suisse qui isola le 20 juin 1894 à Hong-Kong le bacille de la peste (*Yersinia pestis*) de cadavres humains et de rongeurs.

Le genre *Yersinia* est un bacille à Gram négatif appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, dépourvu de spores et de capsules et se présente sous forme de groupement isolés, en diplobacilles et en chaînette. *Yersinia* est caractérisée par un temps de génération deux fois plus long que celui des autres entérobactéries, une capacité à croître entre 0 et 45 °C avec une température optimale comprise entre 25 et 30 °C. Elle tolère des pH compris entre 4-12 avec un optimum à 7.2, immobile à 37 °C mais généralement mobile grâce à une ciliature péritriche (2 à 15 flagelles) à une température inférieure à 30 °C, aéro-anaérobies, possédant un métabolisme respiratoire et fermentatif, catalase positive, oxydase négative, réduisant le plus souvent les nitrates en nitrites, fermentant sans gaz de glucose et d'autres sucres, fermente constamment le mannitol. Certaines espèces se caractérisent par une uréase très active et d'autres par l'absence de cette enzyme.

Yersinia enterocolitica est capable de se multiplier à 4 °C et en présence de 0 à 5 % d'NaCl, résiste également bien à la congélation. En revanche, elle est sensible à la chaleur (la pasteurisation). Elle possède différents types d'Ag somatique O (34 sérotypes, surtout les sérotypes 0:3 et 0:9 qui sont responsables de la pathologie) et flagellaire H (16 sérotypes).

1.8.2. Réservoir et transmission

Certaines souches de *Yersinia enterocolitica* sont exclusivement rencontrées chez l'homme ou l'animal, d'autre au contraire, sont largement répandues dans les sols, les eaux et les légumes. La transmission se fait après ingestion d'un aliment contaminé.

1.8.3. Physiopathologie et Symptomatologie

Après contamination, la bactérie passe par la barrière intestinale vers les ganglions lymphatiques mésentériques avec production d'une entérotoxine thermostable produite à 28°C. Le rôle de l'entérotoxine dans la pathogénie de l'infection n'est pas clairement établi car elle n'est pas produite à une température supérieure à 30°C. L'incubation peut être de 3 à 10 jours mais elle est en moyenne de 24 à 48 heures.

Les yersiniooses surviennent par petites épidémies ou de façon sporadique : chez l'enfant ce sont des gastro-entérites fébriles dont le tableau clinique est comparable à celui observé avec les autres bactéries intestinales : fièvre, douleurs abdominales, diarrhée et chez l'adulte des septicémies, des adénites, des polyarthrites.

- Les formes entéritiques ou entérocolitiques : sont dominées par la diarrhée (2/3 des cas), liquide ou pâteuse, parfois glaireuse ou purulente, rarement sanguinolente mais toujours malodorante. Les autres symptômes sont inconstants : douleurs abdominales diffuses, vomissements, nausées, atteinte de l'état général, forte fièvre 39-40 °C pendant quelques jours puis vers 38 °C durant des semaines, maux de tête.

- Les douleurs de la fosse iliaque droite ou abdominale : sont fréquemment accompagnées d'une adénite mésentérique et de diarrhée.

1.8.4. Epidémiologie et prévention

Les aliments incriminés sont :

- Les viandes, principalement le porc, mais aussi bœuf et agneau ;
- Les produits laitiers (plusieurs milliers d'infections aux Etats-Unis en 1981 et 1982 avec du lait pasteurisé) ;
- Les moules, les huîtres ;
- Certaines préparations culinaires et surtout crudités ;
- Le sol et l'eau sont des sources importantes de souches non adaptées. La contamination de crudités (légumes crus) est généralement d'origine tellurique, elle peut être liée à la manipulation simultanée des denrées contaminées.

1.9. Mycotoxines

1.9.1. Définition

Le terme mycotoxine vient du grec «**mycos**» qui signifie champignon et du latin «**toxicum**» qui signifie poison. Les mycotoxines sont des produits du métabolisme secondaire de moisissures synthétisés pendant la phase stationnaire pouvant se développer sur la plante au champ ou en cours de stockage et douées de potentialités toxiques à l'égard de l'homme et des animaux. Plus de 300 métabolites secondaires ont été identifiés mais seule une trentaine possède de réelles propriétés toxiques préoccupantes. Ces toxines se retrouvent à l'état de contaminants naturels de nombreuses denrées d'origine végétale, notamment les céréales mais aussi les fruits, noix, amandes, grains, fourrages ainsi que les aliments composés et manufacturés issus de ces filières destinés à l'alimentation humaine et animale.

1.9.2. Facteurs favorisant la contamination par les moisissures

Deux groupes de champignons (ou moisissures) toxigènes (producteurs de mycotoxines) peuvent être distingués. Le premier type est constitué de champignons envahissant leur substrat et produisant la mycotoxine sur plantes sénescentes ou stressées : il sera question de toxines de champs. L'autre groupe rassemble ceux qui produisent les toxines après récolte ; on les qualifiera de toxines de stockage. Ainsi, des champignons du sol ou des débris de plantes peuvent disséminer leurs spores sur la plante ou les grains puis proliférer pendant le stockage si les conditions le permettent.

Un certain nombre de facteurs favorisent la colonisation des aliments par les moisissures :

- **Les blessures** des parois ou des enveloppes externes des aliments ;
- **La température**, 20 à 30 °C est une zone optimale de croissance, mais les moisissures peuvent croître dans une gamme très large de températures ;
- **La composition de l'atmosphère gazeuse**, les moisissures sont généralement aérobies et l'augmentation de l'atmosphère en CO₂ limite leur croissance ;
- **La nature du substrat**, en général, le substrat optimal est glucidique. Les autres constituants du substrat ainsi que le pH interviennent aussi ;
- **La teneur en eau**, les moisissures sont moins exigeantes en eau que les bactéries et les levures. Cependant un minimum d'eau du milieu leur est nécessaire.

1.9.3. Principales mycotoxines

Les mycotoxines sont produites par des moisissures appartenant généralement aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Elles peuvent être classées en polycétoacides,

Chapitre II : Intoxications alimentaires

terpènes, cyclopeptides et métabolites azotés selon leur origine biologique et leur structure. On peut aussi classer les mycotoxines plus simplement selon leurs principaux effets toxiques. On distingue parmi les groupes de mycotoxines considérées comme importantes du point de vue agro-alimentaire et sanitaire les Aflatoxines, les Ochratoxines et l'Ochratoxine A en particulier, la Patuline, les Fumonisines, la Zéaralène et les Trichothécènes et tout spécialement le Déoxynivalénol.

Tableau 03 : Principales mycotoxines et moisissures productrices retrouvées en alimentation humaine et/ou animale (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), 2006).

	Mycotoxines	Principales moisissures productrices
Mycotoxines réglementées ou en cours de réglementation	Aflatoxines B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i>
	Ochratoxine A	<i>Penicillium verrucosum</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Aspergillus carbonarius</i>
	Patuline	<i>Penicillium expansum</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> <i>Byssoschlamys nivea</i>
	Fumonisines B ₁ , B ₂ , B ₃	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i>
	Trichothécènes (DON)	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> <i>F. crookwellense</i> , <i>F. sporotrichioides</i> <i>F. poae</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F. acuminatum</i>
	Zéaralène	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> <i>F. crookwellense</i> .
	Alcaloïdes d'ergot (dit ergot du seigle)	<i>Claviceps purpurea</i> , <i>C. paspali</i> , <i>C. africana</i>
Autres mycotoxines	Citrinine	<i>Aspergillus terreus</i> , <i>A. carneus</i> , <i>A. niveus</i> <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. expansum</i>
	Toxines d' <i>Alternaria</i> (alternariol, alternariol méthyl éther...)	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria solani</i>
	Acide cyclopiazonique	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. tamarii</i> <i>Penicillium</i> dont <i>P. camemberti</i>
	Stérigmatocystine	<i>Aspergillus nidulans</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. flavus</i>
	Sporidesmines	<i>Pithomyces chartarum</i>
	Stachybotryotoxines	<i>Stachybotrys chartarum</i>
	Toxines d'endophytes (ergovaline, lolitrème B)	<i>Neotyphodium coenophialum</i> , <i>N. lolii</i>
	Phomopsines	<i>Phomopsis leptostromiformis</i>
Toxines trémorgènes	<i>Penicillium roquefortii</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>P. puberulum</i> <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>A. fumigatus</i>	

a. Aflatoxines

Trois souches d'*Aspergillus* sont connues pour leur capacité à synthétiser Aflatoxines. Il y a *A. flavus* qui produit principalement l'Aflatoxine B1 et l'Aflatoxine B2. *A. parasiticus*, produit les 4 Aflatoxines (B1, B2, G1, G2). Enfin, *A. nomius*, une espèce rare proche de *A. flavus*, est capable de produire des Aflatoxines. Les Aflatoxines peuvent autant intoxiquer les animaux que l'Homme.

Chez l'homme, Deux syndromes humains d'intoxication aiguë mais d'étiologies indéfinies ont été reliés à l'ingestion d'aliments contaminés par les aflatoxines : le Kwashiorkor et le syndrome de Reye. Le Kwashiorkor associe hypo-albuminémie et immunosuppression. Le syndrome de Reye associe encéphalopathie et dégénérescence graisseuse des viscères. La plupart des études épidémiologiques tendent à montrer qu'il existe une corrélation entre une exposition chronique à l'aflatoxine via le régime alimentaire et une prévalence du cancer primitif du foie. Néanmoins, cette relation est modulée par d'autres facteurs qui influencent ce risque de cancer comme l'infection virale à l'hépatite B (HBV).

b. Patuline

La patuline a été découverte dans les filtrats de culture de l'*Aspergillus clavatus* en 1942. Identifiée pour ses propriétés antibiotiques envers les bactéries Gram + et Gram -, elle suscite de nos jours un intérêt en raison de son caractère contaminant naturel des produits dérivés de la filière de la pomme. Cette toxine a été extraite de cultures de *Penicillium patulum*, *P. expansum*, *P. glandicola*, *P. vulpinum*, *P. paneum*, *P. carneum*, *Aspergillus clavatus*, *A. giganteus*, *A. terreus*, *Byssochlamys nivea* et de *B. fulva* ainsi que de *Paecilomyces* (forme sexuée de ces champignons).

La patuline constitue un exemple particulier de mycotoxine utilisée un temps en thérapeutiques vétérinaire et humaine en raison de ses propriétés antibiotiques. Des effets neurotoxiques ont été décrits lors de son utilisation en thérapeutique humaine dans les années 1950. Ils sont à l'origine de l'abandon de cette molécule en thérapeutique antibiotique.

c. Ochratoxines

Les ochratoxines A, B et C sont des métabolites de diverses moisissures des genres *Aspergillus* ou *Penicillium*. Parmi ces ochratoxines, compte tenu de la prévalence et de la toxicité de l'ochratoxine A (OTA), seule cette dernière sera traitée. Elle est produite au champ sur le raisin et lors du stockage de nombreuses denrées alimentaires (céréales, café, cacao, fruits secs, épices, ...). Elle est également susceptible d'être présente dans les abats d'animaux (notamment le sang et les rognons) ayant consommé des aliments contaminés.

L'exposition humaine à l'ochratoxine A par voie alimentaire est associée à la survenue d'une pathologie nommée Néphropathie Endémique des Balkans (NEB), qui réunit tous les critères d'une néphropathie tubulo-interstitielle chronique. Les signes cliniques sont ceux d'une insuffisance rénale progressive précédée par une anémie très marquée.

d. Citrinine

Elle est produite par différentes espèces d'*Aspergillus* (*A. terreus*, *A. carneus*, *A. niveus*) et de *Penicillium* (dont *P. citrinum*, *P. verrucosum* et *P. expansum*). Elle est également synthétisée par le genre *Monascus*, champignon producteur de colorants naturels, utilisés traditionnellement dans les aliments orientaux. Cette mycotoxine a été retrouvée dans l'orge, l'avoine, seigle, blé. Elle peut aussi contaminer le maïs, le riz, les noix, les arachides, les graines de tournesol, les fruits secs, le jus de pomme, produits secs de salaisonnerie et les fromages.

Aucune donnée n'est disponible sur les effets de la citrinine chez l'homme ; elle a été impliquée dans la néphropathie porcine et dans les néphropathies aviaires.

e. Citréoviridine

C'est une mycotoxine produite par deux espèces *Aspergillus terreus* et *Penicillium citreonigrum* trouvée dans le riz et les châtaignes et possédant un effet Neurotoxique : paralysie des extrémités, convulsion, mort par arrêt respiratoire.

f. Acide cyclopiazonique

C'est est une mycotoxine produite par différentes espèces d'*Aspergillus*, notamment *Aspergillus flavus* et *A. tamaritii*. Elle peut de ce fait être co-synthétisé avec les aflatoxines également produites par ces moisissures. La présence commune de l'acide cyclopiazonique et de l'aflatoxine B1 a été rapportée dans de nombreuses denrées, particulièrement le maïs et les arachides. L'acide cyclopiazonique peut être synthétisé en outre par des *Penicillium*, notamment *Penicillium camemberti* et *P. cyclopium*. Cette toxine a été identifiée dans de nombreux aliments tels que les céréales, le fromage et les produits de salaisonnerie.

Les principaux symptômes rapportés suite à une intoxication aiguë par L'acide cyclopiazonique chez les mammifères sont des ptosis, de l'hypokinésie, de l'ataxie, de l'hypothermie, des tremblements, des convulsions et une diminution de la prise alimentaire.

g. Trichothécènes

Elles constituent un groupe de métabolites secondaires produits par de nombreuses espèces du genre *Fusarium*, en particulier *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae* et *F.*

Chapitre II : Intoxications alimentaires

sporotrichioides. Les denrées susceptibles d'être contaminées sont les céréales comme le maïs, le triticale, le blé, le seigle ou l'avoine. Les trichothécènes sont thermostables ; on peut donc les retrouver dans des produits finis comme la farine, le pain, les gâteaux secs ou les pâtes. Les trichothécènes troubles hématologiques : thrombocytopénie, perturbation de l'hémostase, leucopénie et agranulocytose.

h. Mycotoxines trémorgéniques

De nombreuses mycotoxines produites par *Aspergillus* et *Penicillium* possèdent des propriétés trémorgènes.

Tableau 04 : Moisissures productrices de toxines trémorgènes (AFSSA, 2006).

Mycotoxine	Moisissures productrices
Penitrem A	<i>Penicillium cyclopium</i> , <i>P. verruculosum</i> , <i>P. crustosum</i>
Penitrem E	<i>P. crustosum</i>
Aflatrem	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. clavatus</i>
Roquefortine	<i>P. commune</i> , <i>P. palitans</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>P. roqueforti</i>
Verrucologène	<i>P. verruculosum</i> , <i>P. simplicissimum</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>A. caespitosus</i>
Verrucosidine	<i>P. verruculosum</i> var. <i>cyclopium</i>
Fumitrimorgine A, B	<i>P. brasilianum</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. caespitosus</i> , <i>Neosartorya fischeri</i>

Les mycotoxines trémorgènes ont été isolées sur du maïs, des ensilages et différents fourrages. Elles ont également été retrouvées dans de la bière, du fromage frais, des noix, mais également sur de la viande fermentée. Les symptômes neurologiques vont de la confusion mentale à des tremblements, des crises d'épilepsie et parfois jusqu'à la mort.

i. Zéaralène

C'est une mycotoxine ayant des propriétés oestrogéniques, produite par plusieurs espèces de moisissures du genre *Fusarium* se développant dans les céréales (maïs, orge, blé, riz, avoine...), principalement au champ (flore du champ), lors du stockage du maïs en cribs ou dans l'orge dans la phase de germination et au cours du maltage. Les principales espèces de *Fusarium* productrices sont : *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*.

Il existe de peu d'études sur la zéaralène. Cependant, ces études ont révélés des effets sur la fertilité et la reproduction.

j. Fumonisine

Cette mycotoxine est principalement produite par *Fusarium verticillioides* et *F. proliferatum*. Les fumonisines présentes sur les céréales semblent être produites quasi exclusivement au champ, sur maïs et sorgho par ces deux espèces.

Chez l'homme, on soupçonne un lien entre la consommation importante de maïs contaminé par les fumonisines dans certaines régions du monde et l'apparition de cancers de l'oesophage. Cependant sur ce point des études épidémiologiques approfondies sont requises pour préciser le rôle que pourrait jouer ces toxines dans de telles pathologies.

1.9.4. Méthodes de détection

Les méthodes de détection utilisées sont les techniques classiques : chromatographie liquide ou gazeuse, spectrométrie de masse et l'immunodétection à l'aide de kits de dosage à base d'anticorps.

1.10. Amines biogènes

1.10.1. Définition

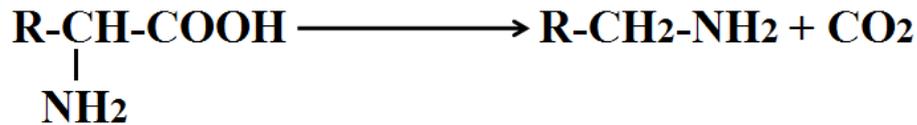
L'expression «amines biogènes» correspond aux amines non volatiles qui proviennent de la décarboxylation des acides aminés par des enzymes bactériennes et tissulaires. Les sept amines biogènes les plus étudiées sont des amines aromatiques : histamine, tryptamine, tyramine, ainsi que les amines aliphatiques : putrescine, cadavérine, spermidine et spermine.

NB :

- Les amines volatiles correspondent à l'ammoniac, la diméthylamine et la triméthylamine.
- Il existe d'autres amines biogènes tel que les neurotransmetteurs : la sérotonine, l'adrénaline et la dopamine qui sont des molécules biologiquement actives sur le système nerveux et le système vasculaire.

1.10.2. Décarboxylation des acides aminés

La décarboxylation des acides aminés résulte de l'attaque des protéines par certaines bactéries en libérant leurs acides aminés et en transformant ceux-ci par une enzyme décarboxylase en amines toxiques en éliminant une molécule de dioxyde de carbone (CO₂) selon schéma suivant :



Au cours du métabolisme des plantes et des animaux, il ya une décarboxylation des acides aminés d'où ils résultent des amines. Les aliments qui contiennent des quantités élevées d'amines de décarboxylation (amines biogènes) sont appelées aussi amines vaso-actives qui peuvent provoquer des intoxications parfois aiguës. Ces amines sont produites par de nombreuses espèces bactériennes dans les aliments riches en peptides et en acides aminés. Ces amines sont très thermorésistantes ce qui explique leur présence dans les conserves.

1.10.3. Exemple : le cas de l'intoxication histaminique

L'histamine est une amine biogène issue par la décarboxylation enzymatique de l'acide aminé histidine. Elle se trouve aussi dans tous les tissus des mammifères. C'est un médiateur chimique assurant la vasodilatation des capillaires sanguins, la contraction des muscles lisses et l'augmentation de la sécrétion gastrique. Aussi, c'est un neurotransmetteur cérébral et le principal médiateur de l'hypersensibilité immédiate.

C'est une amine hydrophile vaso-active, considérée comme l'agent des accidents alimentaires histaminiques et est produite par la microflore histaminogène. Cette dernière n'est pas, en général, des psychrotrophes et peut être classée en deux catégories :

- Espèces capables de produire de grandes quantités d'histamine (> 100 mg/100 g) : *Proteus morgani*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* et *Clostridium perfringens*.
- Espèces produisant moins de 25 mg/100 g : *E. coli*, *Hafnia alvei* et *Citrobacter freundii*.

Toutefois, bien qu'elle soit associée à des concentrations élevées dans les poissons, les mécanismes de la pathogénie de l'intoxication histaminique n'ont pas été étudiés. Selon la FAO, (2004), les seuils pour la teneur en histamine des poissons sont les suivants :

- Inférieur à 5 mg/100 g (propre à la consommation) ;
- 5 à 20 mg/100 g (possiblement toxique) ;
- 20 à 100 mg/100 g (probablement toxique) ;
- Supérieur à 100 mg/100 g (toxique).

La période d'incubation est courte et varie de quelques minutes à quelques heures. Les symptômes observés sont liés à l'effet vasodilatateur de l'histamine. La dilatation des

Chapitre II : Intoxications alimentaires

capillaires sanguins entraîne des phénomènes d'hypertension qui se traduisent par des symptômes cutanés (rougeur, œdème, urticaire, inflammation locale...etc.). Ces problèmes cutanés sont généralement suivis de troubles neurologiques (céphalées, palpitations cardiaque). Des symptômes secondaires sont de nature gastro-intestinale liés à la sécrétion du suc gastrique (nausées, crampes abdominales, vomissements). L'histamine joue aussi un rôle essentiel dans les processus de la réaction allergique.

Introduction

Le métabolisme microbien de la matière organique est un processus naturel dans l'environnement qui est essentielle pour le recyclage des nutriments. Ces activités sont généralement désignées comme une biodégradation ; cependant, lorsque ces matières organiques sont importantes pour l'être humain, comme les aliments, le métabolisme microbien est considéré comme une altération.

L'altération des aliments est donc une construction sociale qui peut être définie comme le processus ou la modification conduisant à un produit devenant indésirable ou inacceptable pour la consommation humaine. Les manifestations de l'altération des aliments sont nombreuses et variées qui peuvent être visuelles (coloration, la formation de colonies, la production de mucus, rupture de texture, gonflement de l'emballage) ou apparentes par odeur ou du goût. L'altération des aliments provoque non seulement des pertes économiques, mais aussi une perte d'aliments consommables.

1. *Pseudomonas* et autres bactéries Gram (-) d'altération

1.1. Bactéries psychrotrophes

Les bactéries psychrotrophes constituent les espèces bactériennes capables de croître à 4 °C et moins, mais de multiplier très rapidement à 10 à 25 °C et même à des températures plus élevées. Les bactéries psychrotrophes (il existe aussi de nombreuses levures et des moisissures psychrotrophes) peuvent causer une altération des aliments.

Si les aliments sont stockés dans des conditions aérobies, les psychrotrophes aérobies sont les bactéries prédominantes. Parmi ces bactéries on trouve : *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi* et autres espèces du genre *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella* et *Flavobacterium*.

Dans les aliments stockés dans des conditions anaérobies, des bactéries anaérobies et anaérobies facultatives prédominent. Parmi ces bactéries on trouve : *Brochothrix thermosphacta*, *Lactobacillus viridescens*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus*, *Leuconostoc carnosum*, *Leuconostoc gelidum*, *Leuconostoc mesenteroides*, certaines *Enterococcus*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Serratia liquifaciens*, certaines *Hafnia* et *Proteus* et *Shewanella putrefaciens* (précédemment *Alteromonas*).

1.2. Genre *Pseudomonas*

1.2.1. Caractères généraux

Le genre bactérien *Pseudomonas* comprend un groupe Bacilles à Gram négatif, aérobies, mobiles par une ciliature polaire (monotriche – pérititriche), rarement immobiles et non sporulés.

Ce sont oxydase +, caractérisés par la pluralité des substrats hydrocarbonés utilisés comme source de carbone et d'énergie. De nombreuses espèces de *Pseudomonas* ne cultivent pas à 37°C alors que la température de 30°C convient à tous, pathogènes et saprophytes. Ces bactéries ont une longévité faible en culture même à 4°C. Elles sont ubiquitaires très répandues dans la nature, caractérisées par leur résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques.

1.2.2. Classification

La famille des *Pseudomonadaceae* regroupe actuellement 5 genres : *Pseudomonas*, *Comamonas*, *Frateriia*, *Xanthomonas* et *Zoogloea*. Deux cent soixante cinq espèces étaient répertoriées, mais l'édition 1974 du Manual Bergey retenait 29 espèces dont 13 d'intérêt médical. Dans la 3^{ème} édition de ce manuel de Bactériologie Systématique, plus de 40 espèces ont été répertoriées.

Un certain nombre d'études génétiques ont été réalisées et ont permis de diviser le genre *Pseudomonas* en 5 groupes d'affinité génétique différents d'après les hybridations ADN-rARN et ADN-ADN :

- **Groupe génomique I** : groupe *fluorescens* + groupe *stutzeri* + groupe *alcaligenes*
- **Groupe génomique II** : groupe *pseudomallei* + *cepacia*
- **Groupe génomique III** : groupe *acidovorans*
- **Groupe génomique IV** : groupe *diminuta-vesicularis*
- **Groupe génomique V** : groupe *maltophilia* (*Xanthomonas*)

1.2.3. Pigments élaborés par les *Pseudomonas*

Les deux pigments les plus fréquents et caractéristiques sont la pyocyanine (Pigment bleu) et la pyoverdine (Pigment jaune-vert fluorescent), sont solubles dans les milieux de culture, et peuvent les colorer. Les espèces pigmentées sont par exemple :

- *P. aeruginosa* : pyocyanine + pyoverdine, il possède l'un ou l'autre ou les deux, mais pouvant être perdus par mutation. Il existe des variétés mélanogènes ou érythrogènes produisant un pigment noir ou un pigment rouge.
- *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. syringae*, et *P. cichorii* produisent de la pyoverdine mais certaines souches sont parfois apigmentées.
- *P. aureofaciens* : pigment jaune orange ou pourpre.

1.2.4. Description des espèces de *Pseudomonas* associées à l'altération aliments dérivés des plantes et d'animaux

Le bacille pyocyanique, est désigné sous le nom d'espèce *Pseudomonas aeruginosa*. C'est l'espèce la plus connue et la plus répandue du genre *Pseudomonas*. Elle est considérée comme la plus pathogène et constitue l'espèce-type du genre et des infections hospitalières ou nosocomiales et peut aussi associée à l'altération de certains végétaux.

a. Caractéristiques des *Pseudomonas* associées à l'altération des produits frais (végétaux)

P. fluorescens oxydase positif représente un groupe très hétérogène et peut être subdivisé en plus de cinq sérotypes ou sérovars. *P. fluorescens* appartenant à différents sérovars ont été trouvés associés à des produits frais, y compris les épinards, la laitue, le chou, la pomme de terre, les tomates, l'endive, salade de légumes et la carotte. Le sérovar II (sérotipe B) est le plus courant isolé de produits frais et des racines de rhizosphères. Les souches pectolytiques de ce dernier sont bien connues pour leur capacité de provoquer des maladies pour les plantes sur le terrain et pour l'altération des produits frais après la récolte. Bien que le sérovar II soit considéré comme le principal *Pseudomonas* responsable de l'altération des produits frais, d'autres sérovars de *P. fluorescens* sont également impliqués. Par exemple, 40 % des altérations des produits frais peuvent être causées par *P. viridiflava* oxydase négative et au moins trois sérovars de *P. fluorescens* (I, II et IV).

Autres espèces de *Pseudomonas* sont également connues pour provoquer une détérioration de certains types de produits. Une épidémie d'altération des bulbes d'oignon a été causée par *P. aeruginosa*, une épidémie d'altération des champignons a été causée par *P. tolaasii*, *P. cichorii* est une autre *Pseudomonas* fluorescente connue pour être associée à une altération spécifique de produits tels que la laitue.

Les *Pseudomonas* pectolytiques sont généralement considérées comme les principales causes d'altération des produits frais stockés à des températures de réfrigération. Ces *Pseudomonas* sont psychrotrophes et capables de se développer et d'induire une altération des produits frais à 10 °C ou moins.

Tableau 05 : Association de différents sérovars de *Pseudomonas fluorescens* avec des produits frais et des rhizosphères de plantes (de W Blackburn, 2006).

Sources	<i>P. fluorescens</i> identifiée
Fruits et légumes	Sérovars II, & V
Tubercules de pomme de terre, rhizosphère et tissu feuilleté	Sérovars II, & V
Tubercules de graines de pommes de terre	Sérovars I, II, IV & V
Salade fraîche	Sérovars I, II, III & V
Epinards frais	Sérovars I, IV & V
Céleri séché et le chou stockés à 1 °C	Sérovars II & V
Endive prête à l'emploi stockée à 10 °C pendant 10 jours	Sérovars I, II, III & V
Racines de tomates	Sérovars I, II, IV & V

b. Caractéristiques des *Pseudomonas* associées à l'altération des produits d'origine animale

La caractérisation phénotypique et moléculaire des psychrotrophes isolés de la viande fraîche et gâtée de l'agneau, le lait bovin, le lait de chèvre, le fromage, les poissons et les volailles ont révélé la présence de trois espèces principales de *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. fragi* et *P. lundensis*).

b1. *P. fluorescens*

Contrairement à *P. aeruginosa* qui est bien définie, les souches de *P. fluorescens* associées avec des plantes ou des animaux sont extrêmement hétérogènes en termes de leurs caractéristiques phénotypiques et moléculaires. Une étude récente sur les pseudomonades associées avec des plantes et des animaux indiquait que chaque sérovar de *P. fluorescens* pourrait être élevé à une espèce distincte.

Les sérovars I et III de *Pseudomonas fluorescens*, souvent en combinaison avec *P. Fragi* et *P. lundensis* constituent une composante dominante de la microflore associée à divers types d'aliments, y compris le lait, les viandes, les volailles et les poissons.

b2. *P. fragi*

Les souches pathogènes de *P. fragi* ne sont pas fluorescentes et immobiles. Cependant, les souches atypiques de *P. fragi* qui sont fluorescents ont été isolées à partir de lait cru et les poissons. Néanmoins, la grande majorité des souches de *P. fragi* examinées jusqu'à présent sont flagellées, bien que la mobilité de ces souches flagellées ne soit pas facilement détectable. *Pseudomonas fragi* constitue une composante régulière et principale de la microflore native associée à des aliments frais et gâtés. Il compte pour 61 % des *Pseudomonas* de viandes et 76 à 79 % des *Pseudomonas* de porc. Ce *Pseudomonas* se caractérise par sa capacité à produire une odeur désagréable et de former un anneau acide dans le lait de tournesol.

Des souches de *Pseudomonas fragi* ont été trouvées dans de nombreux types différents des aliments, y compris le lait, les poissons, les viandes et les volailles. Une grande proportion de ces *Pseudomonas* est capable de produire des protéases extracellulaires, des lipases, des exopolysaccharides et une odeur désagréable.

b3. *P. lundensis*

La caractérisation phénotypique et moléculaire des *Pseudomonas* isolées de la viande fraîche et gâtée, des poissons, des volailles et du lait a révélé la présence d'une espèce distincte de *Pseudomonas* maintenant désigné sous le nom *P. Lundensis*. Les souches pathogènes de *P. lundensis* sont fluorescentes et mobiles. *P. lundensis* est identique d'un sérovar V de *P. fluorescens* ; elle est également étroitement liée au sous-groupe *P. fragi* B3. Cependant, les souches de *P. lundensis* peuvent être différenciées des autres *Pseudomonas* en fonction de leur capacité ou l'incapacité de dénitrifier, d'utiliser le tréhalose, la créatine et le D- mannitol. En outre, *P. lundensis* peut être distingué de *P. fragi* en fonction de l'incapacité de ce dernier à produire un pigment fluorescent et exposer la motilité.

Tableau 06 : Association des principales espèces de *Pseudomonas* avec des aliments dérivés d'animaux (de W Blackburn, 2006).

Types d'aliments	<i>Pseudomonas</i> spp. identifiées
Lait cru et lait pasteurisé	<i>P. fluorescens</i> sérovars I & III (> 70 %) <i>P. fragi</i> (20%) <i>P. lundensis</i> <i>P. putida</i>
Poissons	<i>P. fragi</i> (> 30 %) <i>P. lundensis</i> <i>P. fluorescens</i> sérovar III <i>P. putida</i>
Viandes	<i>P. fragi</i> (> 50 %) <i>P. fluorescens</i> sérovars I, II & III <i>P. aureofaciens</i> <i>P. putida</i>
Agneau, bœuf, porc	<i>P. fragi</i> (> 70 %) <i>P. fluorescens</i> sérovars I & III <i>P. putida</i>
Volailles	<i>P. fragi</i> <i>P. fluorescens</i> <i>P. lundensis</i>
Sol, eau	<i>P. fragi</i> (Clusters A, B1, B2 & B3) (> 50 %) <i>P. lundensis</i> <i>P. fluorescens</i> sérovars I, II, III, & IV <i>P. aureofaciens</i> <i>P. aeruginosa</i>

1.3. Autres bactéries Gram (-)

1.3.1. Famille des *Enterobacteriaceae*

a. Caractères généraux

La famille *Enterobacteriaceae* comprend une grande variété d'espèces Gram négatif, y compris des bactéries commensales de l'intestin et d'importants pathogènes, bactéries aéroanaérobies et non sporulées, fermentent le glucose avec ou sans production de gaz, fermentent le lactose ou non, oxydase (-) et réduisant les nitrates en nitrites. En raison de leur importance médicale, elle comprend des microorganismes pathogènes pour l'homme incluant *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Yersinia pestis* et une gamme d'*Escherichia coli* pathogène. Outre leur importance clinique, certaines bactéries de cette famille sont des microorganismes d'altération des aliments, responsables de des pertes économiques dans certains secteurs de l'industrie alimentaire.

Actuellement, la famille des *Enterobacteriaceae* comprend au moins 34 genres, 149 espèces et 21 sous-espèces. Les cellules sont généralement de taille entre 0,3-1,8 µm, bacilles bien que des formes filamenteuses plus longues puissent se produire dans de nombreux genres si les cellules sont exposées à certaines conditions environnementales. Les cellules peuvent être immobiles ou mobile, souvent par des flagelles péritriches. Une exception est *Tatumella* qui présente une mobilité au moyen de flagelles polaires.

Les *Enterobacteriaceae* sont largement répandues dans la nature ; certaines espèces sont pathogènes pour l'homme et l'animal, tandis que d'autres sont pathogènes pour les plantes et les insectes. Les bactéries pathogènes pour les plantes comprennent des espèces du genre le plus étudié *Erwinia*, dont certaines espèces ont été attribuées aux genres *Brenneria* et *Pectobacterium*.

b. Altération des aliments

b.1. Lait et produits laitiers

Dans le lait réfrigéré, la croissance des bactéries psychrotrophes, y compris certaines souches des *Enterobacteriaceae*, peut entraîner la production d'enzymes telles que les lipases et les protéinases, toutes les deux sont capables de résister les traitements thermiques à ultra haute température (UHT) et qui peuvent décomposer la caséine et diffuser des saveurs désagréables résultant de la formation des peptides et donnent un goût amer au lait. Aussi, certaines souches, notamment *Serratia spp.*, peuvent donner naissance à un pigment rougeâtre, tandis que d'autres bactéries peuvent causer d'autres défauts de couleur. Dans les fromages durs tels que le cheddar, *E. coli* et d'autres *Enterobacteriaceae* peuvent être responsable des saveurs désagréables causés par la production de divers composés volatils et soufflage prématuré causé par la production du gaz de la fermentation du lactose.

b.2. Viande, volaille et produits dérivés

Pour la viande et la volaille, la croissance des *Enterobacteriaceae* est généralement favorisée par le stockage à 5 °C et au-dessus plutôt que de 0 à 1 °C. Dans une étude réalisée sur les volailles conservées à 5 °C, elle a révélé une croissance lente de certaines *Enterobacteriaceae* tels que *Citrobacter* et *Proteus* provoquant des odeurs sur les muscles du poulet.

Tableau 07 : La famille des *Enterobacteriaceae* (de W Blackburn, 2006).

Arsenophonus <i>nasoniae</i>	<i>cowanii</i> (<i>Erwinia</i>) <i>disslovens</i>	<i>cryocrescens</i> <i>georgiana</i> <i>intermedia</i>
Brenneria <i>alni</i> <i>lupinicola</i> <i>nigrifluens</i> <i>paradisiaca</i> <i>quercina</i> <i>rubrifaciens</i> <i>salicis</i>	<i>gergoviae</i> <i>hormaechei</i> <i>kobei</i> (<i>Erwinia</i>) <i>nimipressuralis</i> <i>pyrinus</i> <i>sakazakii</i> <i>taylorae</i> (Ent. <i>cancerogenus</i> ; <i>Erwinia cancerogena</i>)	Leleria (<i>Escherichia</i>) <i>adecarboxylata</i>
Budvicia <i>aquatica</i>	Erwinia <i>amylovora</i> <i>aphidicola</i> <i>billingiae</i> <i>carnegieana</i> <i>mallotivora</i> <i>papayae</i> <i>persicina</i> <i>psidii</i> <i>pyrifoliae</i> <i>rhapontici</i> <i>tracheiphila</i>	Leminorella <i>grimontii</i> <i>richardii</i>
Buttiauxella <i>agrestis</i> <i>brennerae</i> <i>ferragutiae</i> <i>gaviniae</i> <i>izardii</i> <i>noackiae</i> <i>warmboldiae</i>	Escherichia <i>albertii</i> <i>blattae</i> <i>coli</i> <i>coli inactiva</i> <i>fergusonii</i> <i>hermannii</i> <i>vulneris</i>	Moellerella <i>wisconsensis</i>
Cedecea <i>davisae</i> <i>lapagei</i> <i>neteri</i>	Ewingella <i>americana</i>	Morganella <i>morganii</i> subsp. <i>morganii</i> <i>morganii</i> subsp. <i>sibonii</i>
Citrobacter <i>amalonaticus</i> <i>braakii</i> <i>farmeri</i> <i>freundii</i> <i>gillenii</i> <i>koseri</i> (<i>diversus</i>) <i>murlinae</i> <i>rodentium</i> <i>sedlakii</i> <i>werkmanii</i> <i>youngae</i>	Hafnia <i>alvei</i>	Obesumbacterium <i>proteus</i>
Edwardsiella <i>anguillimortifera</i> <i>hoshinae</i> <i>ictaluri</i> <i>tarda</i>	Klebsiella <i>granulomatis</i> <i>oxytoca</i> <i>pneumoniae</i> subsp. <i>ozaenae</i> <i>pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> subsp. <i>rhinoscleromatis</i> <i>singaporensis</i> <i>variicola</i>	Pantoea <i>agglomerans</i> <i>ananatis</i> <i>citrea</i> <i>dispersa</i> <i>punctata</i> <i>stewartii</i> subsp. <i>indologenes</i> <i>stewartii</i> subsp. <i>stewartii</i> <i>terrea</i>
Enterobacter <i>aerogenes</i> <i>amnigenus</i> biogroup 1 <i>amnigenus</i> biogroup 2 <i>asburiae</i> <i>cloacae</i> <i>myxofaciens</i> <i>penneri</i> <i>vulgaris</i>	Kluyvera <i>ascorbata</i>	Pectobacterium <i>atrosepticum</i> <i>betavasulorum</i> <i>cacticida</i> <i>carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i> <i>carotovorum</i> subsp. <i>odoriferum</i> <i>chrysanthemii</i> <i>cypripedii</i> <i>waspabiae</i>
Providencia <i>alcalifaciens</i> <i>heimbachae</i> <i>rettgeri</i> <i>rustigianii</i> <i>stuartii</i>	Serratia <i>entomophila</i> * <i>ficaria</i> <i>fonticola</i> <i>grimesii</i> * <i>liquefaciens</i> <i>marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i> <i>marcescens</i> subsp. <i>sakuensis</i> <i>marinorubra</i> <i>odorifera</i> biogroup 1 <i>odorifera</i> biogroup 2 <i>plymuthica</i> <i>proteamaculans</i> * <i>quinivorans</i> <i>rubidaea</i> (* <i>liquefaciens</i> -like)	Photorhabdus (<i>Xenorhabdus</i>) <i>luminescens</i>
Rahnella <i>aquatilis</i>	Shigella <i>boydii</i> <i>dysenteriae</i> <i>flexneri</i> <i>sonnei</i>	Pragia <i>fontium</i>
Raoultella <i>ornithinolytica</i> <i>planticola</i> <i>terrigena</i>	Tatumella <i>ptyseous</i>	Proteus <i>hauseri</i> <i>inconstans</i> <i>mirabilis</i>
Salmonella <i>bongori</i> <i>enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> <i>enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> <i>enterica</i> subsp. <i>enterica</i> <i>enterica</i> subsp. <i>houtenae</i> <i>enterica</i> subsp. <i>indica</i> <i>enterica</i> subsp. <i>salamae</i>		Xenorhabdus <i>beddingii</i> <i>bovienii</i> <i>japonica</i> <i>nematophila</i> <i>poinarii</i>
		Yersinia <i>aldovae</i> <i>aleksiciae</i> <i>bercovieri</i> <i>enterocolitica</i> subsp. <i>enterocolitica</i> <i>enterocolitica</i> subsp. <i>palaearctica</i> <i>frederiksenii</i> <i>intermedia</i> <i>kristensenii</i> <i>mollaretii</i> <i>pestis</i> <i>pseudotuberculosis</i> <i>rohdei</i> <i>ruckeri</i>
		Yokenella (<i>Koserella</i>) <i>trabuisii</i> <i>regensburgei</i>

b.3. Poissons et fruits de mer

L'altération des poissons d'eau douce, d'eau salée et des crustacés peut être causée par une variété de bactéries, bien que le poisson frais stocké sur la glace soit particulièrement susceptible l'altération bactérienne. Deux caractères les plus importants qui sont caractéristiques des bactéries d'altération des poissons, leur capacité à produire du H₂S et réduire l'oxyde de triméthylamine en triméthylamine. À l'exception d'*Erwinia* et de certaines espèces de *Shigella*, la plupart des espèces de des *Enterobacteriaceae* peuvent réduire l'oxyde de triméthylamine. Dans les extraits de hareng (*Clupea harengus*) stockés en anaérobiose à 15 °C *Enterobacter spp.* et *Proteus spp.* ont la capacité de réduire l'oxyde de triméthylamine avec production du H₂S.

b.4. Fruits et légumes

Les souches d'*Erwinia* sont peut-être les agents bactériens les plus importants responsables d'altération des légumes frais après la récolte. Les principaux types d'altération par ces bactéries sont les poules molles causées par des enzymes pectiques qui décomposent les pectines, ce qui entraîne une apparence détrempée qui est parfois accompagnée d'une mauvaise odeur et d'une apparence imbibée d'eau. Ces enzymes sont produites par une gamme de bactéries, notamment *Erwinia spp.*, mais surtout *Pectobacterium (Erwinia) carotovora*. Ce type de détérioration peut affecter une large gamme de légumes comme les oignons, l'ail, asperges, haricots verts, carottes, panais, céleri, laitue, choux, pommes de terre, épinards, choux de Bruxelles, choux-fleurs, concombres, poivrons, etc. En plus, d'autres souches des *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia* et *Citrobacter*), ainsi que d'autres bactéries et levures, peuvent être responsables de la production de gaz et souffler les couvercles des produits de salade préemballés à la mayonnaise. La production de gaz peut se produire également dans la salade de chou, ainsi que les mauvaises odeurs qui sont parfois décrites comme une forte odeur de matière fécale.

1.3.2. *Achromobacter*

Ce sont des bacilles Gram (-) appartenant à la famille des *Alcaligenaceae*, aérobies, immobiles, catalase et oxydase positives responsables de l'altération des viandes. De nombreuses espèces d'*Achromobacter* sont similaires à *Acinetobacter*, sauf qu'elles sont oxydase positive et les espèces d'*Acinetobacter* sont oxydase négative. Il existe six espèces : *Ach. denitrificans*; *Ach. insolitus*; *Ach. piechaudii*; *Ach. ruhlandii*; *Ach. spanius*; *Ach. Xylosoxidans*.

Chapitre III : Principales flores d'altération des aliments

Ces bactéries se trouvent dans l'eau et le sol mais aussi commensales de l'intestin des animaux. Elles ont été trouvées dans les crevettes, les saucisses de porc, d'œufs gâtés et sont présentes sur le poisson marin et le poisson frais des zones tropicales et tempérées. Elles ont aussi été trouvées dans le lait cru et dans les eaux.

1.3.3. *Acinetobacter*

Ce sont des bacilles Gram (-) appartiennent à la famille des *Neisseriaceae*. Pendant la phase stationnaire de la courbe de croissance, la forme devient plus sphérique que la forme bâtonnet. Ces bactéries sont aérobies, catalase +, oxydase – et forment des colonies lisses en blanc à crème, non pigmentées. Toutes les souches peuvent bien se développer entre 20 et 30 °C avec un optimum de 33 à 35 °C, bien que certains ne parviennent pas à croître à 37 °C. De nombreuses souches peuvent pousser à 5 °C. Il existe 17 espèces : *Ac. baumannii*; *Ac. baylyi*; *Ac. bouvetii*; *Ac. calcoaceticus*; *Ac. gernerii*; *Ac. grimontii*; *Ac. haemolyticus*; *Ac. johnsonii*; *Ac. junii*; *Ac. lwoffii*; *Ac. parvus*; *Ac. radioresistens*; *Ac. schindleri*; *Ac. tandoii*; *Ac. tjernbergiae*; *Ac. townneri*; *Ac. ursingii*.

Ces bactéries sont très répandues dans la nature isolées du sol, de l'eau, des eaux usées et une variété d'aliments, y compris lait, légumes et poulet. Elles appartiennent à l'altération psychrophile des aliments réfrigérés. *Acinetobacter johnsonii* et *Acinetobacter lwoffii* sont les espèces principalement isolées des aliments gâtés tels que le bacon, les œufs et les poissons.

1.3.4. *Alcaligenes*

Des courts bacilles Gram -, aérobies, mobile, catalase + et oxydase +, se trouvent dans l'eau et le sol mais aussi commensales de l'intestin des animaux. Il existe 14 espèces comme : *Al. aestus*; *Al. aquamarinus*; *Al. cupidus*; *Al. defragrans*; *Al. denitrificans*; *Al. Faecalis* ;...etc.

L'une des principales caractéristiques d'*Alcaligenes* est leur utilisation dans le domaine de la biotechnologie. Ils produisent un polymère de type plastique, qui sert à la production industrielle de matériaux biodégradables. En ce qui concerne l'industrie alimentaire, ils sont reconnus comme des contaminants potentiels des produits laitiers, de la viande et de la volaille. *Alcaligenes* a été associés à la rancidité dans le beurre causé par leur capacité à dégrader les acides butyriques et les mauvaises odeurs dans le lait en raison de la dégradation des graisses et des protéines. Elles ont été trouvées dans les eaux en bouteille ; ce sont aussi des contaminants des œufs, des poissons marins et frais et des légumes crus.

1.3.5. *Flavobacterium*

Ce sont des bacilles Gram – appartenant à la famille des *Flavobacteriaceae*, non fermentants, aérobies strict, catalase et oxydase positives avec la présence de 56 espèces.

Flavobacterium spp. ont été isolés de nombreux aliments réfrigérés. Elles se produisent en nombre important dans de nombreux types d'espèces de poissons frais et congelés y compris le flétan, la morue, le saumon et la truite et semblent être particulièrement significatives dans le lait et les produits laitiers. A cause de leurs propriétés lipolytiques, elles peuvent cultiver dans les margarines et les émulsions. *Flavobacterium maloloris* a été associé à une altération de beurre. *Flavobacterium* se trouve aussi sur une large gamme de produits de viande fraîche et de volaille.

1.3.6. *Moraxella*

Appartenant à la famille des *Moraxellaceae*, ce sont des coccobacilles à Gram négatif proches des *Acinetobacter* d'un point de vue morphologique, aérobies, immobiles et catalase + avec une température optimale de croissance comprise entre 33 et 35 °C. Ces bactéries se retrouvent dans des environnements marins et sur les muqueuses des humains et d'autres animaux.

Moraxella a été isolée d'une variété d'aliments protéinés et réfrigérés tels que la viande et le poisson, ainsi que de produits laitiers. Ces microorganismes forment la flore prédominante sur les poissons à nageoires marins (la morue, la sole, le flétan, le merlu) ainsi qu'une grande partie de la flore psychrotrophe des poissons marins tropicaux et des poissons d'eau douce (perche, saumon). *Moraxella* a également été associée à l'altération des produits à base de viande, bien que leur importance puisse être faible car ces organismes constituent une partie mineure (< 1%) de la microflore d'altération.

2. Levures

Les champignons microscopiques (mycètes) sont des eucaryotes et se divisent en deux groupes : champignons unicellulaires ou **Levures** et les champignons pluricellulaires filamenteux ou **Moisissures**.

Les levures non seulement occupent une place essentielle dans l'industrie alimentaire, elles participent à l'élaboration de nombreux produits alimentaires (bière, cidre, vin, fromage), mais elles contribuent aussi à la revalorisation des déchets agricoles et industriels et à la production des protéines. Cependant, elles jouent parfois un rôle négatif en contaminant et en dégradant les aliments ; certaines sont pathogènes pour l'homme et l'animal.

2.1. Caractères généraux

Les levures sont des eucaryotes unicellulaires. La cellule ou thalle a une taille très variable selon les espèces : de 1 à 10 µm de large pour 2-3 ou 20-50 µm de longueur. Elles sont de forme sphérique, globuleuse, ovoïde, allongée et cylindrique. Il existe cependant des formes cellulaires caractéristiques : forme en bouteille et forme triangulaire. Dans certaines conditions de culture, les levures peuvent donner des formes mycéliennes (pluricellulaires). La cellule est limitée par une paroi rigide représente près de 20% de son poids sec avec une membrane cytoplasmique et un très petit noyau. Elles sont haploïdes ou diploïdes ; la température optimale de croissance est entre 20 et 28 °C avec un maximum entre 35 et 47 °C. Les levures se multiplient bien dans un milieu acide : pH = 4 à 4,5 avec un pH optimal de 4,5 à 6,5 et peuvent s'adapter à des pH plus extrêmes ou alcalins.

2.2. Classification

La classification des levures est naturellement une partie intégrante de celle des champignons. Elle est fondée, au moins au départ, sur des caractères morphologiques. Les levures appartiennent à trois classes : *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* et *Deuteromycetes* (*Fungi imperfecti*).

2.2.1. *Ascomycetes* (*Hemiascomycetes*)

Elles forment la famille de *Saccharomycetaceae* divisée en quatre sous familles :

- *Schizosaccharomycetoideae* sont des levures à mycélium, le genre *Schizosaccharomyces* est alcooligène rencontré dans les brasseries.
- *Saccharomycetoideae* possèdent des cellules bourgeonnantes et des spores non fusiformes. Cette sous famille regroupe de nombreuses espèces intéressant l'industrie alimentaire : *Saccharomyces* (Panification production vinicole), *Kluyveromyces* (production fromagère), *Zygosaccharomyces*, *Hansenula*, *Debaryomyces* et *Pichia* (altération) ;
- *Nadsonioideae* à bourgeonnement bipolaire contient quelques espèces intéressantes appartenant au genre *Hanseniospora* ;
- *Lipomycetoideae* à bourgeonnement et asque en sac avec un intérêt moindre sauf quelques espèces du genre *Lipomyces*.

2.2.2 *Basidiomycetes*

Elles présentent une reproduction sexuée à basidiospores. Cette classe comporte peu de levures d'intérêt industriel (trois familles : *Filobasidiaceae*, *Sirobasidiaceae*, *Tremellaceae*).

2.2.3. *Deuteromycetes* ou *Fungi imperfecti* (levures sans sexualité)

Elles constituent la famille des *Cryptococcaceae* qui est divisée en quatre sous familles :

- *Cryptococcoideae* sont des levures à cellules bourgeonnantes ne forment pas d'anthrospores et n'ont pas de pigments. Cette sous famille contient des genres importants : *Brettanomyces*, *Candida*, *Torulopsis*, *Loeckera* dont les espèces sont des agents de fermentation, contaminants ou sources de protéines ;
- *Rhodotoruloideae* (*Rhodotorula*) sont pigmentés ;
- *Trichospororoideae* (*Trichosporon*) forment des arthrospôres. Ce sont des contaminants fréquent ;
- *Sporobolomycetoideae* qui contiennent peu d'espèces. Quelques espèces appartenant au genre *Sporobolomyces* sont parfois des contaminants des aliments.

2.3. Altération des aliments

Il existe plusieurs espèces d'altération des produits alimentaires :

- La liste des produits gâtés par *Zygosaccharomyces*, *Torulaspota* et les genres décrits récemment *Zygotorulaspora* et *Lachancea* désignés collectivement comme complexe de *Zygosaccharomyces*, est resté relativement constant pendant de nombreuses décennies, et comprend généralement des aliments et des boissons à forte teneur en sucre. Comme des produits occasionnels à haute teneur en sel tels que la sauce soja. La plupart des autres espèces du complexe de *Zygosaccharomyces* gâtent souvent les aliments et les boissons, mais beaucoup se retrouvent dans des produits dont la concentration de sucre est légèrement inférieure ;
- Les espèces de *Saccharomyces* montrent une diversité considérable dans les habitats, certaines espèces étant associées aux fermentations alimentaires et aux boissons. Dans la plupart des cas, il s'agit de processus de fermentation avec des objectifs commerciaux positifs. Néanmoins, il existe de nombreuses occasions où la présence et la croissance des levures de *Saccharomyces* ne sont pas recherchées, et le résultat est l'altération du produit. Il est intéressant de noter que le type ou les souches représentatives de nombreuses espèces dans le genre ont été isolées à partir d'aliments ou de boissons (*S. barnettii*, *S. castellii*, *S. cerevisiae*, *S. dairenensis*, *S. exiguus*, *S. pastorianus*, *S. turicensis*, *S. unisporus*) ;
- Les espèces du genre *Candida* : *C. famata*, *C. pelliculosa*, *C. valida*, *C. colliculosa*, *C. kefyri* et *C. krusei* apparaissent parmi les espèces les plus répandues et fréquentes, mais leur répartition varie selon les différents types d'aliments. *C. famata* peut être

prédominant dans les produits à base de viande, *C. pelliculosa* et *C. krusei* dans les aliments acides, *C. kefir* dans les produits laitiers, *C. colliculosa* dans les aliments à faible activité de l'eau et *C. valida* dans les boissons ;

- Les principales espèces d'altération de fruits sont *Hanseniaspora* et *Kloeckera*, en plus de *Caesalpinia* : *C. pulcherrima*, *C. membranifaciens*, *C. stellata*, *C. famata* sont parmi les résidents normaux de nombreux fruits. Les espèces Basidiomycètes (*Rhodotorula*, *Sporobolomyces*) dominent la population de levures sur les légumes crus, et les levures Ascomycétales sont représentées principalement par des espèces à faible fermentation, telles que *Candida* : *C. krusei*, *C. valida*, *C. pelliculosa*, *C. lambica* ;
- Les levures du genre *Brettanomyces* ont été décrites pour la première fois comme responsables d'une fermentation lente de la bière avec la production de saveurs fortes typiques.

3. Moisissures

3.1. Caractères généraux

Les moisissures sont des champignons multicellulaires filamenteux hétérotrophes : certains vivent en symbiose avec des végétaux, d'autres sont des parasites des végétaux ou des animaux, d'autres encore sont saprophytes qui se développent sur des déchets organiques ou contaminent les produits alimentaires. Ils sont non photosynthétiques et immobiles. Leur corps ou thalle est composé de deux parties : le mycélium (ensemble de plusieurs filaments appelés hyphes) et les spores. Elles sont acidophiles (pH compris entre 3 et 7), mésophiles (20 à 30 °C) et d'autres sont psychrotrophes (< 15 °C). Le cytoplasme limité par une membrane cytoplasmique, contient des ribosomes, des mitochondries, des vacuoles et un ou plusieurs noyaux. La paroi qui constitue la forme est très riche en cellulose et en chitine. Les moisissures sont souvent dotés de propriétés lytiques importantes (cellulolytiques, pectinolytiques, amylolytiques, protéolytiques, lipolytiques) qui en font des agents de dégradation dangereux mais aussi parfois des alliés utiles (affinage des fromages, production d'enzymes).

3.2. Classification

La classification est fondée sur des caractères purement morphologiques ; les moisissures sont divisées en quatre subdivisions principales :

- *Zygomycetes* possèdent un thalle mycélien non cloisonné et des organes de reproduction sexuée. Ils se subdivisent en *Oomycetes* à sexualité hétérogamique à

spore sexuelle endogène et à spore flagellée ; et en *Zygomycetes* à sexualité isogamique, spore exogène et spore végétative non flagellée ;

- *Ascomycetes* sont caractérisés par la formation endogène des spores contenues dans l'asque. Ils se subdivisent en *Hemiascomycetes* dont les asques sont libres correspondent à des levures et en *Plectomycetes* dont les asques sont groupés dans des réceptacles ;
- *Basidiomycetes* sont caractérisés par la formation exogène des spores portées par la baside. Ils se subdivisent en *Hemibasidiomycetes* qui correspondent aux champignons supérieurs dont la baside n'est pas cloisonnée ; et en *Protobasidiomycetes* dont la baside est cloisonnée qui sont des parasites des végétaux ;
- *Deuteromycetes* ou *Fungi imperfecti* ou *Adelomycetes* constituent un groupe très vaste qui rassemblent des champignons dont la sexualité est inconnue ou des variétés asexuées d'*Ascomycetes*. Ils sont classés en fonction des caractéristiques des organes conidiens et du mode de groupement des hyphes. Les *Aspergillus* et *Penicillium*, par exemple, ont une sexualité rare et sont fréquemment classés dans les *Adelomycetes*.

3.3. Altération des aliments

Les quatre facteurs les plus importants qui influent sur la croissance des moisissures sur les aliments sont les nutriments disponibles, le pH, la température et l'activité de l'eau.

Le faible pH de nombreux fruits donne aux moisissures un avantage concurrentiel par rapport aux bactéries, mais on voit souvent une spécificité considérable dans les espèces de moisissures pouvant gâter les différents fruits. Ainsi, un moule bleu sur les pommes qui provoque une forte altération est presque inévitablement *Penicillium expansum* et les moisissures vertes et bleues des agrumes sont généralement *Penicillium digitatum* et *P. italicum* respectivement.

Les basses températures inhibent normalement la croissance de nombreuses moisissures, mais il y a un nombre important qui se développe bien aux températures du réfrigérateur domestique. La croissance des moules bleus sur le fromage réfrigéré sera souvent la commune de *Penicillium*, les murs humides des chambres froides peuvent devenir noirs avec des croissances de *Cladosporium herbarum*.

Galactomyces geotrichum est associé à l'altération d'un certain nombre d'aliments, il est également un très bon indicateur de baisse de l'hygiène dans une usine alimentaire ou une zone de préparation car il contamine souvent les lignes de traitement. Le gâteau riche aux fruits a une activité d'eau faible qu'il pourrait sembler être à l'abri de l'altération

Chapitre III : Principales flores d'altération des aliments

microbiologique, mais le moule *Wallemia sebi* peut se développer sur une large gamme de aw de 0.69 à 0.997 et produisent de petites colonies brunes qui peuvent être difficiles à repérer sur un aliment tel que des gâteaux aux fruits jusqu'à ce qu'elle atteigne le consommateur.

1. Eaux de consommation

1.1. Définition

Il s'agit des eaux pouvant être destinées à la boisson. Elles sont de plusieurs types :

➤ **Eaux de distribution publique (eau de robinet)**

Elles proviennent du captage d'eaux superficielles ou de celui de nappes ou de sources souterraines ; ces eaux subissent plusieurs traitements épurateurs.

➤ **Eaux de captage individuel**

Sont généralement destinées à l'approvisionnement d'une maison, d'un hameau ou d'une industrie, principalement en zone rurale non desservie par l'eau de distribution. La plupart du temps, cette eau ne subit aucun traitement avant utilisation.

➤ **Eaux embouteillées**

Proviennent de nappes souterraines naturellement bien protégées et mises à l'abri de toute souillure. Ces eaux ne subissent pas de traitements désinfectants, et sont mises en bouteilles dans des conditions d'hygiène bien précises.

1.2. Microorganismes pathogènes

Le contenu microbiologique initial de l'eau dépend du type d'eau, de la source initiale, de son emplacement par rapport à des sources de contamination, du substrat rocheux environnant et des constituants du sol, son contenu en oxygène et en minéraux, ainsi que le débit d'eau.

La contamination fécale représente la source de risque la plus commune et la plus répandue pour la santé publique associée à tous les types d'eau potable.

1.2.1. Indices de contamination fécale

La recherche des indices de contamination fécale est d'application générale pour le contrôle de l'eau et des autres aliments qui sont le véhicule de transmission des toxi-infections alimentaires.

Les microorganismes les plus fréquents dans l'intestin sont anaérobies, notamment dans le caecum (*Bifidobacterium*, *Ristella*) et des microaérophiles (*Lactobacillus*), mais ces bactéries ne sont pas utilisables comme indices en raison des problèmes posés par leur mise en évidence. Puis par ordre de concentration décroissante, on trouve les Entérobactéries parmi lesquelles *E. coli* est la plus fréquente, les Streptocoques fécaux et les *Clostridium* sulfito-réducteurs ; ce sont ces trois groupes qui ont été retenus comme indices.

a. Coliformes et *E. coli*

Parmi les Entérobactéries, bactéries Gram -, vivant notamment dans l'intestin des humains et des animaux, les bactéries coliformes se caractérisent par leur aptitude à fermenter plus ou moins rapidement le lactose. Les coliformes fécaux présentent en plus deux caractéristiques liées à leur habitat, l'aptitude à se multiplier à 44 °C et à le faire en présence de sels biliaires. Enfin *E. coli* ajoute généralement à ces propriétés celle de produire de l'indole sur eau peptonée.

La sensibilité qu'apporte *E. coli* à la détection des pollutions fécales est bonne car ils très nombreux dans le contenu intestinal. Les *Klebsiella* présentent également une bonne spécificité ; en revanche les *Citrobacter* et *Enterobacter* en sont presque totalement dénués.

b. Streptocoques fécaux

Bactéries Gram +, catalase -, microaérophiles ou anaérobies, les Streptocoques se distinguent par leur forme coccoïde, leur mode de groupement en paires ou en chaînettes et leur caractère homofermentaire. Les Streptocoques fécaux la substance antigénique caractéristique du groupe D de Lancefield et par le fait que leur habitat normal étant le tube digestif des animaux à sang chaud. Parmi ces bactéries on distingue *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. hirae* qui vivent généralement dans l'intestin humain et *Streptococcus bovis*, *S. suis* et *S. equinus* qui vivent généralement dans l'intestin des animaux. Ces streptocoques du groupe D sont généralement pris globalement en compte comme des témoins de pollution fécale, car tous ont un habitat fécal. Les dénombrements des entérocoques présumés sont rarement effectués indépendamment des dénombrements de coliformes.

c. *Clostridium* sulfito-réducteurs

Ces bactéries sont parfois utilisées comme indices de contamination fécale. La forme spore, beaucoup plus résistante que les formes végétatives des coliformes fécaux et des Streptocoques fécaux, permettrait ainsi de déceler une pollution fécale ancienne ou intermittente. Sans débattre de l'intérêt réel d'une telle indication concernant la date de la pollution, il faut cependant considérer que si les *Clostridium* sulfito-réducteurs peuvent certes être des germes fécaux, ce sont également des germes telluriques et que, de ce fait, aucune spécificité d'origine fécale ne peut être attribuée à leur mise en évidence. Dans une telle optique d'interprétation, il y a intérêt à ne rechercher que les espèces les plus susceptibles d'être d'origine fécale : c'est le cas en particulier de *Clostridium perfringens*.

1.2.2. Autres microorganismes

- Il existe une grande variété de bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes (opportunistes) pour l'homme dans tous les types d'eaux. Celles-ci vivent ou survivent dans l'environnement, soit provenant des rejets humains, éliminées par des sujets malades ou des porteurs sains, soit étant autochtones et pouvant s'adapter à l'homme : *Campylobacter jejuni*, *Legionella pneumophila*, Leptospires, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, *Shigella*, Staphylocoques pathogènes, *Vibrio*, *Yersinia enterocolitica*. Leur recherche dans les eaux n'est pas systématique.

- Il existe au sein des bactéries des « virus » que l'on appelle bactériophages et qui peuvent les infecter. Ils ne sont pas pathogènes pour l'homme, mais leur présence peut traduire la présence de bactéries d'origine fécale et donc une pollution. Aussi, le virus de l'hépatite A, *Giardia*, *Candida albicans* et d'autres levures et moisissures ont été impliqués comme agents pathogènes les plus fréquents.

2. Laits et produits laitiers non fermentés

Le lait est une source complexe de nutriments, y compris les protéines, les hydrates de carbone, les lipides, les vitamines et les minéraux dont le rôle principal est de nourrir les nouveau-nés des espèces de mammifères dont ils ont été dérivés. Cependant, le lait provenant de divers animaux est devenu une partie importante du régime humain. Les composants qui le rendent nutritif pour les humains aussi fournissent un milieu de croissance idéal pour de nombreux microorganismes.

2.1. Composition

2.1.1. Lipides

Environ 98 % de la graisse du lait de vache est le triglycéride, le reste est composé de petites quantités de mono et diglycérides, phospholipides, acides gras libres, l'ester de cholestérol et le cholestérol.

2.1.2. Protéines

Les principales protéines trouvées dans le lait sont les caséines et les protéines de lactosérum comprenant des lactalbumines (3-lactoglobulines, albumine de sérum et les immunoglobulines).

2.1.3. Carbohydrates

Le lactose est le principal hydrate de carbone dans le lait, bien que les monosaccharides (principalement le glucose et le galactose), les oligosaccharides et les glucides liés aux peptides et aux protéines soient également présents, bien qu'à des concentrations très faibles.

2.1.4. Vitamines et minéraux

Le lait fournit également une bonne source de vitamines et de minéraux pour la croissance microbienne. Ainsi, un approvisionnement en nutriments suffisant couplé à un pH presque neutre (6,5 à 6,8) et une activité élevée d'eau assure que le lait soutiendra la croissance d'une large gamme de microorganismes et, en tant que tel, est un produit hautement périssable.

2.2. Composés antimicrobiens naturels dans le lait cru

2.2.1. Lactoperoxidase

Une enzyme catalyse l'oxydation du thiocyanate, en présence de peroxyde d'hydrogène, pour donner un produit d'oxydation intermédiaire, l'hypothiocyanite, qui a des activités antibactériennes liées à l'oxydation des groupes de protéines de sulfhydryle et des dommages structurels à la membrane cytoplasmique des bactéries.

2.2.2. Lactoferrine

La lactoferrine est une glycoprotéine de liaison au fer trouvée dans le lait, qui inhibe la croissance de nombreuses bactéries par sa capacité à pincer le fer.

2.2.3. Lysozyme

Le lysozyme est une enzyme bactériolytique, présente dans le lait cru, qui hydrolyse les mucopolysaccharides dans les parois cellulaires bactériennes.

2.2.4. Immunoglobulines

Il a été constaté que les immunoglobulines isolées à partir de lait bovin réduisaient l'incidence de l'infection par *E. coli* et le Rotavirus.

2.3. Produits laitiers non fermentés

2.3.1. Lait liquide

a. Lait pasteurisé

Le lait destiné à la consommation est généralement traité thermiquement pour réduire le nombre de microorganismes pathogènes potentiels et, en même temps, des microorganismes de détérioration. Les combinaisons temps-température utilisées pour le lait pasteurisé varient

considérablement, mais l'exigence minimale légale dans la plupart des pays est d'au moins 72 °C pendant au moins 16 secondes.

b. Lait stérilisé

Afin de créer un produit stable à l'étagère qui peut être stocké à température ambiante pendant plusieurs mois, une stérilisation est requise. Pour ce faire sans effets catastrophiques sur la saveur, le lait est chauffé à des températures très élevées (> 100 °C et > 125 °C pour le lait UHT) pour des temps de maintien très courts (1 à 5 secondes).

2.3.2. Crème

La graisse peut être séparée du lait par un procédé de centrifugation continue, qui utilise la différence de densité entre la graisse et la phase aqueuse. Typiquement, la teneur en matières grasses peut varier entre 12 % et 55 %. Comme pour le lait, la crème est traitée thermiquement pour assurer la sécurité.

2.3.3. Beurre

Au cours de la fabrication du beurre, la crème est agitée pour produire une phase de graisse continue composée de globules gras qui se coalescent, des fragments de globules et de la graisse pressée des globules. Le beurre ne devrait pas contenir plus de 16 % d'eau et pas moins de 80 % de matières grasses du lait.

2.3.4. Lait en poudre

Les propriétés de la poudre sont déterminées par les conditions de traitement utilisées dans sa fabrication. Les poudres à basse température sont fabriquées à partir du lait pasteurisé et, dans ce cas, l'intégrité des protéines de lactosérum est intacte. Des poudres à haute température sont produites à partir du lait qui a subi un deuxième traitement thermique à 115 °C à 120 °C pendant 30 secondes à 15 minutes pour dénaturer efficacement les protéines de lactosérum.

2.3.5. Lait concentré

Les laits concentrés ou condensés sont fabriqués de manière similaire aux laits évaporés, mais ils ne sont pas stérilisés. Le lait est chauffé pour dénaturer les protéines de lactosérum puis évaporé. Le concentré du lait écrémé traité à la chaleur est ajouté pour réduire la teneur totale en matières solides et en matières grasses aux niveaux requis. Le lait concentré sucré est fabriqué par addition de sucre (habituellement du saccharose) au lait. Après homogénéisation, le lait est rempli dans des boîtes.

2.3.6. Crème glacée

La crème glacée est fabriquée à partir d'un mélange liquide qui peut contenir du lait, de la crème, de l'eau, des matières solides au lait non gras, des graisses non mélangées, des sucres, des émulsifiants, des stabilisants et des agents aromatisants et colorants. Le mélange est traité thermiquement (habituellement environ 80 °C pendant au moins 16 secondes) ou UHT (habituellement environ 140 °C pendant 5 secondes), homogénéisé, refroidi et stocké à 3 °C.

2.4. Microflore du lait

2.4.1. Flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 100 germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices. La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles. Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles.

Tableau 08 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002)

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus ou Lactococcus</i>	< 10
Gram négatif	<10

2.4.2. Flore de contamination

a. Contamination à partir du pis

a.1. A partir d'une infection du pis

Les agents les plus courants sont *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* et *Escherichia coli*.

a.2. Contamination de la surface externe du pis

La surface externe du pis est également une source de contamination microbienne du lait. Les matériaux de literie, la boue, le fumier, le sol et toute autre matière se lient facilement à la peau et constituent une source riche de microorganismes.

La microflore dominante sur les tétines des vaches logées est celle des *Micrococcus*, mais aussi les spores trouvées dans le lait cru proviennent de cette source. Les spores de *Clostridium* peuvent être introduites dans le lait à partir d'aliments pour animaux, en particulier l'ensilage et la literie. L'ensilage est également une source importante de contamination par *Listeria spp.* et d'autres pathogènes humains potentiels tels que *Yersinia enterocolitica* et *Aeromonas hydrophila*.

b. Sources environnementales de contamination

b.1. Personnel

Il est peu probable que le personnel contribue de manière significative à la source de contamination microbienne du lait lors de la traite, bien que les travailleurs souffrant de certaines zoonoses, comme la fièvre, ne devraient pas être autorisés à participer au processus de traite.

b.2. Contamination aérienne

L'air est également un facteur négligeable pour la contamination microbienne du lait cru. Il est constaté que les bactéries aéroportées représentent < 5 UFC/ml de la charge bactérienne du lait; < 1 UFC/ml des quelles sont des spores de *Bacillus*.

b.3. Eau

L'eau utilisée dans la production du lait devrait être potable. Une telle eau peut contenir un éventail varié de microorganismes dont *Pseudomonas spp.*, Coliformes, *Bacillus spp.* et de nombreux autres genres.

c. Contamination par l'équipement de la traite et de stockage

Le nombre total de bactéries du lait peut augmenter jusqu'à 3×10^3 UFC/ml en raison de l'équipement de la traite et un supplément de $1,5 \times 10^3$ UFC/ml du réservoir en vrac.

d. Contamination pendant le transport

Le lait est généralement transporté dans des citernes isolées ou dans des citernes équipées d'un entrepôt réfrigéré. Les principales causes de l'augmentation du nombre de bactéries au cours du transport sont la contamination des véhicules et à la croissance de bactéries déjà présentes dans le lait.

3. L'œuf et les ovoproduits

3.1. Défense naturelle

L'œuf de poule est un excellent exemple d'un produit normalement protégé par ses paramètres intrinsèques. Extérieurement, un œuf frais a trois structures, chacune efficace dans une certaine mesure pour retarder l'entrée des microorganismes: la membrane de coquille cireuse externe, la coquille et la membrane interne de la coquille. A l'intérieur, le lysozyme est présent dans le blanc d'œuf. Cette enzyme s'est révélée très efficace contre les bactéries Gram positif. L'œuf blanc contient également de l'avidine, une protéine qui forme un complexe avec de la biotine (vitamine B8), rendant ainsi cette vitamine non disponible pour les microorganismes. En outre, le blanc d'œuf a un pH élevé (environ 9,3) et contient de la conalbumine, qui forme un complexe avec du fer, ce qui le rend indisponible pour les microorganismes. D'autre part, la teneur en éléments nutritifs de la matière jaunâtre et son pH dans les œufs frais (environ 6,8) en font une excellente source de croissance pour la plupart des microorganismes.

3.2. Microflore des ovoproduits

Les œufs frais sont généralement stériles. Cependant, dans un laps de temps relativement court après la pose, de nombreux microorganismes peuvent être trouvés à l'extérieur et, dans des conditions appropriées, peuvent pénétrer dans les œufs, se développer et causer une altération. La vitesse à laquelle les microbes entrent dans les œufs est lié à la température de stockage, à l'humidité, à l'âge des œufs et au niveau de contamination.

Parmi les bactéries trouvées, on trouve les membres des genres suivants: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Flavobacterium* et *Staphylococcus*. Parmi les moisissures généralement trouvés, ils figurent les genres *Mucor*, *Penicillium*, *Hormodendrum*, *Cladosporium* et autres; *Torula* est la seule levure trouvée avec un degré de cohérence.

La forme la plus commune d'altération bactérienne des œufs est connue sous le nom de pourriture. Les pourritures vertes sont causées par *Pseudomonas spp.*, En particulier *P. fluorescens*; pourritures incolores par *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et d'autres espèces; pourritures noires par *Proteus*, *Pseudomonas* et *Aeromonas*; pourritures rose par *Pseudomonas*; les pourritures rouges par *Serratia spp.*, et les pourritures «crème» par *Proteus vulgaris* et *P. intermedium*. *Penicillium* et *Cladosporium spp.* sont parmi les causes les plus fréquentes de pourriture fongique dans les œufs.

4. Viandes de volailles

Le terme « volaille » comprend normalement le poulet, la dinde, le canard, l'oie et la pintade, bien qu'il soit parfois utilisé pour englober des espèces telles que le pigeon, l'autruche, le faisan et d'autres oiseaux de gibier. Au cours des 40 dernières années, l'industrie de la viande de volaille a connu une expansion considérable, et la volaille représente aujourd'hui environ 27 % de la consommation mondiale de viande.

4.1. Caractéristiques de l'aliment

Le poulet et la dinde sont les principaux types de viande de volaille, dont le poulet comprend les deux tiers de la production totale et une production annuelle de plus de 33 000 millions d'oiseaux dans le monde.

Il existe deux types principaux de muscle de volaille: blanc (poitrine) et rouge (jambe). Ceux-ci ont des différences structurelles et physiologiques, ainsi que différentes valeurs de pH. Le muscle blanc a une valeur de pH comprise entre 5,6 et 5,8, et le pH du muscle des jambes est de 6,1 à 6,4. Les deux types de muscles sont relativement sensibles à l'altération microbienne lorsqu'ils sont stockés à l'état non gelé. La durée de conservation de la viande crue dépend des effets combinés de certains facteurs intrinsèques et extrinsèques, y compris les nombres et les types de microorganismes psychrotrophes présents initialement, la température de stockage, le pH et le type du muscle, ainsi que l'emballage utilisé pendant le stockage.

4.2. Flore caractéristique

Le poulet et la dinde sont les principaux types de volailles incriminées dans les intoxications alimentaires. La volaille crue est un véhicule commun de maladies humaines, en particulier de *Salmonella* (*S. typhimurium* et *S. enteritidis*) et *Campylobacter* (*C. jejuni* et *C. coli*).

D'autres agents pathogènes qui sont souvent présents sur les carcasses comprennent *Clostridium perfringens*, un organisme intestinal commun et *Staphylococcus aureus*, qui est porté sur la peau et dans le rhinopharynx de certains oiseaux et peut également être acquis à partir de la colonisation de l'équipement de traitement. *Listeria monocytogenes* est un contaminant commun de la volaille crue et environ 60 % des carcasses de poulet peuvent le porter. On le retrouve également chez les volailles cuites dans certains cas, malgré des mesures strictes pour prévenir la contamination.

D'autres agents pathogènes psychrotrophes sont également courants sur la viande de volaille, en particulier *Aeromonas spp.* et *Yersinia enterocolitica*. Les deux types de bactéries se développent facilement sur la viande de volaille dans des conditions de refroidissement.

5. Autres viandes et produits carnés

5.1. Composition de la viande rouge

La viande provenant d'animaux abattus comprend environ 64 à 80 % d'eau, 16 à 20 % de protéines, 6 à 10 % de matières grasses et 1 % de cendre. La composition des différents muscles diffère selon la fonction musculaire et de la proximité du tissu adipeux, ainsi que des espèces animales, de la race, de l'âge, du sexe et de l'état nutritionnel.

La conversion du muscle des animaux d'abattage en viande implique la perte d'oxygène disponible dans les cellules musculaires, l'utilisation de l'ATP disponible et la contraction des fibres musculaires. Parallèlement, il existe l'utilisation anaérobie de certains des glycogènes disponibles, de la production d'acide lactique et de la réduction du pH musculaire et de la viande.

5.2. Microflore initiale de viandes fraîches

5.2.1. Bactéries d'altération

Les bactéries importantes de dégradation de la viande fraîche comprennent *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Aeromonas*, *Alteromonas putrefaciens*, *Lactobacillus* et *Brochothrix thermosphacta*. Bien que le changement de couleur du bœuf du rouge au brun puisse être indicatif de la croissance microbienne, certaines bactéries peuvent inverser cette modification. *Brochothrix thermosphacta*, une souche fluorescente de *Pseudomonas* isolée à partir de viandes fraîches et *Staphylococcus carnosus* et *Staphylococcus caseolyticus* peuvent toutes provoquer une réversion de la métamyoglobine colorée à la couleur plus souhaitable de l'oxymyoglobine dans les produits à base de viande présentant une altération sensorielle.

5.2.2. Bactéries potentiellement pathogènes

Les bactéries potentiellement pathogènes importantes qui ont été liées à la viande rouge fraîche comprennent *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter*, *Aeromonas hydrophila* et *Bacillus cereus*.

Tableau 09 : Les bactéries les plus fréquemment trouvées sur la viandes et la volaille (Jay *et al.*, 2005)

Genre	Gram	Viande rouge	Volailles
<i>Acinetobacter</i>	–	XX	XX
<i>Aeromonas</i>	–	XX	X
<i>Alcaligenes</i>	–	X	X
<i>Arcobacter</i>	–	X	
<i>Bacillus</i>	+	X	X
<i>Brochothrix</i>	+	X	X
<i>Campylobacter</i>	–		XX
<i>Carnobacterium</i>	+	X	
<i>Caseobacter</i>	+	X	
<i>Citrobacter</i>	–	X	X
<i>Clostridium</i>	+	X	X
<i>Corynebacterium</i>	+	X	XX
<i>Enterobacter</i>	–	X	X
<i>Enterococcus</i>	+	XX	X
<i>Erysipelothrix</i>	+	X	X
<i>Escherichia</i>	–	X	
<i>Flavobacterium</i>	–	X	X
<i>Hafnia</i>	–	X	
<i>Kocuria</i>	+	X	X
<i>Kurthia</i>	+	X	
<i>Lactobacillus</i>	+	X	
<i>Lactococcus</i>	+	X	
<i>Leuconostoc</i>	+	X	
<i>Listeria</i>	+	X	XX
<i>Microbacterium</i>	+	X	X
<i>Micrococcus</i>	+	X	XX
<i>Moraxella</i>	–	XX	X
<i>Paenibacillus</i>	+	X	X
<i>Pantoea</i>	–	X	X
<i>Pediococcus</i>	+	X	
<i>Proteus</i>	–	X	X
<i>Pseudomonas</i>	–	XX	XX
<i>Psychrobacter</i>	–	XX	X
<i>Salmonella</i>	–	X	X
<i>Serratia</i>	–	X	X
<i>Shewanella</i>	–	X	
<i>Staphylococcus</i>	+	X	X
<i>Vagococcus</i>	+		XX
<i>Weissella</i>	+	X	
<i>Yersinia</i>	–	X	

5.2.3. Levures et moisissures

Les six genres de moisissures les plus facilement isolés des carcasses d'animaux d'abattage comprennent *Thamnidium*, *Mucor* et *Rhizopus*, qui produisent des mycéliums blancs sur le bœuf; *Cladosporium*, qui est associé à une tache noire; Le *Penicillium*, qui produit une tache verte et *Sporotrichum*, qui produit une tache blanche. Les levures isolées de viande incluent les genres *Candida*, *Torulopsis* et *Rhodotorula*.

5.2.4. Virus et parasites

Les virus qui causent des maladies chez les animaux d'abattoirs sont habituellement incapables de causer des maladies chez l'homme. La contamination par un manipulateur d'aliments peut entraîner la transmission de virus sur la viande. Les virus entériques sont

transmis par la voie oro-fécale. Les virus qui causent l'hépatite B, l'herpès génital et le sida ne sont pas considérés comme transmissibles par la viande.

Les parasites de la viande comprennent les nématodes comme *Trichinella spiralis*, les cestodes comme *Taenia* et les protozoaires comme *Toxoplasma gondii*. Chacun de ces parasites peut être facilement détruit par une bonne cuisson de la viande.

6. Poissons et autres produits de la mer

6.1. Composition

La composition chimique des poissons varie en fonction de l'espèce, de l'âge, de l'environnement, du cycle sexuel, ...etc., mais elle comprend environ 20 % de protéines, 1 à 2 % de matière sèche non protéique, les 78 % restants étant une combinaison d'eau et de lipides. La proportion de lipides et d'eau varie considérablement selon les espèces et la saison. Cela influe rarement sur la microbiologie du produit mais affecte la qualité et revêt une importance technologique majeure en raison des problèmes causés par l'oxydation des acides gras polyinsaturés des lipides de poisson.

6.1. Microflore des poissons frais et les fruits de mer

6.1.1. Poissons et fruits de mer des eaux tempérées

La microflore est dominée par des bactéries psychrotrophes ou psychrophiles, Gram négatif appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Shewanella* et *Flavobacterium*. Les membres des *Vibrionaceae* (*Vibrio spp.* et *Photobacterium spp.*) et les *Aeromonadaceae* (*Aeromonas spp.*) Sont également des bactéries aquatiques courantes et typiques de la flore du poisson. Les microorganismes Gram positif tels que *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium* et *Corynebacterium* peuvent également être trouvés dans des proportions variables.

6.1.2. Poissons et fruits de mer des eaux tropicales

La charge bactérienne dans les poissons capturés dans des eaux tropicales propres ne diffère pas à celle de poissons tempérés, mais un nombre très élevé d'*Enterobacteriaceae* trouvé sur les poissons capturés dans les eaux chaudes polluées. Plusieurs microorganismes pathogènes chez l'homme se trouvent naturellement dans les eaux chaudes, la plupart des Vibrions mésophiles, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus* et *V. cholerae* se trouvent dans les eaux tropicales marines et estuariennes.

6.2. Altération des poissons et des fruits de mer

Les poissons d'eau douce et d'eau salée contiennent des niveaux relativement élevés de protéines et d'autres constituants azotés. La teneur en glucides de ces poissons est nulle, alors que la teneur en matières grasses varie de très faible à assez élevée selon les espèces.

- Les poissons frais et glacés sont toujours gâtés par les bactéries, alors que les poissons salés et secs sont plus susceptibles de subir des altérations fongiques. La microflore bactérienne de la se compose de bacilles asporogènes, gram négatif : *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Moraxella*.
- La flore microbienne fruits de mer tels que les mollusques et les crustacés varie considérablement selon la qualité de l'eau à partir de laquelle ces poissons sont prélevés et la qualité de l'eau de lavage et autres facteurs. Les genres suivants de bactéries ont été récupérés à partir des huîtres gâtées: *Serratia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Shewanella*, *Lactobacillus*, *Flavobacterium* et *Micrococcus*.

7. Fruits

7.1. Composition

La majorité des fruits contiennent entre 10 et 25 % des glucides, moins de 1 % de protéines et moins de 0,5% de matières grasses. La teneur en glucides des fruits comprend la cellulose, l'hémicellulose, la lignine et les substances pectiques, ce qui contribue à la fibre alimentaire dans l'alimentation humaine. La plupart des fruits sont relativement acides ; les acides peuvent représenter jusqu'à 2 à 3 % du poids total des fruits comme les citrons. Les acides majeurs présents dans de nombreux fruits sont l'acide malique et l'acide citrique, mais l'acide tartrique est abondant dans la plupart des cultivars de raisins, et l'acide quinique est important dans certains fruits tels que la prune, la cerise et les kiwis.

7.2. Micro-organismes associés à l'altération des fruits frais

Sur la base de la teneur en nutriments, les fruits semblent être capables de soutenir la croissance des bactéries, des levures et des moisissures. Cependant, le pH des fruits est inférieur au niveau qui favorise généralement la croissance bactérienne, ce qui peut expliquer l'absence générale de bactéries dans l'altération des fruits à l'exception du genre *Erwinia*. La gamme de croissance du pH plus large des moisissures et des levures leur convient comme agents d'altération des fruits.

Une altération post-récolte peut se produire à la suite d'une infection sur le terrain. Par exemple :

- Les branches des manguiers peuvent être imprégnées par le mycélium de *Dothiorella dominicana*, qui peut entraîner par la suite l'altération du fruit ;
- *Colletotrichum gloeosporioides* cause une altération majeure des fruits tropicaux ;
- *Penicillium expansum*, qui est une cause majeure l'altération des fruits à pépins et des fruits à la pierre ;
- *Erwinia carotovora*, une cause importante de l'altération des tomates cultivées sur le terrain et des poivrons.

8. Légumes

8.1. Composition

La teneur moyenne en eau des légumes est d'environ 88 %, avec une teneur moyenne en glucides de 8,6 %, 1,9 % de protéines, 0,3 % de matières grasses et 0,84 % de cendres. La composition en pourcentage total des vitamines, des acides nucléiques et d'autres constituants est généralement inférieure à 1%. Du point de vue de la teneur en éléments nutritifs, les légumes sont capables de soutenir la croissance des moisissures, des levures et des bactéries et, par conséquent, d'être gâtés par l'un ou l'ensemble de ces organismes. La teneur élevée en eau des légumes favorise la croissance des bactéries d'altération, et les taux de glucides et de matières grasses relativement faibles suggèrent qu'une grande partie de cette eau est disponible. La gamme de pH de la plupart des légumes est dans la gamme de croissance d'un grand nombre de bactéries, et il n'est donc pas surprenant que les bactéries soient des agents courants d'altération des légumes.

8.2. Microflore des légumes crus

8.2.1. Nombre des microorganismes

Le nombre de bactéries mésophiles aérobies rapportées sur les légumes varie entre 10^2 et 10^8 UFC/g. Il varie selon les différents types de légumes; les plus hauts dénombrements ont été constatés sur les choux et le plus bas sur les fruits de légumes ou sur les feuilles intérieures des têtes de chou.

8.2.2. Types de microorganismes

La majorité des bacilles Gram négatif identifiées à partir de légumes crus étaient des *Pseudomonas fluorescentes*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*, *Flavobacterium spp.*, *Xanthomonas spp.*, *Chromobacterium spp.* et *Alcaligenes spp.* Ces bacilles étaient

prédominants parmi les isolats d'une gamme de légumes tels que le brocoli, choux, endive et carotte. En Inde, la microflore mésophile de pommes de terre comprenait principalement des bactéries Gram positif, *Bacillus spp.*, *Micrococcus spp.* et *Sarcina spp.*

8.2. Microflore d'altération des légumes

8.2.1. Bactéries

Les genres bactériens les plus souvent associés à l'altération des légumes dans le champ et après récolte sont *Pseudomonas*, *Pectobacterium*, *Erwinia*, *Xanthomonas*. Par exemple :

- Les bactéries les plus fréquemment associées à la pourriture des carottes sont *Pectobacterium spp.*, en particulier *P. carotovorum subsp. carotovorum* et *P. carotovorum subsp. odoriferum* ;
- Une fois le processus d'altération déclenché, un certain nombre de bactéries vivant dans le sol sont impliquées, les produits végétaux comprennent *Pseudomonas spp.* ainsi que *Bacillus*, *Paenibacillus* et *Clostridium*. Pour légumes comme les tomates et les pommes de terre, *P. carotovorum subsp. carotovorum* provoque une pourriture douce en entrant dans les plaies de surface ;
- L'agent pathogène du cancer des cyprès, *Xanthomonas anonopodis* a causé des ravages sur l'industrie des agrumes.

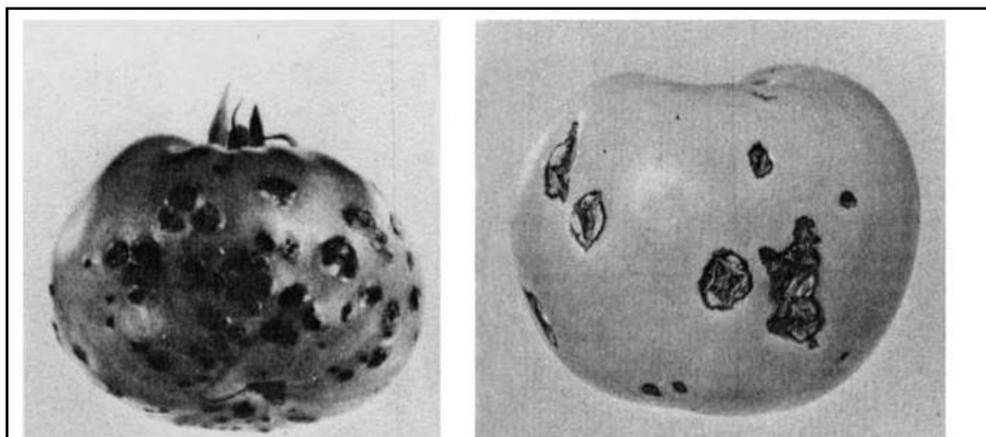


Figure 02 : Maladies de la tomate causées par des bactéries (Jay *et al.*, 2005).

8.2.2. Agents fongiques

a. Moisissure grises

Causée par *Botrytis cinerea*, qui produit un mycélium gris. Ce type de détérioration est favorisé par une forte humidité et des températures chaudes. Parmi les légumes affectés, on retrouve les asperges, les oignons, l'ail, les haricots, les carottes, les panais, le céleri, les

tomates, les endives, les artichauts, la laitue, la rhubarbe, le chou, les choux de Bruxelles, le chou-fleur, le brocoli, le radis, les rutabagas, les navets, les concombres, la citrouille, la courge, les poivrons et les patates douces.

b. Altération acide

Causée par *Geotrichum candidum* et d'autres moisissures. Parmi les légumes touchés, on retrouve les asperges, les oignons, l'ail, les haricots, les carottes, les panais, le persil, les endives, les artichauts, la laitue, le chou, les choux de Bruxelles, le chou-fleur, le brocoli, les radis, les navets et tomates.

c. Altération des *Rhizopus*

Causé par *Rhizopus stolonifer* et d'autres espèces qui rendent les légumes moelleux. Parmi les légumes concernées, on trouve des haricots, des carottes, des pommes de terre, des choux, des choux de Bruxelles, du chou-fleur, du brocoli, des radis, des navets, des concombres, des citrouilles, de la courge, des pastèques et des tomates.

d. Altération de *Phytophthora*

Causée par *Phytophthora spp.* Parmi les légumes affectés, on trouve les asperges, les oignons, l'ail, les pastèques, les tomates, les aubergines et les poivrons.

e. Maladie d'Anthracnose

Causée par *Colletotrichum coccodes* et d'autres espèces. Ces champignons sont considérés comme des agents pathogènes des plantes. Ils vivent de saison en saison sur les débris végétaux dans le sol et sur la semence de diverses plantes comme la tomate. Leur propagation est favorisée par le climat chaud et humide. Parmi les légumes touchés, ils figurent les haricots, les concombres, les pastèques, les citrouilles, la courge, les tomates et les poivrons.

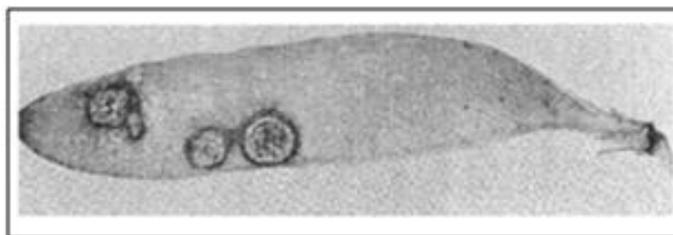


Figure 03 : Maladie d'Anthracnose pour l'haricot (Jay *et al.*, 2005).

f. Moisissure blues

C'est une maladie post-récolte de pommes et de poires causée par *Penicillium expansum*.

9. Céréales et produits dérivés

Les céréales, les fruits des graminées cultivées de la famille des monocotylédones *Gramineae*, sont probablement les cultures agricoles les plus importantes au monde. Les huit principales cultures céréalières sont : le blé, le riz, le maïs, l'orge, le sorgho, le millet, l'avoine et le seigle.

9.1. Microflore des céréales

La microbiologie des céréales, pendant la croissance, la récolte et le stockage est dominée par les moisissures. Les céréales (grains) sur le terrain sont exposées aux microorganismes du sol, des oiseaux, des animaux, des insectes, des engrais et d'autres plantes sur le terrain, en particulier si elles sont malades. Le facteur le plus important qui régit la colonisation ultérieure des grains, que ce soit par des saprophytes ou des agents pathogènes, est la disponibilité de l'eau.

Certains des produits dérivés sensibles à la détérioration microbienne incluent des grains de céréales à haute teneur en eau, des graines germinées, des pâtes réfrigérées, des pains, des pâtes molles et des pâtisseries.

9.1.1. Graines

Les graines ont normalement une humidité de 10 à 12 %, ce qui réduit l' A_w à environ $< 0,6$ et inhibe ainsi la croissance microbienne. Dans les céréales, lors de la récolte, de la transformation, et le stockage, si l' A_w augmente au-dessus de 0,6 certaines moisissures peuvent pousser.

Certaines espèces de champignons des genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Rhizopus* peuvent causer une détérioration des grains à forte teneur en eau (blé). Pendant le stockage, les bactéries Gram positives et Gram négatives, les levures et les moisissures peuvent se développer et produire des saveurs désagréables. Le genre *Fusarium* comprend des espèces qui ont à la fois des activités pathogènes et saprophytes. Ainsi, *F. culmorum* et *F. graminearum* peuvent causer à la fois la pourriture de la tige et la brûlure de la tête du blé et de l'orge sur le champ.

9.1.2. Pâte réfrigérée

La pâte réfrigérée (pour les biscuits, les rouleaux et les pizzas...etc.) est susceptible de se détériorer (formation de gaz) à partir de la croissance d'espèces bactériennes psychrophiles de *Lactobacillus* et *Leuconostoc*. La production rapide de CO₂ peut souffler les récipients, surtout lorsque la température de stockage augmente à 10 °C et au-dessus.

9.1.3. Pains

L'Aw de pains est normalement assez bas (0,75 à 0,9) pour empêcher la croissance de bactéries. Cependant, certaines moisissures (*Rhizopus stolonifer*) peuvent pousser, surtout si l'eau est libérée en raison de la cristallisation de l'amidon pendant le stockage. Les moisissures sont tuées lors de la cuisson; cependant, les spores peuvent entrer de l'air et de l'équipement après la cuisson.

Lorsque les pains sont congelés, ils peuvent contenir des cristaux de glace dans les sacs. Après la décongélation, certaines portions peuvent absorber suffisamment d'humidité pour que les levures et les bactéries se développent et causent une détérioration (goût aigre). Un type spécifique d'altération du pain caractérisé par une masse blanche, fibreuse et brune avec une odeur fruitée, est causée par la croissance de certaines variantes mucoïdes de *Bacillus subtilis*.

9.1.4. Pâtes

Les pâtes peuvent être gâtées par des microorganismes avant le séchage en raison de pratiques de fabrication inappropriées. Les pâtes sèches ne favorisent pas la croissance microbienne. Cependant, les pâtes molles peuvent être gâtées par des bactéries, des levures et des moisissures. Le stockage anaérobie de l'emballage et de la réfrigération peut empêcher la croissance des moisissures et ralentir la croissance des levures et des bactéries anaérobies.

9.1.5. Pâtisseries

Les pâtisseries comprennent des gâteaux et des coquilles cuites au four remplis de crème ou de sauces. Ils peuvent être gâtés par des microorganismes qui contiennent les ingrédients ajoutés après la cuisson, tels que le glaçage, les noix, les garnitures et la crème.

10. Boissons rafraichissantes non-fermentées

10.1. Définitions

Les boissons rafraichissantes non-fermentées sont un terme englobant une grande variété de produits, à base de fruits ou autres, gazeux ou non.

- **Boissons rafraichissantes à base de fruits** : sont principalement à base de fruits et comprennent des boissons aux fruits, des boissons aux jus de fruits et des courges de fruits. Plus récemment, un certain nombre de boissons à base de thé ont été commercialisées ;
- **Boissons rafraichissantes gazeuses (carbonatées)** : cette catégorie comprend des Colas, des boissons aux fruits étincelants, des mélanges tels que les toniques ou au gingembre, la limonade, les thés carbonatés et le soda à la crème. La carbonatation consiste à dissoudre le dioxyde de carbone dans la boisson sous une légère pression, en formant des boissons gazeuses.

10.2. Microflore des Boissons rafraichissantes non-fermentées

Les boissons rafraichissantes sont des produits acides, contenant habituellement des quantités importantes de sucres fermentescibles. Un tel environnement est idéal pour l'altération par des levures, des moisissures et de quelques bactéries tolérantes à l'acidité.

- Pour les **boissons gazeuses** certaines espèces de levures des genres *Torulopsis*, *Candida*, *Pichia*, *Hansenula* et *Saccharomyces* peuvent pousser et rendre les produits turbides. Certaines espèces de *Lactobacillus* et *Leuconostoc* peuvent également se développer pour causer des nuages et *Leuconostoc* peut rendre le produit visqueux. En outre, s'il y a suffisamment d'oxygène dissous, des moisissures (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* et *Fusarium*) et *Acetobacter* peuvent se développer; ce dernier peut produire de l'acide acétique pour donner une saveur de type vinaigre.
- **Les boissons aux jus de fruit** sont sensibles à l'altération par les moisissures, levures, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Acetobacter spp.* Les moisissures et les *Acetobacter* peuvent se développer si suffisamment d'oxygène dissous est disponible. Les levures peuvent causer à la fois l'oxydation et la fermentation des produits. *Acetobacter* peut utiliser de l'alcool pour produire de l'acide acétique. *Lactobacillus Fermentum* et *Leuconostoc mesenteroides* peuvent fermenter les glucides en lactate, éthanol, acétate, CO₂, diacétyl et acétoïne.
- Pour **les boissons aux fruits**, *Lactobacillus* et *Leuconostoc spp.* peuvent également convertir les acides citrique et malique (additifs) en acides lactique et acétique et réduire le goût aigre. Ces boissons aux fruits ont un faible Aw (0,9), seules les levures osmophiles peuvent pousser; les moisissures peuvent également se développer si l'oxygène est disponible. Un nouveau groupe d'espèces bactériennes, *Alicyclobacillus*

Chapitre IV : Étude de la microflore des différents aliments et de ses effets

(Alicyclobacillus acidoterrestris), a été reconnu récemment pour provoquer une altération des jus de fruits et des légumes à faible pH.

1. Maîtrise de l'hygiène dans l'industrie alimentaire

1.1. Définitions

- Selon le *Codex Alimentarius*, l'hygiène alimentaire est un ensemble des conditions et mesures nécessaires pour assurer la sécurité et la salubrité des aliments à toutes les étapes de la chaîne alimentaire.
- La Sécurité des aliments est une assurance que les aliments sont sans danger pour le consommateur quand ils sont préparés et/ou consommés conformément à l'usage auquel ils sont destinés.
- La Salubrité des aliments est une assurance que les aliments sont acceptables pour la consommation humaine conformément à l'usage auquel ils sont destinés.

1.2. Guide de Bonnes Pratiques d'Hygiène (GBPH)

Les guides de bonnes pratiques d'hygiène nationaux sont conçus par les professionnels représentant les secteurs concernés (professionnels, autorités, compétentes et associations de consommateurs). Ils peuvent être élaborés sous l'égide d'un organisme national de normalisation, Exemple : L'Association Française de Normalisation (AFNOR) qui élabore des guides repose sur les principes de la démarche HACCP. Une fois la rédaction du guide terminé, les organisations professionnelles l'envoient aux administrations du contrôle concernées, ensuite le guide est validé par les pouvoirs publics (Journal Officiel) et transmis à la commission européenne et leur application demeure volontaire.

1.3. Grands principes d'hygiène

La méthode des 5 M vise à identifier les sources et les facteurs de contamination et prolifération microbiennes possibles et par la même, de mettre en place des moyens de surveillance et de contrôle visant à la maîtrise des risques à chaque étape de fabrication.

1.3.1. Matière (provenance, réception, conditionnement, températures)

La matière première devrait être gérée de manière à assurer que les aliments sont salubres et propres à leur usage prévu. Il faudra, au besoin:

- Eviter la production dans des zones où l'environnement constitue une menace pour la sécurité des aliments;
- Prendre des mesures de lutte contre les contaminants, les ravageurs et les maladies des animaux et des plantes, afin d'éviter qu'ils ne constituent une menace pour la salubrité des aliments;

Chapitre V : Prévention des contaminations

- Adopter des pratiques et des mesures visant à garantir que les aliments sont produits dans des conditions d'hygiène appropriées (stockage, température...etc.).

1.3.2. Matériel

Selon la nature des opérations et les risques qui leurs sont associés, les locaux, le matériel et les installations devraient être situés, conçus et construits de manière à ce que:

- La contamination des aliments soit réduite au minimum;
- La conception et la disposition des lieux permettent un entretien, un nettoyage et une désinfection convenables et minimisent la contamination d'origine atmosphérique;
- Les surfaces et les matériaux, particulièrement s'ils sont en contact avec les aliments, ne soient pas toxiques pour l'usage auquel ils sont destinés et, au besoin, suffisamment durables et faciles à nettoyer et à entretenir;
- Il existe, le cas échéant, des dispositifs appropriés de réglage de la température, de l'humidité, etc.
- Une protection efficace soit prévue contre la pénétration et l'installation de ravageurs.

1.3.3. Méthode

Produire des aliments salubres et propres à la consommation humaine grâce à :

- L'organisation du travail dans l'espace et le temps, stockage et conditionnement des denrées alimentaires, surveillance des températures et nettoyage ;
- L'élaboration de critères à respecter dans la fabrication et la manutention de denrées alimentaires spécifiques, en ce qui concerne les matières premières, la composition, la transformation, la distribution et l'utilisation finale;
- La conception, la mise en place, le suivi et la révision de systèmes de contrôle efficaces.

1.3.4. Milieu (Locaux, ventilation, poussières, insectes, visiteurs)

Établir des systèmes efficaces pour:

- Assurer un entretien et un nettoyage adéquats et appropriés;
- Lutter contre les ravageurs;
- Traiter les déchets;
- Surveiller l'efficacité des méthodes d'entretien et d'assainissement

1.3.5. Main d'œuvre

Faire en sorte que les personnes qui sont en contact direct ou indirect avec les aliments ne risquent pas de les contaminer grâce:

Chapitre V : Prévention des contaminations

- Au maintien d'un degré approprié de propreté corporelle (visite médicale, tenue de travail, lavage des mains);
- A un comportement approprié sur le plan de l'hygiène.

2. Désinfection

2.1. Définitions

Selon le Codex *Alimentarius* :

- **Nettoyage** : élimination des souillures, des résidus d'aliments, de la saleté, de la graisse ou de toute autre matière indésirable.

Il faut toujours nettoyer avant de désinfecter

- **Désinfection** : réduction, au moyen d'agents chimiques ou de méthodes physiques du nombre de micro-organismes présents dans l'environnement, jusqu'à l'obtention d'un niveau ne risquant pas de compromettre la sécurité ou la salubrité des aliments.

2.2. Méthodes de nettoyage et de désinfection

2.2.1. Physique

Brossage ou le flux par turbulence par l'usage des éponges, raclettes mousses, chiffons réutilisables, serpillières.

- **Désinfection physique thermique** est le traitement d'élimination des microorganismes le plus connu et le plus utilisé. La désinfection thermique par vapeur d'eau, est envisageable en agroalimentaire pour les surfaces fermées comme celle nettoyées par les systèmes de nettoyage sur place.

2.2.2. Chimique

a. Détergents

Sont utilisés pour nettoyer les surfaces. Selon les souillures à éliminer, on utilise :

- **Détergents dégraissants alcalins**, qui permettent d'éliminer les souillures d'origine organique (sucre, graisses, protéines) ;
- **Détergents détartrants acides**, qui permettent de dissoudre le tartre.

Quels que soient le détergent utilisé les principaux constituants sont les **tensioactifs**, molécules chimiques formées de deux parties : hydrophile et hydrophobe. Ces tensioactifs ont un **pouvoir mouillant** réduisant la tension superficielle de l'eau, un **pouvoir émulsifiant** qui permet de fragmenter les souillures et un **pouvoir dispersant anti-redéposition** qui permet d'englober les molécules de graisses morcelées et les empêche de se redéposer.

b. Désinfectants

Les désinfectants utilisés dans le domaine alimentaire doivent être conformes aux normes internationales. Ces désinfectants ne sont efficaces que si les concentrations préconisées sur les fiches techniques sont respectées.

Les substances désinfectantes utilisées dans le domaine alimentaire sont : le chlore et les dérivés chlorés (Eau de Javel), les aldéhydes, les composés d'Ammoniums quaternaires et les dérivés phénoliques.

2.2.3. Mode d'action

La plupart des désinfectants agissent sur les structures vitales des microorganismes, en particulier sur la membrane cytoplasmique. Rappelons que cette formation assure des fonctions essentielles à la vie des bactéries : production d'énergie, transport actif de nutriments. D'autres structures peuvent être affectées par l'action des propriétés détergentes qui provoquent des changements importants dans l'ultrastructure de la membrane cytoplasmique, celle-ci devenant incapable d'assurer ses fonctions (rappelons qu'elle est riche en lipides qui sont la cible des détergents).

2.3. Plan de nettoyage et de désinfection

Le plan peut comprendre les indications suivantes :

Quoi ? Que nettoie-t-on ?

Équipement et matériel devant être nettoyés et désinfectés.

Quand ? À quel moment ?

Fréquence et moments de la journée auxquels des opérations de nettoyage et de désinfection sont effectués.

Comment ?

Outils et méthodes, dilution, température d'utilisation, temps d'application du produit et nécessité d'un rinçage éventuel.

Qui est responsable ?

Responsable des opérations de nettoyage et de désinfection pour chaque secteur.

3. Filtration de l'air pour la maîtrise de la qualité dans les industries agroalimentaires

3.1. Définition

La filtration est une opération dont le but est de séparer une phase continue (liquide ou gazeuse) des matières solides ou liquides (phase dispersée) qui y sont présentes en suspension à travers un milieu poreux.

3.2. Principe

La filtration consiste dans le passage de la suspension ou le gaz à travers un milieu filtrant adéquat capable de retenir les particules solides et laisse passer le liquide ou l'air. Le milieu filtrant est constitué par des particules solides, elles-mêmes déposées sur un support (filtre).

3.3. Maîtrise de la qualité

La filtration de l'air est l'un des principaux facteurs dans le contrôle de la concentration de particules atmosphériques dans les industries. Une large gamme de filtres et de schémas de classification ont été développés et beaucoup de ceux qui sont pertinents pour l'industrie alimentaire à haute consommation sont décrits dans un document d'orientation produit par Campden & Chorleywood, (1996). Généralement, les systèmes de traitement de l'air pour certains secteurs de soins importants seraient équipés de filtres F9, de zones de soins importants et de zones à haut risque avec des filtres H11, alors que les salles blanches utiliseraient H13 ou même des niveaux de filtration plus élevés. Les filtres F9 éliminent presque toutes les particules de 1 μm de diamètre et plus, les filtres H11 éliminent les particules de 0,5 μm et plus, et les filtres H13 éliminent presque toutes les particules au-dessus de 0,3 μm .

4. Maîtrise de la contamination microbienne aéroportée des aliments

4.1. Définition

La microflore aéroportée consiste en des particules dispersées dans l'air. Les particules peuvent être des gouttelettes liquides ou des particules solides ou inclure les deux types de matière. Dans l'industrie alimentaire cette microflore peut entrer dans les zones de production à travers de nombreux itinéraires, y compris les portes, les écoutilles, les drains et toute autre ouverture qui relie les zones de production. La microflore peut provenir de nombreuses sources, y compris les matières premières, les personnes, les emballages et les équipements en mouvement ou en rotation.

4.2. Facteurs affectant la contamination

Le risque de contamination alimentaire dépend de beaucoup facteurs incluant :

- La taille et la vitesse des particules ;
- Nombre des particules qui incluent les microorganismes;
- la direction du flux d'air et le temps d'exposition et la surface des aliments.

Ces facteurs sont importants car ils contrôlent la distance parcourue, le temps de vol et la répartition spatiale de la concentration des microorganismes.

4.3. Maîtrise de la contamination

La meilleure approche pour réduire la contamination par voie aérienne est de restreindre la génération d'aérosols. Une fois que les particules sont en suspension dans l'air, il est difficile de contrôler les mouvements de chaque particule car différents mécanismes tels que l'advection (mouvement de l'air), la dispersion turbulente, la gravité et la convection thermique affectent les mouvements des particules. Cependant, la spécification correcte et la mise en œuvre de l'équipement de traitement de l'air (filtration) peuvent garantir que la majorité des particules en suspension dans l'air ne contaminent pas les aliments exposés. De tels systèmes reposent sur trois approches:

- Utilisation de taux d'échange d'air et de filtration suffisants pour éliminer les particules de l'air;
- Fournir de l'air suffisant pour maintenir une pression positive dans la zone de production élevée et restreindre l'écoulement d'air dans les zones de production faible;
- S'assurer que les flux d'air ne créent pas de régions à basse pression près des portes, des trappes et d'autres ouvertures qui peuvent entraîner une contamination entrant dans les zones peu fréquentées.

5. HACCP = un outil pour l'assurance de la sécurité des aliments

5.1. Définition

HACCP est l'abréviation anglaise de «Hazard Analysis Critical Control Points», c'est-à-dire l'«Analyse des risques – points critiques pour leur maîtrise». Selon le Codex *Alimentarius*, il s'agit d'une méthode servant à identifier, à évaluer et à contrôler les dangers qui menacent la salubrité des produits alimentaires. Reposant sur des bases scientifiques et cohérentes, le système HACCP permet d'évaluer les dangers et de mettre en place des systèmes de maîtrise axés d'avantage sur la prévention que sur l'analyse du produit fini. Cette méthode n'a pas pour seul avantage d'améliorer la sécurité des aliments: grâce aux moyens de

Chapitre V : Prévention des contaminations

documentation et de maîtrise qu'elle propose, elle permet aussi de démontrer une certaine compétence aux consommateurs et de satisfaire les exigences législatives des autorités.

La démarche HACCP s'insère généralement dans une démarche contrôle qualité – certification :

Contrôle de la qualité vérification de la conformité à des données préétablies, suivie d'un jugement.

- **Assurance de la qualité** mise en œuvre d'un ensemble approprié de dispositions préétablies et systématiques destinées à satisfaire à l'obtention de la qualité requise.

5.2. Historique

Le système HACCP est né à la fin des années 60 par la société Pillsbury, l'armée américaine et la NASA qui ont collaboré à la mise au point d'un système de production d'aliment salubres pour le programme spatial. Le but de la NASA était de créer un système permettant l'élimination total des défauts pour la garantie de ses astronautes.

C'est en 1971 au cours d'une conférence sur la protection des aliments, que la société Pillsbury présente la méthode HACCP et ses principes et depuis cette démarche fut le tour du monde.

Le HACCP est actuellement recommandé par le *Codex Alimentarius* comme le meilleur outil pour la maîtrise de la sécurité alimentaire.

5.3. Objectifs

S'appuyant sur la compétence technique des professionnels et sur leurs responsabilités, la méthode HACCP fixe les objectifs suivants :

- La sécurité du consommateur ;
- La loyauté des transactions commerciales ;
- L'information du consommateur.

5.4. Mise en place du système HACCP

- le système HACCP est spécifique à chaque entreprise ;
- Chaque cas constitue une étude particulière ;
- La mise en œuvre du HACCP est une démarche interne à une entreprise ;
- Toute étude HACCP est originale et valable uniquement dans les conditions spécifiques de l'entreprise et il évolue en formations rencontrées.

5.5. Champs d'application

Le système s'applique aux niveaux :

- Des établissements de distribution alimentaire ;
- Des aliments et préparations alimentaires destinés à la consommation humaine ;
- Des établissements de restauration collective ;
- Des établissements d'entreposage de certaines denrées alimentaires ;
- Du transport des aliments ;
- De la restauration, la distribution, la logistique et la chaîne du froid.

5.6. Les 7 principes du système HACCP

- ✓ **Principe 1:** Procéder à une analyse des dangers ;

Identifier les dangers associés à une production alimentaire, évaluer la probabilité d'apparition de ces dangers et identifier les mesures de maîtrise nécessaires.

Un risque est un point où le niveau acceptable de contamination tend à être dépassé.

- ✓ **Principe 2:** Déterminer les points critiques pour la maîtrise des dangers (CCP) ;

Les points critiques (CCP) sont les points sur lesquels on peut agir pour maîtriser le risque. Un point critique est un point équipé d'un procédé qui permet de faire évoluer le risque de façon définie et évaluable pour qu'il atteigne un niveau acceptable. Chaque point critique est donc déterminé pour un contaminant donné (biologique, chimique ou physique) en fonction de sa nature, de sa fréquence de la gravité et de la fréquence des affections qu'il entraîne chez le consommateur.

- ✓ **Principe 3:** Fixer le ou les seuils critiques ;

Etablir les limites critiques dont le respect atteste de la maîtrise effective des CCP.

- ✓ **Principe 4:** Etablir un système de surveillance permettant de maîtriser les CCP ;
- ✓ **Principe 5:** Déterminer une ou des mesures correctives

Etablir des actions correctives à mettre en œuvre lorsque la surveillance révèle qu'un CCP n'est plus maîtrisé.

- ✓ **Principe 6:** Appliquer des procédures de vérification

Etablir des procédures spécifiques pour la vérification, destinée à confirmer que le système fonctionne efficacement.

- ✓ **Principe 7:** Etablir des registres et les conserver

Etablir un système documentaire (procédures et enregistrements) approprié couvrant l'application des 6 principes précédents.

5.7. Création d'un plan HACCP

L'application du système HACCP comporte 14 étapes :

5.7.1. Définir le champ d'étude

Il est très important de donner l'application de l'étude pour éviter de « s'éparpiller » lors de l'analyse des dangers.

5.7.2. Construire l'équipe HACCP

Le système HACCP est une méthode qui peut être utilisée de façon autonome dans l'entreprise. Une équipe formée et motivée est l'élément clé de la réussite : équipe pluridisciplinaire, organisation fonctionnelle, animation par un spécialiste de HACCP.

5.7.3. Décrire le produit

Rassembler toutes les informations qui caractérisent le produit ou la famille de produits. La description du produit doit être la plus complète possible.

5.7.4. Identifier l'utilisation prévue du produit

- Formaliser les modalités de stockage, transport et distribution ;
- Etablir la date limite de consommation ou la date limite d'utilisation optimale ;
- Identifier les conditions d'utilisation et les consommateurs ciblés.

5.7.5. Construire un diagramme de fabrication

Le diagramme de fabrication est un document qui regroupe toutes les étapes élémentaires du processus de fabrication dans l'ordre où elles ont lieu.

Cette étape suppose seulement de suivre le processus de fabrication depuis les ou les matières premières au travers des différentes opérations jusqu'à l'utilisation plausible du produit par le consommateur.

Le diagramme de fabrication est la base de l'analyse des dangers et doit donc contenir le maximum de détails techniques pour avoir une étude approfondie.

5.7.6. Vérifier sur site le diagramme de fabrication

- Vérifier l'exactitude des informations recueillies au niveau de la fabrication en action ;
- Corriger les éventuelles erreurs ou dérives ;

Chapitre V : Prévention des contaminations

- Modifier le diagramme de fabrication si nécessaire.

Il est très important de vérifier la bonne concordance entre l'écrit et le réalisé dans le cas où l'analyse des dangers est basée sur ce diagramme.

5.7.7. Conduire à une analyse des dangers

Trois parties importantes :

➤ Identification des dangers pour chaque étape :

a. Dangers biologiques: agents pathogènes tels que *Salmonella*, *Listeria* et *E. coli*, ou encore virus, algues, parasites et champignons.

b. Dangers chimiques : On trouve trois grands types de toxines chimiques dans les aliments: les produits chimiques présents à l'état naturel tels que les cyanides dans certaines plantes ou racines; les toxines produites par des micro-organismes telles que les mycotoxines ou par des algues; et les produits chimiques ajoutés par l'homme au produit pour lutter contre un problème connu, par exemple les fongicides ou les insecticides.

c. Dangers physiques: contaminants tels que bris de verre, fragments de métal, insectes ou pierres.

➤ Analyser les risques

➤ Déterminer les mesures préventives

5.7.8. Déterminer les points critiques

Le but de l'identification des CCP est de définir pour ces points particulièrement déterminants, en compléments des mesures préventives, des mesures de surveillance particulières. Les CCP sont spécifiques d'une opération, d'un procédé ou d'un produit. Un CCP doit permettre la maîtrise d'un danger ; si tel n'est pas le cas, ce n'est pas un CCP.

L'arbre de décision est une aide pour la détermination des CCP. L'arbre de décision relatif à la détermination des CCP pose les questions concernant chaque danger à chaque étape du processus.

5.7.9. Etablir les seuils critiques pour les CCP

Une fois les CCP établis dans le process, on détermine comment on va pouvoir les maîtriser c'est-à-dire trouver les valeurs permettant de s'assurer de leur maîtrise. Un produit sera sain si ses CCP sont gérés conformément à leurs limites critiques spécifiques.

Parmi les critères choisis, il faut citer la température, la durée, la teneur en humidité, le pH, le pourcentage d'eau libre et le chlore disponible, ainsi que des paramètres organoleptiques comme l'aspect à l'œil nu et la consistance.

5.7.10. Mettre en place un système de surveillance pour chaque CCP

La surveillance est une observation programmée qui permet de détecter les pertes de maîtrise du CCP : surveillance en continu à 100% de la production et surveillance discontinue qui doit définir une fréquence.

Pour chaque CCP, il faut décrire les moyens et les méthodes pour réaliser les observations et les mesures qui permettent de s'assurer que les limites critiques ne sont pas dépassées et que le produit en toute sécurité régulièrement.

5.7.11. Etablir un plan de mesures correctives

Définir les mesures correctives immédiatement après défaillance ou absence de maîtrise d'un CCP.

Une mesure corrective est engagée quand les résultats du système de surveillance indiquent une perte de maîtrise des CCP. Ces mesures correctives doivent être formalisées dans des documents spécifiques.

5.7.12. Etablir la documentation

Le système documenté regroupe deux types: les documents et les enregistrements. L'ensemble documentaire doit suivre 3 grands principes pour être valable :

- Le bon document au bon endroit ;
- Le document utilisé doit être à jour ;
- Seuls les documents en vigueur doivent être utilisés.

-Exemples de dossiers

- Analyse des dangers ;
- Détermination du CCP ;
- Détermination du seuil critique.

-Exemples de registres

- Activités de surveillance des CCP ;
- Écarts et mesures correctives associées ;
- Exécution des procédures de vérification ;
- Modifications apportées au système HACCP.

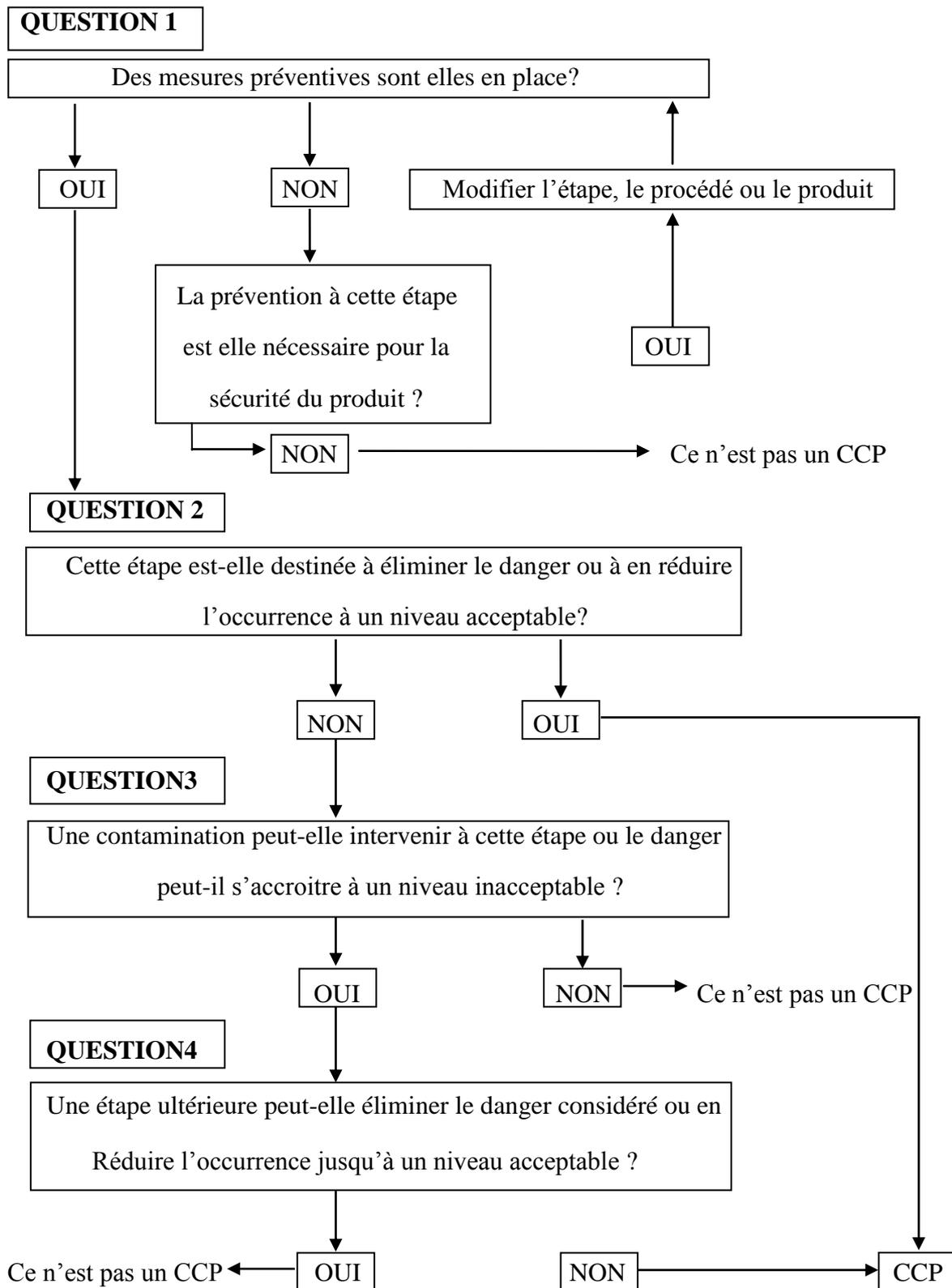


Figure 04 : Arbre de décision pour déterminer les CCP (Terfaya, 2004).

5.7.13. Appliquer des procédures de vérification

L'objectif de cette étape est de vérifier que le système HACCP est conforme et efficace. Deux questions principales sont posées :

- Est-ce que ce qui est conforme à ce qui est écrit (vérification de la conformité) ;
- Est-ce que ce qui est appliqué est efficace (vérification de l'efficacité).

5.7.14. Revoir le système

Tout nouveau produit, tout changement dans la composition d'un produit ou toute modification dans les étapes d'une production doivent entraîner une nouvelle démarche ou une révision de l'étude HACCP.

1. Elimination des microorganismes

1.1. Pasteurisation et stérilisation thermique

Les traitements de chaleur tels que la pasteurisation et la stérilisation ont pour but de chauffer le produit alimentaire afin de détruire les microorganismes, d'inactiver les enzymes et de détruire les insectes et les parasites. En général, plus la température et la durée des traitements de chaleur sont élevés, plus la destruction des microorganismes et l'inactivation des enzymes sont sévères.

1.1.1. Destruction de microorganismes par la chaleur

L'effet d'un traitement thermique est lié au couple temps/température. De manière générale, plus la température est élevée et plus la durée est longue, plus l'effet sera important. Cependant, il faut aussi tenir compte de la résistance thermique des micro-organismes et des enzymes et qui est très variable.

a. Facteurs influençant la destruction

Plusieurs facteurs peuvent intervenir :

- **Sensibilité des microorganismes à la chaleur:** on distingue la flore (Thermosensible) qui est détruite à partir de 60 °C, c'est la forme végétative des microorganismes (bactéries, levures, moisissures). Puis la flore (Thermorésistante) qui nécessite une température plus élevée (Microcoques, Streptocoques lactiques et les spores) ;
- **Composition de l'aliment:** une A_w faible diminue la sensibilité des microorganismes. Donc un produit plus humide est plus facile à stériliser qu'un produit en partie déshydraté.
- **pH:** un pH bas augmente la sensibilité des microorganismes ;
- **Nature biochimique de l'aliment:** problème de conduction. Les lipides conduisent moins bien la chaleur que l'eau d'où une meilleure résistance des microorganismes dans les produits gras ;
- **Durée du traitement :** barème (couple Température-Temps).

b. Cinétique de destruction

b.1. Première loi de destruction des microorganismes

La destruction de microorganismes soumis à une température constante est classiquement décrite par une réaction unimoléculaire régie par une cinétique du premier ordre. L'évolution de la population survivante N , c'est-à-dire susceptible de se revivifier et de

se reproduire, en fonction de la durée du traitement t (min ou s) à la température T et de la population initiale N_0 s'exprime pratiquement sous la forme suivante :

$$N = N_0 \cdot 10^{\frac{t}{D_T}}$$

Où D_T est le temps de réduction décimale à la température T (min ou s, mais même unité que t).

b.2. Deuxième loi de destruction des micro-organismes

Le **temps de réduction décimale** D_T à la température T est le temps nécessaire pour réduire d'un facteur 10 (de 90 %) le nombre de microorganismes lors d'un traitement à la température T . Ce temps de réduction décimale dépend principalement du type de microorganisme, mais également du milieu dans lequel il se trouve (pH, présence de certains ions, matières grasses, A_w ,...).

$$D_T = D_0 \cdot 10^{\frac{T - T_0}{z}}$$

Où D_0 est le temps de réduction décimale à la température T_0 .

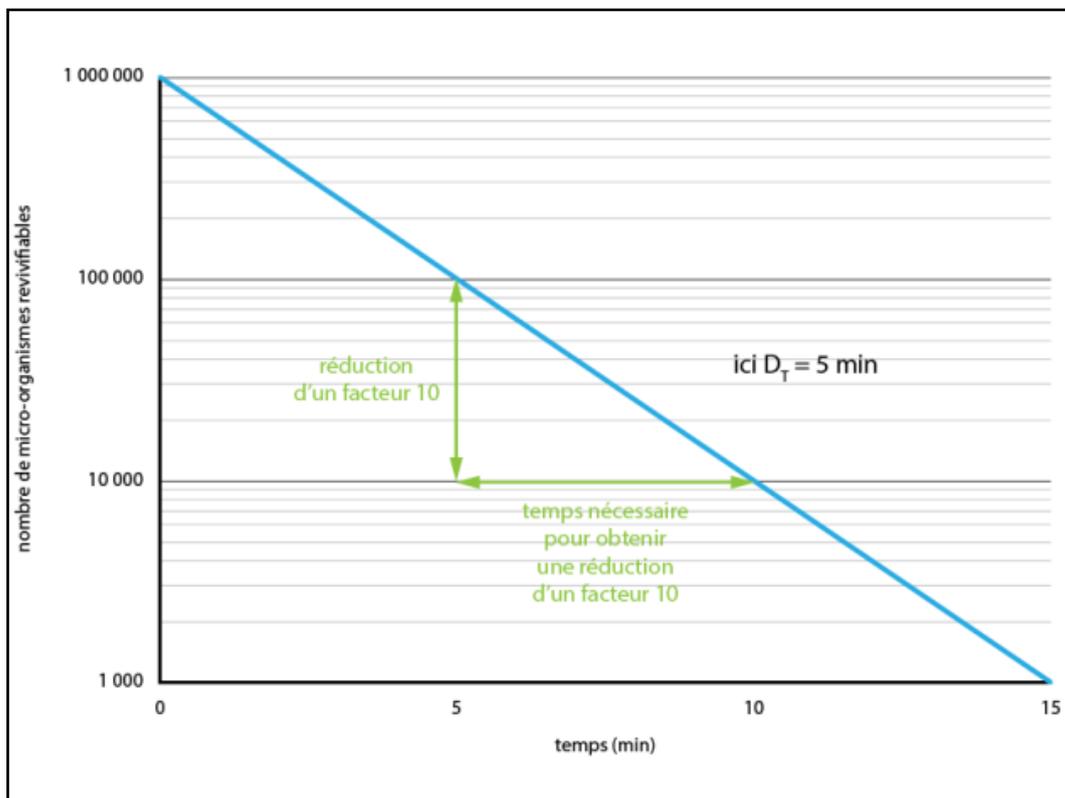


Figure 05 : Exemple de cinétique de destruction thermique (<http://tech-alim.univ-lille1.fr/>).

On introduit le paramètre z la **valeur d'inactivation thermique** caractérisant la thermorésistance du micro-organisme considéré. C'est l'élévation de température du traitement conduisant à réduire de 90 % (d'un facteur 10) la durée de celui-ci. Plus la valeur de z est élevée, plus la thermorésistance est forte. En thermobactériologie ($60\text{ °C} > T < 150\text{ °C}$), on considèrera que la valeur de z est pratiquement indépendante de la température. Elle varie, en fonction des aliments, de 8 à 13 °C pour *Clostridium botulinum* et de 9 à 13°C pour *Bacillus stearotherophilus*.

b.3. Valeur stérilisante

La destruction thermique est fonction de la température du traitement et du temps d'application de ce traitement. Une même réduction peut être obtenue par une infinité de combinaison temps-température. Pour caractériser un traitement donné, une température de référence a été choisie $T = 121,1\text{°C}$ (250°F) à partir de laquelle il suffit de traduire le temps t_T passé à la température T en un temps $F_{121,1}$ passé à la température de 121,1°C qui donnera la même réduction :

$$\log \frac{N}{N_0} = - \frac{t_T}{D_T} - \frac{F_{121,1}}{D_{121,1}}$$

$$F_{121,1}^z = \frac{D_{121,1}}{D_T} \cdot t_T = t_T \cdot 10^{\frac{T-121,1}{z}}$$

$F_{121,1}$ est appelée **valeur stérilisatrice (VS)** du traitement thermique à la température de référence 121,1°C pour une population de micro-organismes ayant un z de 10 °C. Pour les 3 traitements que nous avons considérés, la destruction thermique est la même. On l'exprime sous la forme :

$$\frac{N}{N_0} = 10^{-n}$$

Où n le nombre de réduction décimale ou taux de destruction du traitement.

1.1.2. Stérilisation

a. Définition

La stérilisation par la chaleur consiste à exposer les aliments à une température, généralement supérieure à 100 °C, pendant une durée suffisante pour inhiber les enzymes et toute forme de microorganismes, même les bactéries sporulées (Destruction des

Chapitre VI : Techniques de conservation des aliments

microorganismes d'une denrée de manière à éviter la dégradation de ses qualités sanitaires avec le temps).

Le procédé tient son nom du français **Nicolas Appert (1750-1841)** (Appertisation), confiseur-traiteur de métier, qui, après 14 ans d'expérimentations commencées en 1795, a décrit la méthode de préservation des aliments qui consiste à les enfermer dans un récipient hermétique et à les traiter par la chaleur dans l'eau bouillante. Il faut attendre les travaux de **Louis Pasteur (1822-1895)** sur la stérilisation par chauffage des milieux nutritifs puis sur la bière et le vin pour que soit montrée l'existence de la destruction par la chaleur des microorganismes (1860). Pasteur met au point un procédé de chauffage de quelques minutes entre 55 et 60 °C en absence d'air que l'on appelle aujourd'hui pasteurisation.

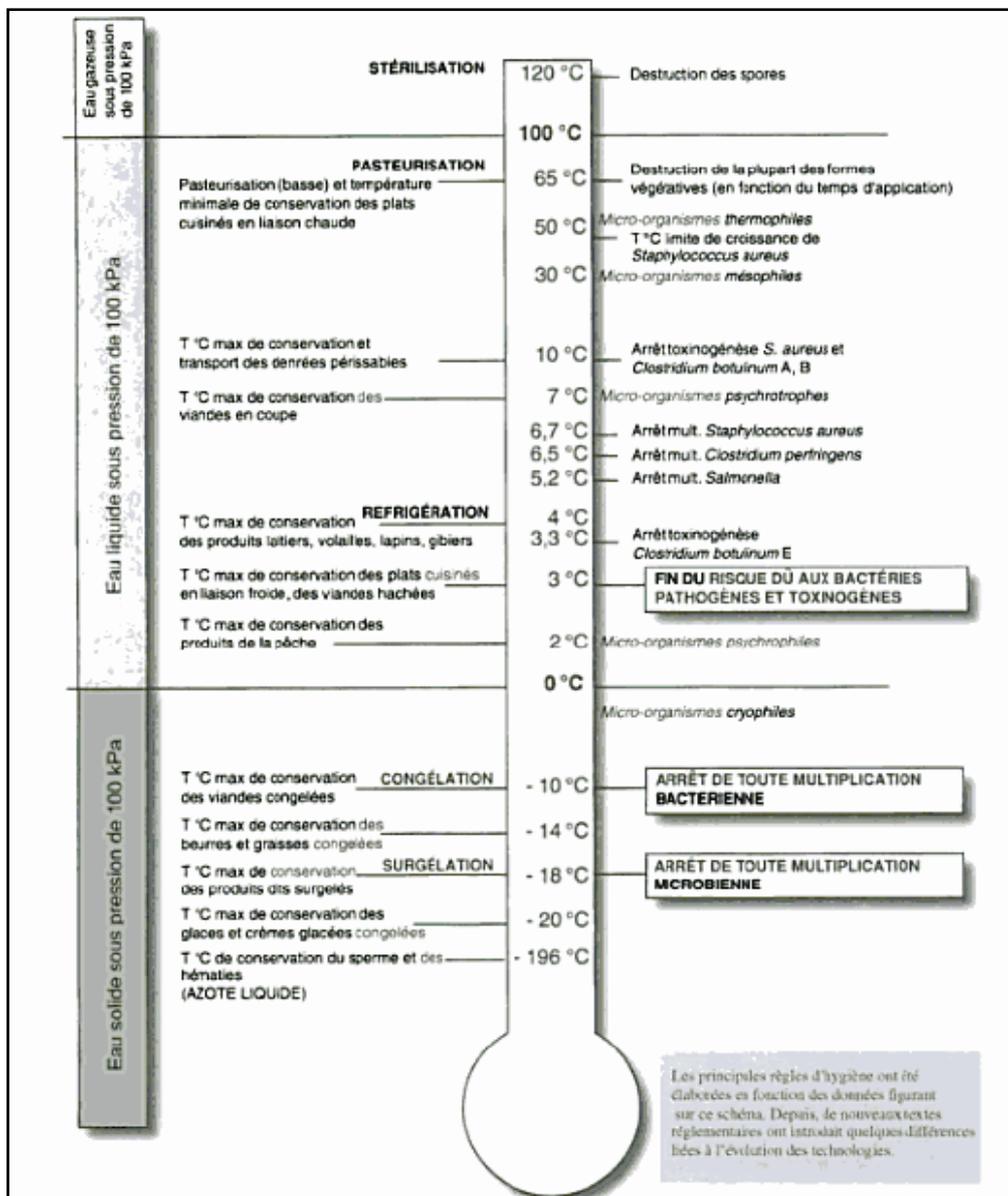


Figure 06 : Action de la température sur les microorganismes.

b. Types de stérilisation

La **stérilisation** d'un aliment ne suffit pas, à elle seule, pour sa conservation à long terme. Une contamination ultérieure de l'aliment par les microorganismes environnementaux pourrait survenir. Pour en remédier, on procède à la stérilisation du contenant (récipient) et du contenu (le produit alimentaire) ; le récipient doit être étanche à l'eau et aux microorganismes pour ne pas avoir une recontamination ultérieure à la stérilisation.

La stérilisation de l'aliment et de son contenant peut être réalisée de deux façons : La première consiste à une stérilisation simultanée du contenant et du contenu (**appertisation**), alors que la deuxième consiste à une stérilisation séparée du contenant et du contenu suivie d'un **conditionnement aseptique**.

- **Appertisation : Stérilisation simultanée du contenant et du contenu**

Appelée aussi **Pasteurisation dans l'emballage**, L'appertisation est un procédé de conservation qui consiste à stériliser par la chaleur des denrées périssables dans des contenants (boîtes métalliques, bocaux, etc.) hermétiquement fermés. Sa découverte remonte aux années 1790. Nicolas Appert était le premier qui a mis au point ce procédé de stérilisation par la chaleur dans un récipient hermétiquement clos.

L'appertisation est largement utilisée aujourd'hui pour la conservation à long terme des denrées alimentaires d'origine animale ou végétale. La durée de conservation des aliments appertisés est de plusieurs mois à quelques années.

- **Stérilisation séparée du contenant et du contenu**

Appelée aussi Pasteurisation en vrac, Dans ce cas, le produit alimentaire (le contenu) est stérilisé, par traitement thermique, avant d'être renfermé dans son contenant. Ce dernier est aussi stérilisé, soit par la chaleur, soit par d'autres procédés (par ultra-violet par exemple), mais avant de contenir le produit. Ensuite, le contenu stérilisé est fermé hermétiquement dans son emballage (contenant), aussi stérilisé. L'opération de conditionnement se déroule dans une enceinte qui empêche la contamination du produit par les microorganismes de l'environnement : C'est le conditionnement aseptique. Cette technique est utilisée généralement pour la conservation des produits liquides (lait, jus, etc.) dans des emballages qui ne peuvent supporter l'appertisation comme les sachets en plastique et les cartons.

NB : Lorsque la stérilisation du produit est réalisée à haute température (135 °C à 150 °C) pendant une courte durée (15 sec. à 1 sec.), on parle de stérilisation UHT (Ultra Haute Température). Cette technique a l'avantage de préserver la qualité organoleptique et

nutritionnelle du produit stérilisé. Cependant, elle ne peut être utilisée que dans le cas des produits liquides comme le lait.

1.1.3. Pasteurisation

La pasteurisation est un traitement thermique modéré qui se fait à une température inférieure à 100 °C et détruit de manière plus ou moins totale des éléments microbiens sous leur forme végétative, sous réserve que la conservation des produits pasteurisés se fasse à 4 °C, leur durée de vie est en fonction de la valeur pasteurisatrice appliquée.

➤ Valeur pasteurisatrice

Soit T_0 la température d'essai,

D_{T_0} le temps de réduction décimale, nécessaire pour diviser par 10 le nombre de microorganismes,

z l'intervalle de température pour lequel les valeurs de D sont dans un rapport de 1 à 10. Le taux de destruction est le nombre de divisions décimales que l'on désire obtenir à la suite d'un traitement thermique. Le temps nécessaire pour obtenir un taux de destruction n à la température T_0 est la valeur pasteurisatrice minimale à obtenir à la fin du traitement :

$$t = n \cdot D_{T_0}$$

➤ Indications de pasteurisation

La pasteurisation est indiquée dans les cas suivants :

- Lorsque le pH du milieu est inférieur à 4,5. En milieu acide, les spores de *Bacillacea* ne peuvent pas germer et la destruction des formes végétatives des microorganismes suffit pour assurer la sécurité du produit ;
- Dans tous les cas où un traitement thermique important entraîne une perte des propriétés organoleptiques des aliments ;
- Lorsque l'objectif peut être limité à la destruction des espèces pathogènes potentiellement contaminantes ;
- A l'occasion de la préparation d'aliments fermentés.

➤ Procédés de pasteurisation

Plusieurs procédés de pasteurisation existent, parmi lesquels :

- **Pasteurisation basse** où le produit est maintenu au moins trente minutes à 60-65 °C dans une enceinte à double paroi dans laquelle se trouve de l'eau chaude. Ce procédé a été

abandonné pour le lait et encore utilisé pour les charcuteries, les corps gras, la bière et les jus de fruits ;

- **Pasteurisation rapide à haute température** consiste à chauffer l'aliment à un temps très court, de 15 secondes à 2 minutes, à une température élevée (70 à 90 °C). Le produit est entre des plaques d'acier inoxydable chauffées par un circuit d'eau chaude. L'industrie laitière recourt à ce procédé pour préparer de lait pasteurisé, aussi utilisé pour les purées de légumes, des potages. C'est une alternative à la pasteurisation basse pour tous les produits concernés par ce type de traitement.

Un aliment pasteurisé doit être conditionné dans un emballage étanche et conservé au froid (+ 4 °C).

Tableau 10: Barèmes de pasteurisation (Leyral & Vierling, 2007).

Denrée	Température et temps nécessaires
Lait	30 min à 62 °C ou 15 s à 72 °C
Crèmes/Crèmes dessert	30 min à 71 °C ou 16 s à 20 s à 82 °C
Jus de pommes en bouteilles	30 min à 77 °C
Boissons gazeuses à base de jus de fruits	30 min à 66 °C
Bière	1 à 2 min à 82-88 °C

1.2. Filtration stérilisante

Elle est appelée **stérilisation à froid**. Il est possible de réaliser des filtrations stérilisantes en utilisant des supports poreux organiques (dérivés de la cellulose, polyamide, téflon, etc.) ou minéraux (filtres d'amiantes, d'alumine, de porcelaine, de verre fritté, amiante, etc.) au niveau desquels la taille des "pores" est parfaitement contrôlée et de dimension inférieure à celle de la plupart des microorganismes à retenir (Diamètre $\leq 0,5 \mu\text{m}$). Le plus ancien filtre est le filtre Chamberland ou la bougie filtrante qui utilise les propriétés de la porcelaine non vernissée. Actuellement, on a recours soit aux filtres de verre fritté, soit aux filtres de diatomées (filtres Berkefeld), soit enfin aux membranes filtrantes d'acétate de cellulose.

Ces méthodes restent néanmoins limitées aux liquides peu chargés en matières organiques en suspension (boissons type bière, vin et certains jus de fruits). Elles présentent l'avantage de ne pas modifier les qualités organoleptiques sauf dans quelques cas où des rétentions de composés d'arômes sur le support se produisent.

1.3. Traitements ionisants

Le rayonnement solaire ou, plus précisément les radiations ultraviolettes sont de précieux agents naturels de stérilisation. Les principaux types de radiations sont électromagnétiques, électroniques et soniques.

1.3.1. Radiations électromagnétiques

Elles sont caractérisées par leur longueur d'onde. Leur action sur les microorganismes revêt un double intérêt : la conservation des aliments (stérilisation) et la connaissance de leur mode d'action sur les bactéries peut être transposée à celui qu'on observe sur les cellules humaines. Les longueurs d'onde de radiations électromagnétiques sont indiquées ci-après :

- **Infrarouge (> 800 nm), visible (400 à 800 nm), Ultraviolets (\leq 400 nm) :** sont aussi les moins efficaces puisque leur longueur d'onde est grande. Les rayons UV sont les plus utilisés malgré leur faible rendement. La région la plus active de leur spectre d'émission est située entre 260 et 270 nm. Leur pénétration est arrêtée par la moindre particule de matière en suspension.

- **Rayons X et γ** qui libèrent une énergie plus importante et qui pénètrent aussi plus profondément dans la matière. Ces rayonnements agissent essentiellement au niveau de l'ADN.

Industriellement, on distingue :

- **Radappertisation :** dose d'irradiation comprises entre 20 et 50 kGy (kilo Gray) ;

- **Radication :** dose appliquée suffisante pour éliminer les bactéries pathogènes et la flore d'altération à l'exception des bactéries sporulées. Les doses employées sont inférieures à 10 kGy ;

- **Radurisation :** doses en général comprises entre 1 et 5 kGy. Ce traitement peut s'appliquer aux denrées emballées.

1.3.2. Radiations électroniques

Une émission continue d'électrons lancés à grande vitesse à un pouvoir de stérilisation identique à celui des rayons. Les électrons peuvent être dirigés à volonté sur le point que l'on désire atteindre mais leur pouvoir de pénétration est nettement plus faible que celui des rayons γ . Leur principal défaut est surtout l'altération des substances organiques soumises à leur action.

1.3.3. Radiations soniques

Jusqu'à présent, ces radiations n'ont pas fait l'objet d'applications pratiques. Les ultrasons ont le pouvoir de tuer les microorganismes en suspension dans un liquide en libérant leur contenu endocellulaire.

Le domaine d'application comprend un vaste champ :

- Conservation des grains, des fruits et légumes secs (0,4 à 1 kGy) ;
- Allongement de la durée de conservation des fruits et légumes frais (faibles doses) ;
- Conservation et meilleure hygiène des viandes et poissons ;
- Le traitement par les rayonnements ionisants peut être couplé avec d'autres procédés de conservation (exp. Dans le cas des produits de charcuterie, il permet de diminuer la quantité de nitrates ajoutée à l'aliment).

2. Stabilisation des aliments par inhibition de la croissance de la microflore

2.1. Réfrigération et congélation

2.1.1. Réfrigération

- Elle consiste à abaisser la température d'un aliment à des valeurs légèrement supérieures à son point de congélation. L'intérêt de la réfrigération consiste à inhiber le développement des germes mésophiles, dont la plupart des microorganismes pathogènes. Elle n'est donc efficace qu'à une température comprise entre 0 et +4 °C.
- La réfrigération n'empêche pas le développement de certaines espèces psychrotrophes ou cryophiles ; la croissance de ces populations est d'autant plus rapide que l'on s'éloigne de 0 °C dans le sens des températures croissantes. Un aliment réfrigéré dans de bonnes conditions (0 à 1 °C) peut être lentement altéré en surface par la flore psychrotrophe ou cryophile aérobie : *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*.

La conservation prolongée d'une denrée alimentaire et sa sécurité vis-à-vis des microorganismes pathogènes impliquent :

- Une réfrigération à la température la plus basse possible ;
- Une réfrigération continue : la chaîne du froid ne doit pas être interrompue ;
- C'est une méthode souvent associée à d'autres procédés de stabilisation des aliments dont les effets sont plus ou moins limités dans le temps : pasteurisation, addition d'un conservateur... etc.

La réfrigération est utilisée pour la conservation des aliments périssables à court et moyen terme. La durée de conservation va de quelques jours à plusieurs semaines suivant le produit, la température, l'humidité relative et le type de conditionnement.

2.1.2. Congélation

La congélation consiste à entreposer les aliments à des températures inférieures au point de congélation, généralement -18°C . Elle est utilisée pour la conservation des aliments à long terme (4 à 24 mois).

Pendant la congélation, l'activité métabolique de la plupart des germes pathogènes et d'altération est inhibée. Cependant, les réactions d'altération chimique ne sont pas arrêtées complètement. Les plus importantes de ces réactions sont l'oxydation enzymatique des lipides, l'hydrolyse des glucides et la lipolyse. Pour en remédier, les industriels procèdent généralement à un blanchiment des produits (cas des légumes surgelées) avant leur congélation.

➤ Cinétique de congélation

Elle est caractérisée par trois phases. Pendant la première phase, la vitesse de congélation du produit diminue rapidement puis se stabilise pendant un certain temps, qui correspond à la deuxième phase, à un niveau équivalent à celui de la formation de la glace. Ensuite, la température reprend sa descente jusqu'à atteindre la température finale désirée ; c'est la troisième phase.

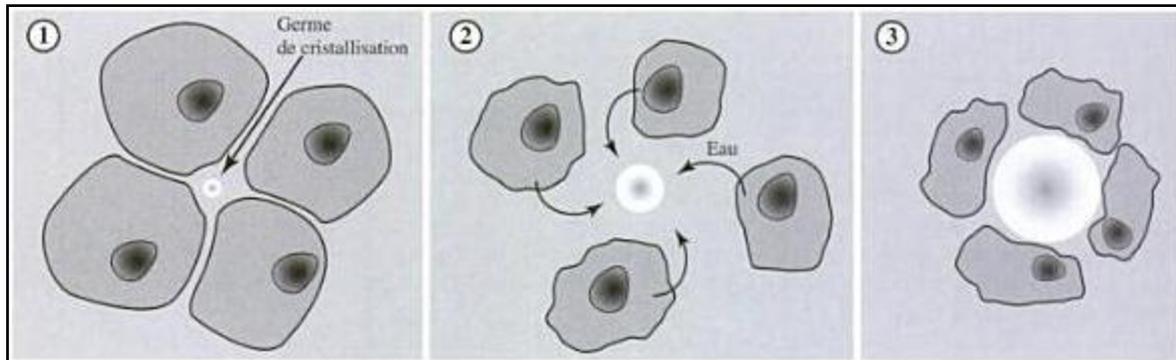


Figure 07: Evolution d'un tissu au cours d'une congélation lente.

• Procédés de congélation

- **Tunnels de congélation** : la vitesse de congélation peut être sensiblement augmentée et atteindre 3 cm/heure dans des tunnels où circule un air refroidi (-20°C à -45°C) avec une vitesse pouvant atteindre 50 km/heure ;
- **Congélation par contact indirect avec un fluide réfrigérant** : l'aliment est immergé dans un bain liquide, lui-même en contact indirect, au moyen de tubulures, avec un fluide réfrigéré comme le fréon. Le bain liquide peut être une solution de chlorure de sodium, de chlorure de calcium ou de propylène glycol ;

- **Utilisation de liquides cryogéniques à bas point d'ébullition** : c'est le cas de l'azote liquide. L'immersion directe de l'aliment dans l'azote liquide provoque l'évaporation de l'azote. La denrée qui doit fournir la chaleur de vaporisation se refroidit donc ;
- **Surgélation** : un produit surgelé est un aliment très frais ayant subi une congélation ultrarapide. Il s'agit donc d'un cas particulier de congélation.

- **Evolution de la flore microbienne de l'aliment au cours de la congélation**

Toutes les espèces microbiennes ne présentent pas la même sensibilité aux basses températures. On peut distinguer, selon ce paramètre, trois groupes :

- **Microorganismes résistants** : spores bactériennes, cellules végétatives des levures et des moisissures ;
- **Microorganismes très sensibles** : Bacilles à Gram - : *Pseudomonas*, Entéobactéries, *Acinetobacter*, *Flavobacterium* et les formes végétatives des Bacilles sporulés ;
- **Microorganismes intermédiaires** : Cocci et Bacilles Gram + non sporulés : Staphylocoques, Microcoques, Streptocoques, *Lactobacillus*, Corynébactéries...etc.

2.2. Conservation sous vide et sous atmosphère modifiée

On peut allonger la durée de conservation d'un produit alimentaire, en particulier d'un produit frais (viande, poisson, légume), en le plaçant dans un emballage et en le conditionnant sous vide ou sous atmosphère modifiée à forte pression partielle en CO₂ (exemple 80 % N₂ et 20 % CO₂).

2.2.1. Conservation sous vide

Un produit alimentaire conditionné sous vide évolue, dans un premier temps, en aérobiose. En effet, le vide n'est jamais assez poussé pour éliminer totalement l'oxygène. Une pression partielle en oxygène équivalent à 1 % de la pression atmosphérique maintient suffisamment d'oxygène pour saturer les enzymes respiratoires.

D'autre part, l'oxygène pénètre à travers le film de l'emballage à une vitesse qui varie en fonction de la perméabilité du film à ce gaz. Le tissu et les microorganismes qui l'habitent consomment de l'oxygène et produisent du CO₂.

On peut envisager trois possibilités d'évolution :

- **L'aliment consomme plus d'oxygène qu'il n'en reçoit et rejette plus de CO₂ qu'il n'en sort de l'emballage** : l'atmosphère devient anaérobie à forte pression partielle en CO₂ ;

- **L'aliment consomme autant d'oxygène qu'il en reçoit** : la pression partielle en oxygène n'évolue pas et reste faible. Par contre, la perméabilité du film au CO₂ est en général moindre que celle à l'oxygène. L'atmosphère s'enrichit donc en CO₂ et en azote ;
- **L'aliment consomme moins d'oxygène qu'il n'en reçoit** : l'atmosphère tend vers une composition voisine de celle de l'air mais plus riche en CO₂.

2.2.2. Conservation et sous atmosphère modifiée

Le plus souvent se fait par réinjection de gaz et sous atmosphère contrôlée. Les proportions généralement choisies sont 80 % de N₂ et 20 % de CO₂.

2.3. Conservateurs chimiques

2.3.1. Définition

Un conservateur est un additif incorporé à un aliment dans le but de ralentir l'évolution de sa flore microbienne. Il s'agit, en général, de composés utilisés à faibles doses afin d'éviter tout risque d'ordre toxicologique. La plupart ne sont, dans ces conditions que des bactériostatiques.

2.3.2. Principaux conservateurs

a. Conservateurs de nature minérale

- **Chlorure de sodium (le sel)**

A des concentrations suffisantes, le chlorure possède des propriétés inhibitrices sur de nombreux microorganismes, en particulier sur les Bacilles Gram-. Seuls les microorganismes halophiles peuvent se développer dans un aliment salé. La salaison est un des procédés de conservation des produits de charcuterie. Ceux-ci sont immergés dans la saumure.

- **Nitrates, nitrites**

Une concentration suffisante en nitrates ou nitrites (de sodium ou de potassium) inhibe le développement de *Clostridium botulinum* et la production de sa toxine. Les cas de botulisme sont devenus rares depuis que l'on a recouru à cet additif. L'action inhibitrice est due aux nitrites. Les nitrates sont actifs du fait de leur réduction en nitrites par des bactéries possédant une nitrate-réductase.

L'emploi de nitrite; est donc généralement couplé à celui du sel dans les salaisons. Il n'est pas sans inconvénients: au cours de la cuisson et, à un degré moindre dans le tube digestif, les nitrites réagissent avec les acides aminés pour former des nitrosamines dont les propriétés cancérogènes sont démontrées.

- **Anhydride sulfureux et les sulfites**

Leur emploi est très répandu en œnologie. Ces composés inhibent de nombreuses bactéries et moisissures, les levures sont plus résistantes. Ils sont employés pour la conservation de diverses préparations à base de jus de fruits, pêches, tomates pelées, concentrés de fruits, noix, fruits secs...etc.

La consommation d'anhydride sulfureux n'est pas sans effets secondaires: les céphalées et les malaises ressentis quelquefois après une absorption exagérée de vin blanc lui sont en général imputés.

b. Conservateurs de nature organique

b.1. Acides organiques

- **Acides organiques saturés**

Les acides organiques exercent un effet inhibiteur sur la croissance des microorganismes:

- Par acidification de l'aliment qui résulte de leur addition et qui est préjudiciable à de nombreux germes. C'est ainsi que l'acide acétique est utilisé pour conserver les oignons, les cornichons, les poissons dans les marinades ;

- Du fait de l'action inhibitrice de leur forme ionisée, c'est le cas de l'acide propionique et de ses sels qui sont utilisés pour allonger la durée de conservation de produits à base de céréales.

- **Acides organiques insaturés**

La présence d'une double liaison accroît l'activité antimicrobienne des acides organiques. Le principal représentant de ce groupe est l'acide sorbique et ses sels de potassium, de sodium ou de calcium. Son action s'étend à un degré moindre aux levures et aux bactéries sporulées dont *C. botulinum*. Il est utilisé pour conserver les corps gras (beurre, margarine, mayonnaise), des jus de fruits, des produits de boulangerie, des pâtisseries.

- **Acide benzoïque et ses dérivés**

Contrairement aux précédents, l'acide benzoïque sous sa forme ionisée (donc en milieu acide) est surtout actif contre les bactéries et les levures, son action inhibitrice sur les moisissures est moins prononcée.

- **Autres acides organiques**

Les propriétés bactériostatiques de l'acide citrique, de l'acide ascorbique, de l'acide tartrique sont utilisées dans de nombreux produits à côté de l'acide lactique pour les produits fermentés.

B.2. Composés à noyau phénolique

Le spectre de leurs propriétés antimicrobienne est très étendu (bactéries, levures, moisissures et même certains virus) mais l'activité de ces molécules est faible.

Leur intérêt réside dans le fait qu'ils potentialisent l'action d'autres conservateurs comme l'acide sorbique et qu'ils sont utilisés également pour leurs propriétés antioxydantes: ce sont donc des additifs à fonctions multiples. Certains sont actifs sur *C. botulinum*, les acides hydrocinnamique sont inhibiteurs des *Pseudomonas*.

Références Bibliographiques

Adams, M.R., Moss, M. (2007). Food microbiology. Royal society of chemistry. 463p.

Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) (2006). Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport synthétique. 80p.

Ait Abdelouahab, N. (2007). Microbiologie Alimentaire (2^{ème} Edition). Office des Publications Universitaires. 147p.

Alimentarius, C. (2003). CAC/RCP 1-1969, Rev. 4. Recommended International Code of Practice General Principles of Food Hygiene, 3.

Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H. (1992). Bactériologie clinique. Ed. Ellipses-Marketing. 511p.

Bibek, R. (2004). Fundamental food microbiology CRC Press. Boca Ration London New York Washington DC. 608p.

Bourgeois, C. M., Leveau, J. Y. (1991). Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires: Le contrôle microbiologique. Lavoisier-Tec.Doc. 476p.

Cuq, J.L. (2007). Microbiologie Alimentaire: Les relations microorganismes /aliments/ consommateurs, Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaires 4^{ème} année. Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc. 133p.

de W Blackburn, C. (2006). Food spoilage microorganisms. Woodhead Publishing. 712p.

Delhalle, L., Daube, G., Adolphe, Y., Crevecoeur, S., Clinquart, A. (2012). Les modèles de croissance en microbiologie prévisionnelle pour la maîtrise de la sécurité des aliments (synthèse bibliographique). Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 16(3), 369.

Dromigny, E. (2011). Les critères microbiologiques des denrées alimentaires: réglementation, agents microbiens, autocontrôle. Lavoisier. 509p.

Hart, T., Shears, P. (1997). Atlas de poche microbiologie. Flammarion. 314p.

Jay, J.M. (2000). Modern Food Microbiology. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland. 635p.

Références Bibliographiques

Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A. (2008). Modern food microbiology. Springer Science & Business Media. 790p.

Lelieveld, H.L., Holah, J., Gabric, D. (2016). Handbook of hygiene control in the food industry. Woodhead Publishing. 720p.

Leyral, G., Vierling, E. (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: Hygiène et sécurité alimentaires. Wolters Kluwer, France. 287p.

Lund, B., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W. (2000). Microbiological safety and quality of food (Vol. 1). Springer Science & Business Media. 1231p.

Meyer, A. (2004). Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. DOIN Editeurs. 437p.

Nauciel, C., Vildé, J.L. (2005). Bactériologie médicale. Elsevier Masson. 258p.

Pérez-Rodríguez, F., Valero, A. (2013). Predictive Microbiology in Foods. Springer New York. 128p.

Piar, G., Lanoisellé, J.L. (2000). Appertisation des denrées alimentaires. In Colloque annuel-SFT (pp. 3-33).

Rai, V.R., Bai, J.A. (2014). Microbial food safety and preservation techniques. CRC Press. 524p.

Rodier J. (2009). L'Analyse de l'eau. 9^{ème} édition. Dunod, Paris.1511p.

Salavert, M.H., Tandeau, A., Carip, C. (2015). Microbiologie, hygiène et droit alimentaire, Le manuel (2^{ème} Edition). Lavoisier / Tec et Doc. 323p.

Terfaya, N. (2004). Démarche qualité dans l'entreprise et analyse des risques. Editions Distribution HOUMA. 186p.

Van Boeckel, T.P., Hounhouigan, J.D., Nout, R. (2003). Les aliments: transformation, conservation et qualité. CTA. 268p.

Vignola, C. (2002). Science et Technologie du Lait, Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. 600p.