**Chapitre III. Altérations microbiennes des aliments et moyens de lutte.**

**III.1. Diverses aspects de la microbiologie alimentaire**

Il existe quatre catégories de micro-organismes importants dans les aliments :

* Les micro-organismes « utiles », qui vont apporter à la denrée des propriétés organoleptiques (arômes, acidité, texture) ou une meilleure conservation ;
* Les micro-organismes « d'altération » qui dégradent les propriétés organoleptiques de l'aliment ;
* Les micro-organismes « indicateurs d’hygiène », dont le faible niveau de concentration indique l’acceptabilité du procédé de production ;
* Les micro-organismes «pathogènes», susceptibles de provoquer une maladie chez le consommateur (par l’invasion des cellules et/ou la production de toxines).

**III.1.1. Origine des microorganismes des aliments**

Les microorganismes des aliments ont trois origines possibles :

* Ils préexistent dans la matière brute de l’aliment avant toute manipulation ou transformation.
* Ils sont apportés accidentellement lors des manipulations ultérieurs de l’aliment.
* Ils sont ajoutés volontairement.
* **Préexistence avant transformation de la matière brute**

Les aliments sont d’origine végétale ou animale. La flore normalement associée aux plantes et aux animaux est donc potentiellement présente. De plus, un apport microbien exogène est souvent inévitable (environnement, contact, manipulations, etc.). D’autre part, les animaux comme les végétaux, peuvent être malades, et les microorganismes pathogènes responsables peuvent se retrouver dans l’aliment correspondant.

* **Apport accidentel lors de la transformation de la matière brute**
* Le matériel utilisé pour les transformations(couteaux, broyeurs) ainsi que les eaux de lavage ne sont pas stériles. Ils apportent donc des microorganismes et cela d’autant plus qu’ils ne seront pas propres.
* Les hommes manipulant les aliments peuvent apporter eux aussi de nombreux microorganismes (par l’intermédiaire de la peau qui est souvent en contact direct avec l’aliment ; par l’intermédiaire de la bouche « éternuements » mais aussi la classique dégustation des plats par les cuisiniers prélevant l’aliments avec les doigts et par l’intermédiaire des vêtements).
* Le problème des infections ou rhino-pharyngées et de l’hygiène générale du personnel est donc crucial.
* Le problème des porteurs sains ou personnes hébergeant comme commensaux des bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes, est beaucoup plus délicat.
* L’air peut aussi transmettre des microorganismes par l’intermédiaire de poussières par exemple.
* Les insectes comme les mouches, forment des vecteurs très dangereux de microorganismes ; imaginons où va la mouche qui s’est posée sur une crotte de chien.
* **Addition volontaire**

Certains aliments, comme les yaourts sont ensemencés par des « ferments », le plus souvent des bactéries lactiques.

**III.1.2. Microorganismes utiles**

Les microorganismes sont utilisés dans diverses industries et en particulier dans l’industrie alimentaire dans des buts variés: obtention de produits fermentés, de cultures microbiennes ou de métabolites comme additifs alimentaires, épuration, etc.

**III.1.2.1. Fermentations**

La fermentation transforme le produit en modifiant dans un sens favorable ses propriétés. La valeur alimentaire peut être améliorée par destruction de substances toxiques ou indigestes, par apparition de facteurs de croissance d’origine microbienne (vitamines, acides aminés) ou de manière plus générale par une modification favorable de la composition chimique. Les qualités organoleptiques peuvent être modifiées par transformation ou apparition de goûts et d’odeurs dans un sens favorable. Enfin, l’aptitude à la conservation peut être meilleure grâce à la stabilisation du produit par élimination de substance aptes au développement de contaminants indésirables, par « effet de masse » de la flore technologique sur l’implantation de contaminants, ou par production de substance à effets stabilisant ou antimicrobien (acides, alcools, produits générateurs de phénomène d’antibiose, etc.). Les transformations en cause ne sont pas spécifiques : la même réaction peut selon le produit, les conditions d’apparition ou même le goût du consommateur, se révéler nuisible pour la qualité d’un produit ou utile dans le cadre d’une fermentation. Suivant la nature des produits issus de la réaction enzymatique, on distingue plusieurs types de fermentation (Tableau 4) :

**Tableau 4. Types de fermentations microbiennes**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Type de fermentation** | **Microorganismes**  | **Utilisation** |
| **Fermentation alcoolique****(éthanol et CO2)** | Levures (Saccharomyces) | La fabrication du vin, de la bière, du cidre et de diverses boissons fermentées. |
| **Fermentations lactiques****(acide lactique)** | Bactéries lactiques | La fabrication des fromages et yaourts, mais aussi de nombreux produits végétaux fermentés (ensilages, choucroute, olives, cornichons, etc.) et la charcuterie (saucisson, etc.). |
| **Fermentation acétique****(acide acétique)** | Acétobacter | La fabrication du vinaigre. |
| **Fermentation hétéro lactique avec production de gaz** | Bactéries lactiques | La formation de cavités de gaz qui sont très importantes pour certains types de fromage. Exemple : dans les fromages à pate persillée , c’est dans les cavités que se développera le *Penicillium roqueforti..* |
| **Fermentation hétéro lactique sans production de gaz** | *Bifidobacterium* | Utilisation comme additif dans certains yaourts en raison de leur action bénéfique sur le milieu intestinal (probiotique). |
| **Fermentation mixte****(alcool-acide)****(éthanol + acide acétique)** | Levure+bactéries acétiques | Dans le cas du cacao, la fermentation des fèves est due à des levures qui détruisent le mucilage et fabriquent l’éthanol qui va servir aux bactéries acétiques. L’acide acétique formé est un élément essentiel de la transformation du contenu de la fève. |
| **Fermentation butyrique****(acide butyrique)** | *Clostridium butyricum .* | L'acide butyrique est responsable de l'odeur putride et du goût piquant de certains fromages à pâte cuite. |
| **Fermentation propionique****(acide propionique et acide éthanoique)** | *Propionibacterium* | L'acide propionique (ou propanoïque) et l'acide éthanoïque sont responsables de la flaveur des fromages à pâte cuite et le gaz carbonique responsable de l'ouverture de ces fromages (Comté, Gruyère et Emmental). |
| **Fermentation malolactique****(acide malique)** |  *Oenococcus oeni* | Elle est recherchée dans la vinification des vins rouges et au contraire évitée pour les vins blancs et rosés pour lesquels on souhaite garder l'acidité apportée par l'acide malique. |

**III.1.2.2. Autres utilisations microbiennes dans le domaine alimentaire**

Divers produits utilisables comme additifs alimentaires sont fabriqués par fermentation microbienne, et de nombreuses enzymes d’origine microbienne sont utilisables au cours de la transformation alimentaire, le tableau 5, représente autres utilisations microbienne dans le domaine alimentaire.

**Tableau 5. Autres utilisations microbiennes.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Activité** | **Microorganismes utiles** | **Utilisation** |
| **Activité enzymatique** | Levures, microcoques, bactéries protéolytiques et moisissures. | Transformations postérieures à la fermentation (au cours de l’affinage) : protéases, amylases, lipases, pectinases, etc. |
| **Production de biomasse** | Levures (diététiques), ferments lactiques, | * Consommation alimentaire directe
* Comme source de métabolites
* Pour production des levains.
 |
| **Production de métabolites** | Bactéries, levures, moisissures, algues, etc. | * Additifs alimentaires

**Acides amines :** la lysine, l’acide aspartique, la thréonine ou l’acide glutamique, etc.**Acides organiques :** l’acide lactique, acétique, citrique, fumarique, gluconique. , etc.**Facteurs de croissance (vitamines) :** l’acide ascorbique (vitamineC), la riboflavine (vitamine B2), la cyanocobalamine (vitamine B12), la vitamine D, etc.)**Antibiotiques (agents de conservation alimentaire) :**Subtiline, tylosine, nisine, pimaricine, etc.**Agents de sapidité et des matières grasses ;****Polysaccharides :** alginates, pullulane, glucanes, etc. |

**III.1.2.3. Mise en œuvre des fermentations industrielles**

* **Déclenchement des fermentations**

Il existe différentes possibilités :

1. **Déclenchement spontané**

Les matières alimentaires brutes contiennent une flore originelle qui peut entraîner le démarrage spontané d’une fermentation. Pour que celle-ci soit efficace, il faut que la flore initiale du type souhaité soit abondante et en bon état physiologique. Il faut également que les conditions nutritionnelles et physico-chimiques de l’aliment lui soient favorables. Ce type de mise en œuvre se rencontre en œnologie, en fromagerie, plus rarement en brasserie. Il faut noter que ce type de fermentation met en œuvre des flore complexes :lorsque le déroulement est correct, il en découle un produit riche en composés secondaires qui sont favorables aux qualités organoleptiques. Cependant, la possibilité d’une mauvaise orientation fermentaire et donc d’un accident de fabrication, doit être envisagée.

1. **Utilisation d’un ensemencement empirique**

Le déclenchement de la fermentation peut être obtenu en ajoutant un élément ou un additif contenant la flore souhaitée. Ainsi, par exemple, dans la fabrication traditionnelle du fromage de Roquefort, l’apport de *Penicillium* était obtenu par ajout du pain moisi. La fermentation des fèves de cacao est améliorée en les couvrant de feuilles de bananier qui sont naturellement riches en levures. Souvent, c’est la cuverie utilisée pour une fermentation qui constitue le réservoir de microorganismes. Les accidents de fabrication sont minimisés par rapport au cas précédent.

1. **Utilisation d’une fermentation antérieur ou d’un levain**

Il s’agit de proliférer du développement de la flore souhaitée dans une fermentation pour ensemencer la suivante. Cette technique est utilisée en fromagerie, en brasserie, en boulangerie. Le démarrage de l’activité microbienne est favorisée. Cependant, si un trop grand nombre d’opérations se succèdent, on peut craindre la dégénérescence du levain, qui se manifeste par une activité plus faible et par l’augmentation des contaminants « sauvages ».

1. **Ensemencement par une culture pure**

Cette méthode permet l’utilisation d’une souche sélectionnée (il peut s’agir d’un mélange). Lorsque l’aliment contient une flore naturelle, il peut y avoir compétition avec celle-ci. Cependant l’apport massif d’un micro-organisme favorise son implantation (effet de masse). Ce type de fermentation donne un produit de qualité en général régulière et permet de limiter les accidents de fabrication. Dans certains cas, l’ensemencement est réalisé sur un produit stérilisé ou pasteurisé, ce qui permet une meilleure standardisation et limite encore plus les risques, mais la qualité organoleptique est plus faible. Ces types d’ensemencement sont actuellement les plus fréquents dans les fabrications industrielles : fromagerie, brasserie, etc.

* **Orientation et contrôle des fermentations**

Lorsque une fermentation met en œuvre des flores complexes, les différents micro-organismes interviennent successivement au cours du temps, soit spontanément, soit en fonctions du processus, il y a succession des flores. Lors d’une évolution spontanée c’est la flore la plus performante est la mieux adaptée.qui se développe en premier, ce développement aboutissant généralement à une modification des paramètres du milieu. Ceux-ci peuvent devenir défavorables pour cette flore et au contraire favorable pour une autre qui prend alors le relais et ainsi de suite. Le cours d’une fermentation industrielle va être modifiée par les traitements technologiques et par la modification des conditions physico-chimiques au niveau du produit ou de l’environnement. Le choix des traitements et l’ajustement des conditions permettent le contrôle du déroulement du processus microbien. Par exemple en fromagerie, différents facteurs concourent à l’orientation des fabrications en favorisant ou non une flore donné : brassage, salage, pressage, cuisson, anaérobiose (fromage de grand volume, enrobage, etc.). le choix d’une flore initiale pourra conditionner l’implantation d’une flore plus tardive. Ainsi, dans les fromages « persillés », le développement d’une flore hétéro-lactique crée les cavités, où après diffusion de l’oxygène, se développeront les moisissures.

**III.1.3. Microorganismes d’altération**

Divers microorganismes peuvent provoquer des altérations des aliments. D’ailleurs, certains microorganismes utiles dans les uns peuvent être nuisibles dans d’autres.

* Les bactéries lactiques utiles au yaourt et nuisibles au lait.
* Les moisissures utiles aux fromages bleus mais nuisibles dans la plupart des autres aliments.

Pour être nuisibles, les microorganismes doivent être en grand nombre pour que l’altération soit perceptible.

Les microorganismes les plus souvent rencontrés appartiennent aux genres : *Pseudomonas, Acinetobacter, Moraxella, Alcaligenes, Aspergillus, Rhizopus, Clostridium sporogones* et *Flavobacterium.*

La diversité des altérations dépend :

* De la nature de l’aliment ;
* Du niveau de contamination initiale ;
* Des propriétés et des exigences des microorganismes ;
* De la variété des microorganismes en cause qui provoquent l’altération :
* Par leur présence physique.
* Par leurs métabolismes.
* Des facteurs agissant sur le développement : pH, aw , T°...etc.
* Des traitements technologiques

**III.1.3.1. Autres causes d’altération alimentaire**

Les altérations alimentaires sont dues aux plusieurs agressions (Tableau 6):

**Tableau 6. Causes d’altération alimentaire**

|  |  |
| --- | --- |
| **Agressions externes :** | **Agressions internes :** |
| **01- Par des organismes vivants :*** **Micro-organismes :** bactéries, levures, moisissures.
* **Insectes :** mouches, blattes, charançon, fourmis …
* **Rongeurs :** rats, souris ……

**02- Par des agents physiques ou chimiques :*** **Chaleur**
* **Froid, gel**
* **Humidité**
* **Sécheresse**
* **Choc**
* **Oxygène de l’air**
 | Elles sont dues **aux enzymes** des aliments :ce sont des substances présentes naturellement dans un produit **animal** ou **végétal** qui, après sa mort, vont entraîner rapidement sa dégradation. |

**III.1.3.2. Altérations provoquées par les microorganismes**

* **Altération de l’aspect ou de la texture**

-Pigmentation anormale ( rose pour *Serratia*, noir ou verdâtre pour les moisissures) ;

-Film visqueux ou irisé ( dû aux bactéries aérobies strictes dans les aliments conservés à l’état libre) ;

-Dégagement gazeux anormaux ;

-Viscosité anormale (gélification par les bactéries capsulées ou par production du dextrane à partir de saccharose par *Leuconostoc*).

Ces altérations peuvent ne pas provoquer de toxicité mais rendent le produit peu appétissant ou invendable.

* **Altération du goût et de l’odeur**

-Odeur de moisi (moisissures, actinomycétales) ;

-Goût de rance du au 2,3 butane dione produit par *Leuconostoc*.

-Présence d’H2S ou d’indole (entérobactéries).

* **Altération des qualités nutritives**

-Par l’apparition de substances toxiques ;

-Par destruction des molécules nutritives (comme par exemple les acides aminés essentiels) d’où une diminution de la valeur nutritive de l’aliment.

**III.1.3.3. Types des bactéries d’altération**

**Les bactéries d'altération** dégradent le goût, l'odeur et l'aspect d'un produit. Parmi celles-ci on distingue:

* **Les bactéries protéolytiques**, qui attaquent les protéines des aliments. Les aliments les plus riches en protéines comme  la viande, les œufs, les poissons et les produits laitiers, prennent en se dégradant une odeur caractéristique « d’œuf pourri ».
* **Les bactéries lipolytiques**, qui dégradent les matières grasses des huiles, beurres, mais aussi des poissons et des viandes , leur conférant une odeur rance.
* **Les bactéries celullolytiques et glucidolytiques**, qui attaquent les sucres des fruits et légumes: la cellulose et les amidons sont hydrolysés, provoquant le ramollissement puis la pourrissement des aliments.

L’altération de l’aliment est perceptible à des taux supérieurs à 107 bactéries/g et 105 levures /g.

**La modification des glucides:** La modification des glucides s’effectue de plusieurs façons (Tableau 7 et 8):

* L’hydrolyse des polysaccharides, ce qui affecte la texture du produit ;
* Les fermentations alcoolique, lactique, butyrique, gluconique, le cycle de Krebs, etc.
* La formation des acides carboxyliques, d’alcools, de cétones, d’aldéhydes, des odeurs et des flaveurs.

**La modification des protéines:** Elles s’effectue de diverses façons (Tableau 9):

* L’hydrolyse des protéines en peptides et acides aminés affectant ainsi la texture du produit ;
* Les réactions de décarboxylation conduisant à la formation d’amines ;
* Les réactions de désamination conduisant à la formation d’acides organiques +NH3;
* La fermentation putride et la putréfaction résultent de ces différentes réactions.

**La modification des lipides :** Elle est la résultante de deux types de réactions :

* La lipolyse qui conduit à la libération des acides gras.
* L’oxydation des lipides conduisent au phénomène de rancissement.

**N.B :**

Pour une modification donnée, il n’est pas toujours possible de déterminer son origine. Les modifications de couleur peuvent être dues à l’oxydation, mais aussi à l’intervention de bactéries.(L’oxydation des A.G insaturés peut être de nature purement chimiques ou l’effet de lipoxydases tissulaires ou microbiennes).

**Tableau 7.** **Exemples de réactions indésirables catalysées par la présence d’enzymes microbiennes dans les boissons riches en sucres et en acides aminés**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Substrats** | **Organismes responsables** | **Produits de la réaction** |
| **Glucose, fructose, saccharose.** | *Lactobacillus spp.* | Acide lactique+ acide acétique+ CO2 |
| **Glucose** | *Acetobacter spp* | Acide gluconique |
| **Fructose** | *Lactobacillus brevis* | Mannitol+ac.lac+ ac.acétique+ CO2 |
| **Maltose, Saccharose** | *Leuconostoc mesenteroides, E. coli.* | Amylose+glucose+fructose |
| **Saccharose** | *Leuconostoc mesenteroides,**Bacillus subtilis,**Streptococcus viscosum.* | Dextrane+ Fructose+ Levane+ Glucose. |
| **Ethanol** | *Acetobacter spp* | Acide acétique+ H+ |
| **Acide citrique** | *Acetobacter spp* | Acide lactique+acide acétique+ CO2 |
| **Acide citrique** | *Bacterium succinum* | Acide succinique+ 2CO2 |
| **Acide malique** | *Leuconostoc mesenteroides,**Lactobacillus spp.* | Acide lactique+ CO2 |
| **Acide tartrique** | *Lactobacillus plantarum* | Acide lactique+ CO2 |

**Tableau 8.** **Types de dégradations associées au métabolisme des glucides dans divers aliments et boissons.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Aliments** | **Altération produite** | **Agnts responsable** |
| **Jus de fruits** | Acidifications, CO2, alcool, acide butyrique, acétification, dépôt visqueux. | *Lactobacillus spp, Levures, Clostridium spp,**Acetobacter spp, Leuconostoc spp.* |
| **Vins** | Acétification, trouble, dépôt visqueux. | *Acetobacter spp, Acetomonas spp, Leuconostoc spp.* |
| **Bières** | Dégagement gazeux, trouble visqueux. | *Saccharomyces spp.* |
| **Lait** | Acidification lactique, acétique, alcoolique, CO2. | *Lactobacillus spp, Streptococcus spp,**Lactobacillus spp, Micrococcus spp,**Microbacterium lacticum.* |
| **Jus de canne** | Inversion, acidification et fermentation divers, viscosité. | *Saccharomyces spp. Bacillus spp, Clostridium spp.Torulopsis spp.* |
| **Pain** | Surissement, goût de moisi,Filage (mie visqueuse, filandreuse). | *Rhizopus oryzae, Mucor, Aspergillus spp, Bacillus mesentiricus.* |
| **Céréales** | Altération de couleur,Germe brun, odeur de moisi | *Rhizopus nigricans, Asp spp, Serratia spp, Penicillium spp.* |
| **Fruits divers** | Inversion, acidification et fermentations diverses, viscosité. | *Streptococcus faecalis, Penicillium spp.* |
| **Oranges, agrumes** | Pourriture noire,Pourriture molle. | *Alternaria spp,**Penicillium spp ;* |
| **Légumes** | Pourriture, surissement. | *Bacillus polymyxa.* |

**Tableau 9.** **Altération liées à la dégradation d’origine microbienne des protéines contenues dans certains aliments.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Aliments** | **Altération produite** | **Agnts responsable** |
| **Lait** | Coagulation de la caséine,Odeur, rancissement, putréfaction, cadavérine. | *Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Proteus vulgaricus, Pseudomonas putrefaciens, Streptococcus liquefaciens, Streptococcus lactis.* |
| **Viandes et produits carnés** | Surface visqueuse, liquéfaction, dégradation du collagène, de l’élastine et de la kératine, putréfaction et production de putrescine, de calavérine, d’indole, d’amines, de H2S, de NH3. | *Clostridium perfringens, Clostridium welchii, Clostridium histolyticum, Clostridium sporogenes, Flavobacterium elastolyticum, Aeromonas spp, Proteus spp, Pseudomonas spp.* |
| **Poissons et produits dérivés** | Odeurs suspecte, triméthylamine, diméthylamine, indole, cadavérine, putrescine, H2S, surface visqueuse, arêtes avariées | *Achromobacter spp, Pseudomonas spp, Flavobacterium spp, Micrococcus spp, Sarcina spp , Proteus spp, Bacillus spp* |
| **Volailles** | Liquéfaction,Os avariés,Rancissement. | *Clostridium aerofoetidum, Cl. bifermentans, Cl.hystoliticum,Cl.putrifaciens, Cl. perfringens, pseudomonas fluorescens, vibrio costicolus. Micrococcus candidus, M.luteus.* |
| **Œufs** | Jaune gélatineux et noir ;Albumen gris, fluorescences verdâtres, pourriture noire, brune, jaune foncé du jaune, consistance visqueuse ou farineuse du jaune et de l’albumen, infection fongique. | *Aeromonas liquefaciens, Clostridium sporogens, Clostridium putreficum, Cladosporium herbarum, Proteus vulgaris, Pseudomonas fluorescens, Cloaca spp, Penicillium glaucum.* |
| **Fromages** | Moisissures | *Penicillium glaucum, Penicillium expansump.* |

**III.1.4. Micro-organismes « marqueurs » ou témoins de la qualité hygiénique**

Pour mesurer la pollution microbienne d'un aliment il existe des indicateurs d'hygiène qui sont appliqués dans les industries agro-alimentaires.

Certaines bactéries ou groupes bactériens mis en évidence par des tests spécifiques peuvent être considérés comme témoins de contamination d’origine humaine ou fécale et indiquer la présence possible de pathogènes d’écologie similaire. Ainsi, en est-il par exemple de *Staphylococcus aureus*, témoin de contamination cutano-muqueuse ; d’*Escherichia coli*, du groupe des coliformes fécaux regroupant nottament *E.coli, Klebsiella, Enterobacter,* des enterocoques, témoins de contamination fécale.

* **La FMAT (flore mésophile aérobie totale):** Dans le cas des aliments, ces microorganismes totaux sont en général dénommés « microorganismes aérobies » et parfois « germes aérobies mésophiles », ils doivent être recherchés et dénombrés à 30°C sauf, dans de rares exception. Le nombre de microorganismes est exprimé en nombre de germes par g ou ml d’aliment. La non conformité de la flore aérobie à 30°C peut avoir une origine due à une manque d’hygiène, à un traitement thermique insuffisant ou à des conditions de conservation défectueuses. Le dénombrement de cette flore ne doit pas être interprété comme donnant une indication sur la salubrité des produits : des valeurs élevées n’indiquent pas nécessairement la présence de pathogènes ou, surtout, des valeurs encore basses peuvent accompagner la présence de pathogènes à des niveaux dangereux
* D’autres flores peuvent etres interessantes à dénombrer dans la mesure où elles fournissent une indication sur la présence et le nombre de micro-organismes dotés de fortes activités métaboliques et susceptibles d’influencer l’aptitude à la conservation, à certains usages ou le maintien des propriétés organoleptiques de certains produits : flore psychrotrophe, flore thermophiles, flore lipolytique, flore protéolytique, dénombrement des levures, des moisissures…
* **La recherche de staphylocoques à coagulase positive:** des aliments peuvent être contaminés lors de leur production ou de leur préparation par des souches de *Staphylococcus aureus* productrices d’entérotoxines ; la consommation de tels aliments crus ou cuits va déclencher une intoxication qui peut concerner une personne (TIA) ou un groupe de personnes dans une collectivité (TIAC). Cette intoxication alimentaire va s’exprimer très rapidement (2 à 4 heures en moyenne) par la survenue rapide de nausées, de douleurs abdominales, de vomissements répétés et de diarrhées qui vont durer 24 à 48 heure**.**
* **La recherche des *Enterobacteriaceae* (Coliformes, Salmonella, E.coli) :** D’autres groupes bactériens témoignent d’une contamination en cours de process et plus particulièrement d’une recontamination après traitement thermique. Tel est le cas du groupe des coliformes totaux incluant non seulement des espèces communes dans les fèces humaines ou animales, *E.coli* par exemple, mais surtout des microorganismes ubiquistes tels que *Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Erwinia, Aeromonas.* Peut aussi avoir cette signification le groupe des *Enterobacteriaceae.* L’identification et le dénombrement des coliformes totaux ou des *Enterobacteriaceae* repose sur l’utilisation de techniques spécifiques. Leur présence ne doit pas être corrélée à une éventuelle contamination d’origine fécale : elle indique seulement un défaut de maitrise de l’hygiène générale.
* **La recherche de *Clostridia* sulfitoréducteurs :** ils regroupent des espèces de *Clostridia* telles que *Clostridium perfringens, Cl.bifermens, Cl.sporogenes, Cl.novyi, Cl.fallax, Cl.septicum*…, ils sont ainsi dénombrés car ils sont capables de réduire les sulfites (sulfites de sodium, par exemple, présents dans le milieu de culture en sulfures ; ceux-ci se combinent aves un sel de fer pour donner du sulfure de fer noir. Les colonies noires entourées d’un halo noir sont caractéristiques de bactéries sulfétoreductrices (ou anérobies sulfétoréducteurs), de Clostridium ou de Cl.perfringens après confirmation selon les conditions de recherche.

Tous ces germes sont des germes indicateurs de contamination fécale : dans les eaux depuis des décennies et dans certains aliments.

**III.1.5. Micro-organismes pathogènes**

Les microorganismes peuvent être les causes des maladies. L’aliment peut être porteur de quelques germes pathogènes, qui vont se multiplier dans le corps humain et causer des maladies (fièvre typhoïdes, choléra, dysenterie). L’aliment peut être le milieu où se multiplient une grande quantité de microorganismes qui, après, sont consommés avec l’aliment ( intoxication alimentaire paratyphoïde). L’aliment peut être le milieu de multiplication de micro-organismes, qui sécrètent des substances toxiques ( botulisme ; intoxination par les staphylocoques)

**III.1.5.1. Différentes catégories de maladies liées à la consommation des aliments**

* **Les maladies infectieuses:** sont dues à la prolifération du germe au détriment du tissu de l’hôte.
* **Les toxi-infections:** Les germes (106-109) produisent des substances toxiques spécifiques dont le pouvoir toxique dépend de la charge microbienne.
* **Les intoxinations :** sont dues à des exotoxines produites par les micro-organismes ; dans ces cas, la présence des germes eux-mêmes dans l’organisme de l’hôte n’est pas indispensable.

**III.1. 5. 2. Principaux micro-organismes pathogènes d’origine alimentaire**

|  |  |
| --- | --- |
| ***Campylobacter jejuni*** | **Type :** Maladie infectieuse |
| **Maladie :** Diarrhée dont la durée moyenne est de 2-3 jours. |
| **Sources :** aliments d’origine animale (lait, volaille, viande). |
| **Caractéristiques :** |
| Tmin | Tmax | Topt | pH optimal | aw |
| 30°C | 45°C | 42°C | 5.0-8.0 | Très sensibles à la dessiccation |
| **Valeurs de D et z :** 4,5 minutes (50°C), 6-8°C. |
| **Maladies infectieuses :** Dose infectieuse>5x102 cellules vivantes. |

|  |  |
| --- | --- |
| ***Listeria monocytogenes*** | **Type :** Maladie infectieuse (Listériose) |
| **Maladie :** elle provoque la méningite et aussi dans certains cas une septécimie périnatale. |
| **Sources :** le germe est transmis par les aliments tels que le lait cru, les produits laitiers non ou mal pasteurisés, les viandes et les poissons.  |
| **Caractéristiques :** |
| Tmin | Tmax | Topt | pH optimal | aw-min |
| 0°C | 45°C | 30°C | 5.0-9.0 | survit dans les conditions sèches. |
| **Valeurs D:** 17s (64°C) , 8s(68°C). |
| **Valeur de z :** 6,6°C. |

|  |  |
| --- | --- |
| ***Mycobacterium tuberculosis*** | **Type :** Maladie infectieuse  |
| **Maladie :** La tuberculose. |
| **Sources :** elle est transmise par le lait cru (sécrétion des malades).  |
| **Caractéristiques :** *Mycobacterium tuberculosis* est inactivée par la pasteurisation. |
| **Valeurs D:** 15 min (60°C). |
| **Valeur de z :** 6°C. |

|  |  |
| --- | --- |
| ***Shigella dysenteriae*** | **Type :** Maladie infectieuse (Shigellose) |
| **Maladie :** Elle se manifeste par la dysentérie, la diarrhée et la fièvre. Ses symptômes apparaissent après 10h. |
| **Sources :** Elle est couramment transmise par les aliments crustels que les légumes et les salades. |
| **Caractéristiques :** |
| Tmin | Tmax | Topt |  |  |
| 5°C | 45°C | 37°C |  |  |

|  |  |
| --- | --- |
| ***Bacillus cereus*** | **Type :** Toxi-infection et intoxination |
| **Maladie :** Diarrhée abondnate après 10 jours ( toxi-infection) ou vomissements très violens après 30 min-5h (intoxination) |
| **Sources :** *B.cereus* est transmise par les produits à base de viande et de volaille, les puddings et les mets à base de riz cuit à l’avance |
| **Caractéristiques :** |
| Tmin | Tmax | Topt | pH optimal | aw min |
| 10°C | 40°C | 30°C | 5.0-9.0 | 0,91-0,95 |
| **Bacillus cereus produit deux types de toxines :** l’entérotoxine protéique (facteur diarrhéique) et la toxine polypeptidique (facteur émétique). |
| **Valeurs de D :** 0,04 minutes (121°C, pH 6,8). |
| **Valeurs de z :** 9-10°C. |
| **Toxi-infection :** Dose infectieuse > 108 cellules vivantes. |

|  |  |
| --- | --- |
| ***Clostridium perfringens*** | **Type :** Toxi-infection et intoxination |
| **Maladie :** Diarrhée, nausée, vomissements ; les symptômes apparaissent après 8-24 h. |
| **Sources :** les aliments d’origine animale (viande, poissons). |
| **Caractéristiques :** |
| Tmin | Tmax | Topt | pH optimal | aw min |
| 15°C | 50°C | 40°C | 5.8-8.0 | 0,93 |
| anaerobie strict. |
| **le nombre de bactéries végétatives diminue dans les aliments réfrigérés ou congelés.** |
| **Valeurs de D :** 10 minutes (115°C). |
| **La toxine de Clostridium perfringens n’est pas thermostable.** |
| **Toxi-infection :** Dose minimale > 108 cellules vivantes.tg= 40 min. |

|  |  |
| --- | --- |
| ***Escherichia coli entéropathogène*** | **Type :** Toxi-infection. |
| **Maladie :** On distingue des différents types pathogènes : |
| **EPEC :** *E.coli* entéropathogène. |
| **ETEC :** *E.coli* entérotoxique (responsable de gastro-entérite et de la « diarrhée des voyageurs » (dose minimale> 108 cellules vivantes). |
| **EIEC :** *E.coli* entéro-invasive. |
| **EHEC :** *E.coli* entéro-hémorragique (notamment *E.coli* O157 :H7) |
| **Sources :** Elle est transmise par les aliments tels les viandes mal cuites, les produits laitiers crus et les patisseries. |
| **Caractéristiques :** |
| Tmin | Tmax | Topt | pH optimal |  |
| 10°C | 40°C | 37°C | 4.4-9.0 |  |
| N.B. : E. Coli et ses entérotoxines sont sensibles à la chaleur. |
| ***Salmonelles*** | **Type :** Toxi-infection (endotoxine) et maladie infectieuse. |
| **Maladie :*** **Gastro-entérite et fièvre internationale par toxi-infection :**

Les symptômes apparaissent après 12-24 h, et peuvent persister pendant plusieurs semaines. Dose minimale>105 cellules vivantes.* **Fièvre (para) typoїdes (maladie infectieuse) :**

Symptôme : nausée, mal de tète, fièvre élevée et persistente (quelques semaines), malaise. Les symptomes apparaissent après 7-28 jours selon la dose d’infection. Causée par de faibles doses de *Salmonella typhi* et *S.paratyphi.* |
| **Sources :** Viandes, vollailes, poissons, oeufs, cycles d’infection par les eaux de surface et les effluents, les ustensiles, les mains. |
| **Caractéristiques :** |
| Tmin | Tmax | Topt | pH optimal | aw min |
| 5°C | 46°C | 37°C | 5.0-9.0 | 0,94 |
| **Endotoxines :** thermostable |
| **Valeurs de D :** 1,5-4,5 minutes (63°C, pH 6,8). |
| **Valeurs de z :** 4-5°C. |
| **Toxi-infection :** Dose infectieuse > 108 cellules vivantes/g.tg :25 min. |

|  |  |
| --- | --- |
| ***Vibrio parahaemolyticus*** | **Type :** Toxi-infection. |
| **Maladie :** elle provoque une gastro-entérite accompagné de nausées et de vomissements. Les symptômes apparaissent après 72h.C’est une maladie particulièrement grave chez les personnes atteintes de troubles hépatiques. |
| **Sources :** elle est principalement transmise par les produits de la mer (poisson, crevettes, etc). |
| **Caractéristiques :** |
| Tmin | Tmax | Topt | pH min | aw min |
| 5°C | 43°C | 37°C | 5 | nécessite 3-9% NaCl. |
| tg : 12 min. |
| Remarque :*Vibrio parahaemolyticus* est une espèce halophile que l’on trouve donc dans les produits salés. |
| Maladie infectueuse :$\geq $105/g. |

|  |  |
| --- | --- |
| ***Yersinia enterocolitica*** | **Type :** Toxi-infection.  |
| **Maladie :** Elle se manifeste par la gastro-entérite, la fièvre, la méningite, la polyarthrite. Les signes ciliniques disparaissent au bout de 48 h. |
| **Sources :** Le germe est transmis par les aliments crus, en particulier le lait et les produits laitiers, les viandes et les volailles.  |
| **Caractéristiques :** |
| Tmin | Tmax |  | pH optimal |  |
| 0°C | 45°C |  | 5.0-9.0 |  |
| **Dose de toxi-infection :** >109/g. |

|  |  |
| --- | --- |
| ***Clostridium botulinum*** | **Type :** Intoxination (botulisme) ; il existe 8 sérotypes (A, B, C1, C2, D, E, F, G) |
| **Maladie :** Les toxines inhibent l’activation de l’acétylcholine au niveau dessynapses neuro-musculaires, conduisant à des troublesnerveux, des vomissements, des crampes abdominales, des troubles respiratoires, la paralysie et la mort du sujet si aucun soin adéquat ne lui est apporté. Les symptômes apparaissent après 12 à 72 h. La botuline est un des poissons les plus violents connus. DL50= 10-8 – 10-9 g par Kg de poids corporel. |
| **Sources :** De nombreux aliments présenetent de très grands risquesde contamination, notamment les conserves qui subissent un traitement thermique insuffisant. C’est le cas des conserves de viande, de poisson et de légumes. Elle n’est cependant pas transmise par les aliments acides.  |
| **Caractéristiques :** |
|  | Tmin | Tmax | pH min | aw min |
| A, B, C | 10°C | 48°C | 4,6 | 0,94 |
| B, E, F | 3°C | 45°C | 5,0 | 0,97 |
| *Clostridium botulinum* est une bactérie anaérobie stricte. |
| **Valeur D :** Type A et D : 1min. 113°C. Type C : 1min. 100°C.  Type E : 1min. 80°C. |
| **Valeur de z :** 7-12°C |
| **Stérilisation :** 12 *D* |
| **Remarque :** La germination des spores et la prolifiration du germe peuvent etre inhibées par addition de nitrite (agent conservateur) à des doses supérieures à 20 ppm. Les toxines sont aussi dénaturées par les chauffages à 80°C pendant 10 min, ou à 100°C pendant 5s. |

|  |  |
| --- | --- |
| ***Staphylococcus aureus*** | **Type :** Intoxination |
| **Maladie :** Gastro-entérite, vomissements ; les symptomes sont rapides (2-4h) ; le rétablissement est rapide (1-2 jours).c’est une cause majeure d’intoxination alimentaire.  |
| **Sources :** Les aliments à forte teneur en sel ou en sucre (fromage, viande, volaille et poisson séchés). S.aureus révèle une contamination après la transformation . |
| **Caractéristiques :** |
| Tmin | Tmax | Topt | pH optimal | aw min |
| 6°C | 45°C | 35°C | 4.0-9.0 | 0,86 |
| *S. aureus* produit plusieurs entérotoxines qui sont thermostables. |
| **Valeurs de D :** 7-20 minutes (63°C, pH 6,8). |
| **Valeurs de z :** 5-5,1 °C. |
| **Intoxination :** Dose toxique :1-25 µg d’entérotoxine ; ce niveau faut $ \geq $ 106/g cellules vivantes. |

|  |  |
| --- | --- |
| **Les virus** | **Type :** Maladie virale. |
| **Maladie :** Les virus transmis par les aliments provoquent des maladies telles que la diarrhée, l’hépatite et la poliomyélite. Les virus les plus importants sont Norwalk (NLV), rotavirus et hépatitis-A virus.  |
| **Sources :** Ils sont transmis par divers types d’aliments tels que le lait, l’eau, les coquillages, les fruits et les légumes. |
| **Caractéristiques :** Les virus ne peuvent pas croître dans les aliments ; ils sont assez thermostables. Leur inactivation nécéssite des températures > 70°C. Ils ne sont pas tous dénaturés par le séchage ; ils sont résistants aux antibiotiques ; les maladies peuvent être provoquées par des dizaines de particules. |

|  |  |
| --- | --- |
| **Les mycotoxines** | Ce sont les métabolites de divers champignons parasites et moisissures. Elles sont produites lorsque des moisissures se développent sur des graines ou leurs tourteaux. |
| **Fumonisines :** Elles sont produites par le développement de Fusarium moniliforme, surtout dans les produits d’origine tropicale, par exemple, le maїs. Selon leur structure chimique on connait 06 types (A1, A2, B1, B2, B3, B4). Les fumonisines sont cytotoxiques et cancérégènes. Chez l’homme on a constaté le cancer de l’oesophage, chez les chevaux la leuco-encéphalomalacie fatale, et chez les porcs d’oedème pneumonaire. Comme les fumonisines sont solubles dans l’eau on a pu réduire la contamination du maїs par la mouture et l’extraction en phase humide. |
| **Ochratoxine :** C’est une mycotoxine produite par le développement d’Aspergillus ochraceus et Penicilluim cylopium sur le scéréales, les fièvres, l’arachide. Elle cause la dégradation des reins et l’entéritis. |
| **Stérigmatocystine :** Cette mycotoxine est produite par le développement d’Aspergillus versicolor,et Aspergillus flavus sur les graines de café et les grains de blé. Elle est cancérigène. |
| **Patuline :** Elle est produite par le développement de moisissures du genre *Aspergillus* sur des pommes. Elle cause des oedèmes et des hémorragies. |

|  |
| --- |
| **DT :** est le temps nécessaire pour réduire la population d’un facteur 10 à la température T. Cette valeur est valable pour un micro-organisme donné. Cette valeur D dépend de l’environnement du microorganisme. |
| **Z :** facteur de réduction décimale ; il s’agit d’un paramètre complémentaire de DT ; c’est l’écart de température exprimé en °C permettant de faire varier DT d’un facteur 10. |

|  |
| --- |
| Les maladies diarrhéiques constituent un des problèmes de santé les plus importants dans les payés en envoie de développement. Elles conduisent souvent à :* une issue fatale ;
* une alimentation réduite ;
* la perte d’éléments nutritifs ou leur mauvaise absorption ;
* le déclanchement ou l’aggravation de la malnutrition.

le respect des règles d’hygiène dans chaque maillon de la chaine de fabrication, l’entretien des locaux et du matériel dans un bon état de propreté, le respect des consignes de traitement (chauffage, pasteurisation, stérilisation, etc.) et de conservation, sont indispensables pour sauvegarder la santé des consommateurs. |

**III.2. Facteurs influençant la flore d'altération des aliments**.

**III.2.1. Facteurs du milieu influençant la flore d’altération des aliments (pH, Aw, pression osmotique, température, salinité, etc.).**

Les facteurs les plus importants qui influencent la croissance des micro-organismes dans les aliments sont : le pH, la température, l’aw et le potentiel d’oxydoréduction.

Dans les aliments, les germes de contamination auront un sort différent sous l’influence de nombreux facteurs :

* **Les facteurs intrinsèques** tenant aux caractères physico-chimiques de la substance qui les héberge tels que l’AW , le pH, la pression osmotique, la salinité, le potentiel redox, ou à leur nature-même, c’est à dire leur composition biochimique et aux substances antimicrobiennes qu’ils peuvent contenir ;
* **Les facteurs extrinsèques** c’est à dire extérieurs à l’aliment tels que la température de conservation, l’humidité relative et les gaz environnants ou atmosphère de conservation

**III.2.1.1. Facteurs intrinsèques**

**2.1.1.1. Activité de l’eau**

* **Définition**

Dans un milieu (un aliment par exemple) l’eau se répartit de la façon suivante :

* Eau de solvatation, qui sert à la dissolution des solutés ;
* Eau d’imbibition retenue par les forces de capillarité (on la rencontre dans l’hydratation des colloïdes) ;
* Eau adsorbée à la surface de la phase solide ;
* Eau de constitution ;
* Eau libre .

L’activité de l’eau (Aw) représente l’eau disponible (eau libre) pour la réalisation des réactions métaboliques, en particulier pour les réactions enzymatiques. En effet, pour être actives, les macromolécules doivent être dans un état hydraté.

L’activité de l’eau est définie comme le rapport de la pression partielle de vapeur d’eau d’une solution ou d’un aliment **(P’)** sur la pression partielle de l’eau pure **(P)** à la même température : **Aw = P’/P.**

L’activité de l’eau est inversement proportionnelle à la pression osmotique d’un composé. Ainsi, elle est affectée par la présence plus ou moins importante de sels ou de sucres dissous dans l’eau (**Tableau 10**) .

**Tableau 10.** Valeur d’activité de l’eau en présence de NaCl et aux températures négatives.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Aw** | **Concentration****en NaCl (P/V)** | **Température****de l’eau** |  | **Aw** | **Concentration****en NaCl (P/V)** | **Température****de l’eau** |
| **0.995** | 0.9% |  |  | 0.90 | 16.5% |  |
| **0.99** | 1.75% |  |  | 0.88 | 19.5% | -15°C |
| **0.98** | 3.5% |  |  | 0.86 | 22.3% | -20°C |
| **0.96** | 7% |  |  | 0.823 |  | -25°C |
| **0.952** |  | -5°C |  | 0.784 |  | -30°C |
| **0.94** | 10.3% |  |  | 0.750 |  | -40°C |
| **0.92** | 13.5% | -10°C |  | 0.680 |  | -50°C |

La congélation entraine également une diminution de l’activité de l’eau dans la mesure où l’eau libre est piégée sous forme de glace. Les valeurs de l’Aw sont comprises entre 0 et 1, la valeur de Aw =1 étant réservée à l’eau pure.

* **Action sur les microorganismes**

Dans les cellules microbiennes, l’eau joue le rôle du solvant des substances nécessaires à la vie cellulaire (sels minéraux, substances organiques, gaz), elle permet l’ionisation des substances dissoutes, elle sert de transporteur de différentes substances chimiques. Elle participe à la polarisation des membranes et maintient la turgescence de la cellule, elle participe à de nombreuses réactions enzymatiques (hydrolyse, oxydoréduction) et assure l’hydratation et donc l’activité des macromolécules (protéines, acides nucléiques). Lorsque l’activité de l’eau est trop proche de1, les microorganismes ont du mal à se développer car ils peuvent dépenser une énergie importante pour expulser l’eau des cellules. Une activité de l’eau faible entraine une déshydratation intracellulaire et une perturbation importante du métabolisme qui va jusqu’à s’arrêter. Les valeurs d’activité de l’eau incompatibles avec la croissance entrainent progressivement une destruction des populations microbiennes.

Le tableau 11 donne les valeurs d’Aw tolérées par différents microorganismes. De façon générale, la grande majorité des bactéries (plus de 95% des espèces) ne se développent plus en dessous de 0.95.

Certains microorganismes de ce tableau sont relativement résistants. Ce sont les xérophiles que l’on peut séparer en deux groupes : les microorganismes halophiles qui ont besoin de sel (NaCl) pour leur croissance ; cette concentration peut varier de 1 à 6% pour les faiblement halophiles, jusque 15 à 30% pour les bactéries halophiles extrêmes (*Halobacterium halobium*) ; les halotolérantes acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leur croissance (ex : *Staphilococcus aureus*). Les microorganismes osmophiles supportent des concentrations modérées de sucres mais non obligatoires pour leur croissance.

**Tableau 11. Aw minimale de croissance selon le type bactérien**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Limite d’Aw** | **Microorganismes inhibés à la limite inférieure d’Aw** | **Exemples d’aliments se situant dans l’intervalle correspondant d’Aw** |
| 0.99-0.95 | *Pseudomonas, Proteus, Shigella, Escherichia, Klebsiella, Vibrio,**Alcaligenes, Citrobacter, Serratia,**Clostridium botulinum* et *C. perferingens.* | Très divers : lait, saucisses, aliments contenant jusqu’à 7% de sel. |
| 0.95-0.91 | *Salmonella, Vibrio, Serratia, Lactobacillus*, la plupart des coques, *Bacillus*, des levures : *Rhodotorula, Pichia* | Aliments à 55% de saccharose ou à 12% de NaClFromage à pâte pressée. |
| 0.91-0.87 | *Micrococcus*, la majorité des levures, *Cladosporium.* | Aliments à 65% de saccharose ou à 15% de NaCl.Sauxisson sec, fromage de type parmesan. |
| 0.87-0.80 | Staphylococcus aureus (0.83), Saccharomyces, la majorité des moisissures. | Farine, riz, légumes secs...renferment 15 à 17 % d’humidité.Cake, lait concentré sucré (0.83). |
| 0.80-0.75 | *Halobcterium, Aspergillus* | Alimens à 26% de NaCl (à saturation)pâte d’amande, confiture et marmelades. |
| 0.75-0.65 | Moisisssures xérophiles | Flocons d’avoine |
| 0.65-0.60 | Levure osmophiles (*S. rouxii*)quelques moisissures (*Monascus*) | Fruits déshydratés renfermant 15 à 20% d’humidité, caramel mou et bonbon. |
| 0.50 | Limite inférieure de prolifération microbienne. | Pâtes alimentaires, épices avec environ 10% d’humidité. |
| 0.40 |  | œufs entiers en poudre. |
| 0.30 |  | Biscuits, chapelure, croûte du pain |
| 0.20 |  | Lait entier en poudre, légumes déshydratés, flocons de maïs. |

**2.1.1.2. pH**

Il est égal au cologarithme de la concentration en H3O+, il détermine l’acidité ou la basicité d’un milieu et peut varier entre zéro et 14 ( Tableau 12).

La majorité des bactéries se multiplient préférentiellement à des pH voisins de la neutralité (6.5 à 7.5), mais elles sont capables de se croitre dans une large gamme de pH. Par exemple, *Escherichia coli* peut se multiplier à des pH compris entre 4.4 et 9.0.

Certaines bactéries qualifiées d’acidophiles préfèrent un pH acide. C’est le cas des lactobacilles dont le pH optimal est de 6. Parmi les bactéries n’ayant pas d’intêret en microbiologie alimentaire, on peut citer *Thermoplasma acidophilum* dont le pH est compris entre 0.8 et 3.

Au contraire, les bactéries basophiles (ou alcalophiles) préfèrent des pH alcalins. Ainsi, le pH optimal est de pour *Vibrio cholerae*. La majorité des espèces bactériennes (plus de 95%) sont inhibées à un pH inférieur ou égal à 4.5. Les levures et les moisissures sont en générales acidophiles.

**Tableau 12. Zones de pH de développement pour certains groupes microbiens**

|  |  |
| --- | --- |
| **Zone de pH** | **Microorganismes** |
| <3.7 | Moisissures, Levures, Acetobacter, de nombreuses bactéries lactiques |
| 4.5-3.7 | Les mêmes + *Bacillus spp., Leuconostoc, Pediococcus, Acetobacter, Clostridium tyrobutyricum, C. pasteurianum.* |
| 5.3-4.5 | Les mêmes + coliformes, certaines Gram-oxydatives, *Clostridium* divers, *Staphylococcus.* |
| 6.5-5.3 | Les mêmes + *Aeromonas, Pseudomonas,* toutes les entérobactéries, *Micrococcus, Bacillus stearothermophilus, Staphylocoques* |
| Neutre (7.0 à 6.5) | Les mêmes + Microbacterium,, Vibrio, Sarcina, Acinetobacter, Moraxella |
| Alcalin (>7.0) | prédominance des Gram- |

Au cours des cultures, le métabolisme bactérien engendre des composés acides ou basiques qui sont susceptibles d’entraver la multiplication bactérienne. Cette propriété est utilisée et contrôlée dans la fabrication des produits fermentés comme les yaourts ou le saucisson sec.

Les ions H3O+ ne peuvent pas pénétrer dans la cellule sans l’aide de perméases, leur forte concentration dans le milieu n’est donc pas directement responsable du pH intracellulaire. Par contre les acides faibles, à pH bas sont en grande partie sous forme non dissociée et peuvent pénétrer passivement dans la cellule où ils vont modifier le pH interne. Le pH du milieu est cependant important car il sera d’autant plus difficile pour la cellule d’évacuer ses protons vers l’extérieur si la concentration externe est déjà très élevée.

Lorsqu’on s’éloigne du pH optimal, les réactions du métabolisme sont affectées. Les enzymes endocellulaires ont un pH optimal pour une ionisation particulière de leurs sites actifs, et de mêmes les acides nucléiques doivent être à l’état ionisé (polyanions) pour assurer la synthèse des protéines. Une modification du pH entraine le changement de l’ionisation et le ralentissement, voire l’arrêt, du métabolisme.

**2.1.1.3. Potentiel d’oxydoréduction**

Ce potentiel est mesuré grâce à un couple d’électrodes, une de référence à hydrogène et l’autre de mesure. Il est d’autant plus élevé (valeurs positifs) que le milieu est oxydant, tandis que les valeurs négatives correspondent à un milieu réducteur. L’oxygène est l’oxydant le plus courant dans le milieu environnant et c’est lui qui est la plupart du temps responsable du potentiel d’oxydoréduction.

Lors de leur métabolisme énergétique, les microorganismes aérobies ou aéro-anaérobies utilisent l’oxygène moléculaire comme accepteur final d’électrons. Ils ont obligatoirement besoin d’oxygène libre et sont qualifiés d’aérobies. L’oxygène, en captant des électrons, sera réduit en espèces toxiques pour la cellule.

Au contraire, les bactéries anaérobies ne peuvent se multiplier et survivre qu’en l’absence d’oxygène. Elles utilisent d’autres composés organiques ou minéraux comme accepteur finaux d’électrons (acide pyruvique par exemple) et ne possèdent pas les enzymes de détoxication.

**2.1.1.4. Facteurs nutritifs**

**2.1.1.4. 1. Substances antimicrobiennes**

Le principe d’activité des agents antimicrobiens consiste en :

* L’inhibition de la synthèse des acides nucléiques, des protéines ou de la paroi cellulaire ;
* L’altération des membranes ;
* L’interférence avec certains processus métaboliques essentiels.
* Certains sont microbiocides, d’autres sont microbiostatiques, la différence étant due surtout à la concentration utilisée.

**2.1.1.4. 2. Constituants naturels**

Les substances antimicrobiennes existent dans les aliments d’origine végétale et animale ;

* **Aliments d’origine végétale :**

-les huiles essentielles

-les tanins

-les glucosides

-les glycoprotéines (lectines)

* **Aliments d’origine animale :**

-les immunoglobulines

-les facteurs qui captent le fer comme le lactoferrine

Les agents antimicrobiens ont une action spécifique, qui ne protège pas systématiquement des altérations à cause des phénomènes de résistance surtout dans les aliments d’origine animale qui sont labiles.

* Lacténines du lait, conalbumine, ovomucoide et avidine de l’œuf.
* Lysozymes
* Facteurs non identifiés du miel qu’on appelle des inhibines
* Facteurs peu connus d’activité faible et passagère existant dans la viande fraiche de mammifères, la viande de volaille et les aliments d’origine marine.

Ces principes antimicrobiens sont facilement neutralisés comme c’est la cas du blanc d’œuf. De ce fait, leur rôle est pratiquement limité.

**2.1.1.4. 3. Facteurs produits lors du stockage**

Des facteurs antimicrobiens peuvent se former dans les aliments pendant leur stockage. Les sirops concentrés, brunis au cours de leur conservation, sont protégés de la fermentation par certains dérivés du furfural. De même, les composés de Maillard (résultants de la combinaison des acides aminés avec les sucres=amines) engendrent un brunissement et empêchent la croissance bactérienne. Ainsi, le processus d’altération chimique au cours du stockage entraine une certaine altération de la flore.

**III.2.1.2. Facteurs extrinsèques**

**III.2.1.2.1. Température et humidité :** La température et l’humidité relative sont des facteurs extrinsèques importants dans l’avarie d’un aliment. Les microbes se développent plus rapidement dans une humidité relative élevée, même à basse température (particulièrement lorsque les réfrigérateurs n’ont pas de dégivrage). Quand des aliments secs sont mis à l’humidité, ils absorbent l’eau en surface, ce qui permet finalement une croissance microbienne.

**III.2.1.2.2. Atmosphère de conservation:** L’atmosphère, dans laquelle la nourriture est conservée, est également importante. C’est particulièrement vrai pour des aliments emballés sous plastique, car beaucoup de films plastique permettent une diffusion de l’oxygène qui favorise la croissance de micro-organismes superficiels. Un excès de CO2 peut réduire le pH de la solution inhibant ainsi le développement microbien. La conservation de la viande dans une atmosphère riche en CO2 inhibe les bactéries Gram-négatives, en produisant une population dominée par les Lactobacilles.

L’atmosphère où l’aliment est stocké a de l’importance ; cette observation a suscité la mise au point de l’emballage sous atmosphère modifiée. L’utilisation moderne de matériaux d’emballage rétrécissant et de la technologie du vide rend possible un empaquetage des aliments sous atmosphères contrôlée. Si le contenu en dioxyde de carbone de l’atmosphère qui entoure l’aliment est de 60% ou plus, les mycètes inducteurs de pourriture ne pourront pas croitre même si l’oxygène est présent à faibles concentrations. On laisse un peu d’oxygène parce que , s’il est complètement éliminé, le psychrophile *Clostridium gasigenes* peut se développer. Cet organisme peut produire du gaz en 14 jours à 2°C, ce qui fait gonfler les emballages. Ces procédés d’emballage sous atmosphère modifiée, tout en contribuant à la conservation de l’aliment, entrainent aussi un glissement dans la structure générale de la communauté microbienne, qui passent des organismes Gram-négatifs aux Gram-positifs.

**III.2.2. Facteurs induits par l’effet de traitement physiques et physico-chimiques.**

Bien que de nombreux micro-organismes soient bénéfiques et nécessaires au bien être humain, les activités microbiennes peuvent avoir des conséquences indésirables telles que la détérioration de la nourriture et la maladie. En conséquence, il est essentiel de pouvoir détruire les micro-organismes ou d’inhiber leur développement de manière à minimiser leurs effets destructeurs. Le but est double :

* Il faut détruire les agents pathogènes et empêcher leur transmission et,
* Il faut réduire ou éliminer les micro-organismes responsables de la contamination de l’eau, des aliments et d’autres substances.

**III.2.2.1. Définition de termes fréquemment utilisés**

 La terminologie est particulièrement importante lorsqu’il est question du contrôle des microorganismes parce que des mots, tels que désinfectant et antiseptique, sont souvent utilisés de manière inappropriée. La confusion augmente encore car, selon les conditions, un traitement particulier peut soit inhiber la croissance soit tuer.

 La capacité de contrôler les populations microbiennes sur des objets inanimés, comme la vaisselle et les instrument chirurgicaux, est d’une importance pratique considérable. Il est parfois nécessaire d’éliminer tous les micro-organismes d’un objet alors qu’une destruction partielle de la population microbienne peut être suffisante dans d’autres situations.

* **Stérilisation**

La stérilisation du latin sterilis, stéril, infécond est le procédé par lequel on détruit ou on élimine d’un objet ou d’un habitat toutes les cellules vivantes, les spores viables, les virus et les viroïdes. Un objet stérile est totalement exempt de micro-organismes, de spores, ou d’autres agents infectieux viables ; lorsqu’un agent chimique permet la stérilisation, on l’appelle un agent stérilisant. Par contraste,

* **Désinfection**

La désinfection est la destruction, l’inhibition ou l’élimination des micro-organismes potentiellement pathogènes. Les désinfectants sont des agents habituellement chimiques, normalement utilisés sur des objets inanimés. Un désinfectant ne stérilise pas nécessairement un objet pars qu’il peut encore laisser des spores viables et quelques micro-organismes

* **Décontamination**

La décontamination est étroitement associée à la désinfection. Par ce processus, la population microbienne est réduite à des niveaux considérés sans danger par les normes de santé publique. L’objet inanimé est ordinairement nettoyé et partiellement désinfecté. On utilise par exemple, des agents de décontamination pour nettoyer la vaisselle dans les restaurants.

Il est fréquemment nécessaire de contrôler les micro-organismes sur un tissus vivant par des agents chimiques.

* **Antisepsie**

L’antisepsie du grec anti, contre et sepsis, putréfaction) est la prévention de l’infection par l’utilisation d’antiseptiques, des agents chimiques appliqués sur les tissus dans le but de détruire ou d’inhiber le développement de l’agent pathogène. Parce qu’ils ne doivent pas trop détruire le tissus hôte, les antiseptiques sont généralement moins toxiques que les désinfectants.

On emploi un suffixe particulier pour indiquer le type d’agent antimicrobien. Les substances destructrices d’organismes ont souvent **le suffixe-cide** (du Latin coedere, tuer) ; un germicide détruit les germes pathogènes (et de nombreux non pathogènes) mais pas nécessairement les endospores. Un désinfectant ou un agent antiseptique peut être particulièrement efficace contre un groupe spécifique d’organismes, dans ce cas, on l’appelle un bactéricide, un fongicide, un algicide ou un virucide.

D’autres substances chimiques ne tuent pas mais elles empêchent le développement. Leurs noms se termine par **le suffixe-statique** (du grec statikos, provoquant une situation debout, s’arrêtant), par exemple : bactériostatique et fongistatique.

**III.2.2.2. Conditions affectant l’efficacité de l’activité des agent antimicrobiens**

La destruction des micro-organismes et l’inhibition du développement microbien ne sont pas choses simples car l’efficacité d’un agent antimicrobien (un agent qui tue les microorganismes et inhibe leur croissance) est affectée par au moins six facteurs.

* **La taille de la population** ; il faut plus longtemps pour détruire une population importante qu’une population plus petite.
* **La composition de la population**; l’efficacité d’un agent varie fortement avec le type de microorganismes traité car les microorganisme varient fortement en sensibilité. Et les endospores bactériennes sont beaucoup plus résistante à la plupart des agents antimicrobiens que les cellules végétatives.
* **La concentration ou l’intensité d’un agent antimicrobien** ; souvent mais pas toujours, plus un agent chimique est concentré ou plus un agent physique est intense, plus les microorganismes sont détruits rapidement. Généralement, l’effet de la concentration ou de l’intensité sur l’efficacité n’est pas linéaire.par exemple l’éthanol à 70% est plus efficace que l’éthanol à 95%, car son activité s’accroît en présence d’eau.
* **La durée d’exposition,** plus longtemps une population est exposée à un agent germicide, plus nombreux sont les organismes tués.
* **La température**, un accroissement de la température à laquelle une substance chimique agit, augmente souvent son activité. On peut utiliser fréquemment une plus faible concentration de désinfectant ou d’un agent stérilisant à une température plus élevée.
* **L’environnement local**, la population à détruire ou à inhiber n’est pas isolée mais elle est soumise à des facteurs de l’environnement qui peuvent offrir une protection ou favoriser la destruction. Par exemple, comme la chaleur tue plus facilement à pH acide, la nourriture et les boissons acides tels que les fruits et les tomates, sont plus facilement pasteurisées que les denrées alimentaires plus neutres comme le lait. Un second facteur très important de l’environnement est la matière organique qui peut protéger les microorganismes contre la chaleur et les désinfectants chimiques. Les biofilms sont un bon exemple. La matière organique à la surface d’un biofilm va protéger les micro-organismes. De plus il sera difficile d’enlever le biofilm et ses organismes. Il peut être nécessaire de nettoyer un objet avant de la désinfecter ou de la stériliser.

**III.2.2.3. Utilisation de méthodes physiques dans le contrôle**

On utilise ordinairement la chaleur et d’autres agents physiques pour stériliser des objets comme on peut s’en rendre compte par l’utilisation courante de l’autoclave dans chaque laboratoire de microbiologie. Les quatre agents les plus fréquemment employés sont :

* **la chaleur  (humide, sèche) ;**
* **les basses températures ;**
* **la filtration et ;**
* **les radiations.**
* L’efficacité de la destruction thermique est souvent indiquée par la duré thermique mortelle ou le temps de réduction décimale.
* **La duré thermique mortelle (DTM):** c’est le temps le plus court requis pour tuer tous les organismes d’une suspension microbienne à une température spécifique et dans des conditions déterminées.
* **Le temps de réduction décimale ou valeur (D):** est le temps requis pour tuer 90% des micro-organismes ou des spores dans un échantillon à une température spécifique
* Bien que le traitement par l’eau bouillante pendant 10 minutes tue les formes végétatives, il faut utiliser un autoclave pour détruire les endospores par chauffage à 121°C ( 1 bar de pression pendant 20 min).
* La chaleur humide tue en dégradant les acides nucléiques, en dégradant les acides nucléiques, en dénaturant les enzymes et les autres protéines et en détériorant les membranes cellulaires.
* On peut préserver les liquides thermosensibles par pasteurisation, en chauffant à 63°C pendant 30 minutes ou à 72°C pendant 15 secondes (flash-pasteurisation). Un chauffage à 140-150°C pour une à 3 secondes (stérilisation à température ultra-élevée) peut être aussi utilisé.
* On stérilise la verrerie et les autres objets thermostables par la chaleur sèche entre 160 et 170°C pendant 2 à 3 heures.
* La réfrigération et la congélation servent à contrôler la croissance et la multiplication des micro-organismes
* On peut éliminer les micro-organismes efficacement par filtration à travers des filtres épais ou des membranes filtrantes.
* Les hottes de sécurités biologiques munies de filtres particulaires de grandes efficacité, stérilisent l’air par filtration
* On peut utiliser les radiations de courte longueur d’onde ou à haute énergie, les radiations ultraviolettes et ionisantes, pour stériliser les objets.

**III.2.2.4. Utilisation d’agents chimiques dans le contrôle**

* Les agents chimiques agissent habituellement comme désinfectants parce qu’ils ne peuvent détruire facilement les endospores bactériennes. L’efficacité d’un désinfectant dépend de la concentration , de la durée du traitement , de la température et de la présence de matière organiques.
* Les dérivés phénoliques et les alcools sont des désinfectants courants qui agissent par dénaturation des protéines et en détériorant les membranes cellulaires ;
* Les halogènes (Iode et chlore) tuent en oxydant les constituants cellulaires ; les protéines cellulaires peuvent également être iodées. L’iode est utilisé sous forme de teinture ou d’iodophore. On peut ajouter le chlore à l’eau sous forme de gaz, d’hydrochlorite ou de dérivé organique chloré
* Les métaux lourds sont plutôt des agents bactériostatiques. Ils sont utilisés dans des situations particulières telles que l’instillation de nitrates d’argent dans les yeux des nouveaux nés et l’utilisation du sulfates de cuivre dans les lacs et les piscines.
* On utilise souvent les détergents cationiques comme désinfectants et antiseptiques ; ils perturbent les membranes et dénaturent les protéines.
* Les aldéhydes, comme le formaldéhydes et le glutaraldéhydes, peuvent aussi bien stériliser sue désinfecter car ils tuent les spores.
* Le gaz d’oxyde d’éthylène pénètre les emballages plastiques et détruit toute forme vivante en réagissant avec les protéines. Il est utilisé pour stériliser les matières thermosensibles emballées.
* Il y a différentes manières de déterminer l’efficacité de désinfectants parmi lesquelles : la méthode de coefficient phénol, la mesure des vitesses de destruction par les germicides, la méthode des « portes-germes » et le test en conditions réelles.

**Références bibliographiques**

* Ahmed Ghouini. **Nutrition appliquée à la santé publique**. Office des publications universitaire (OPU), 2016 (2ème édi). P : 115. ISBN : 9789961018668.
* Camille Dellaras. **Microbiologie pratique pour le laboratoire d’analyse ou de contrôle sanitaire.** Tech & Doc-Medicale internationale.Lavoisier, 2007. P : 463. ISBN : 9782743009458.
* Henri Dupin. **Alimentation et nutrition humaines**. Esf Editeur, 1992. P : 1533. ISBN : 2710108925, 9782710108924.
* Jean-Paul Larpent. **Listeria**. Tech & Doc, Paris, 2000 (2ème édi).P :157.ISBN :2743003820.
* Josef-Pièrre Guiraud. **Microbiologie alimentaire**. Dunod, Paris,2003. P : 615. ISBN : 2100072595.
* Lansing M.Prescott, Jean .P. Harley, Donald Aklein. **Microbiologie**. De Boeck & Larcier.s.a.,2003 (2ème édi). P :1101.ISBN : 2804142566.
* Laurient Surta, Michel Fedirighi, Jean-Louis Jouve. **Manuel de bactériologie alimentaire**. Polytechnica, Paris, 1998. P : 307. ISBN : 2840540568.
* Marlène Frénot, Elisabeth Vierling. **Science des aliments : Biochimie des aliments diététique du sujet bien portant**. Doin, Centre régional de documentation pédagogique d’aquitaine, 2001. P : 301 . ISBN :11591102.
* Naoual Ait Abdelouaheb. **Microbiologie alimentaire**. Office des publications universitaire (OPU), 2007 (2ème édi). P : 147. ISBN : 9789961005187.