

Cours de Microbiologie Alimentaire
Master 2 MA

Dr BOUAUDIA-MADI . N

I. Relation Aliments –Microorganismes –Consommateurs

Le contrôle de la qualité microbiologique de nos aliments a été pendant longtemps limité aux contrôles des produits finis, le plus souvent par rapport à une norme. Ces analyses ont été souvent l'apanage de laboratoires spécialisés car il est bien connu que l'évaluation de la qualité hygiénique de nos denrées alimentaires nécessite beaucoup de matériel, un personnel qualifié et reste encore lourde, longue et coûteuse. En conséquence, cette évaluation est encore difficilement applicable à un nombre d'échantillons représentatifs d'un lot ou d'une production.

Les microorganismes sont des êtres ubiquistes, présents dans l'eau, le sol, l'air et même nos aliments. L'aliment qui est un être vivant ou une partie de lui est un écosystème favorable au développement d'une multitude de germes : bactéries, champignons, protozoaires, virus et agents subviraux, assurant ainsi leurs sources d'énergie et de carbone et trouvant les conditions idéales pour leur survie. Habitants commensaux ou pathogènes des hôtes animales et végétales, saprophytes des eaux et du sol, les microorganismes arrivent par tous les chemins à l'alimentation de l'homme, des animaux et même des insectes.

La maîtrise de la qualité microbiologique (hygiénique obligatoire et marchande souhaitée par le fabricant mais aussi le consommateur) passe par un ensemble de démarches qui vont du contrôle des matières premières brutes, en cours de transformation ou de l'aliment fini, aux pratiques de bonnes fabrications en passant par l'identification des principaux points critiques du système de production / distribution, le plus souvent par une démarche HACCP.

Ces analyses prennent aujourd'hui largement place dans la plupart des usines et des réseaux de distribution et permettent, par la réalisation de contrôles judicieux, une bonne évaluation de la qualité et une mise en évidence d'éventuelles contaminations, les actions correctives qui en découlent sans pour autant trop alourdir les charges.

Dans ce contexte l'analyse microbiologique traditionnelle des produits finis reste encore indispensable car elle permet avec une certaine inertie d'éviter, dans le cas où des produits dangereux ou non conformes seraient fabriqués, leur commercialisation ou leur consommation. Ce type de contrôle souvent pratiqué par des laboratoires officiels (DGCCRF: Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes , Laboratoires des Services Vétérinaires, etc.) n'est pas préventif et ne permet pas de maîtriser la qualité microbiologique des produits fabriqués. Utilisé seul, il se révèle sans grand intérêt et souvent même inutile si sa mise en œuvre est longue et sans suite.

En effet, l'aliment est contaminé par les microorganismes depuis l'environnement de production : ferme d'élevage animal, champ d'agriculture ou eaux de pêche, etc. ; l'environnement industriel : matériel, manipulateur, chaîne de froid, etc. ; pour finir dans les étagères de vente commerciale au niveau du consommateur. Un des effets les mieux connus des microorganismes contaminants de nos aliments est la dégradation de la qualité. Cette qualité de nos produits alimentaires peut, au plan microbiologique, être définie de 2 façons :

I. 1. La qualité marchande

Concerne essentiellement les caractéristiques organoleptiques et se traduit par un attrait ou une répugnance par les consommateurs. Ses incidences économiques sont déterminantes pour l'industrie alimentaire. Les caractéristiques nutritionnelles et technologiques de l'aliment contribuent à cette qualité.

Tous nos aliments peuvent être le siège de prolifération microbienne, prolifération d'autant plus variée que le produit est "riche" en éléments nutritifs et placé dans des conditions favorables à la croissance microbienne. Ainsi la plupart de nos aliments (non soumis à des traitements antimicrobiens) ont des charges microbiennes comprises entre 10^4 et 10^6 /g.

Au cours de cette prolifération des modifications d'aspect (couleur, limon), de texture, de flaveur (odeur et saveur) apparaissent. Les microorganismes les plus souvent rencontrés appartiennent aux genres *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Clostridium sporogenes* et *Flavobacterium*, et les modifications qu'ils engendrent sont le plus souvent défavorables (odeur putride, limon, rancissement, liquéfaction etc...).

Parfois cette prolifération est souhaitée (yaourt, beurre, fromage, saucisson, choucroute, anchois, etc...) : il s'agit alors de fermentations contrôlées, de biotransformations, de production de biomasse.

I.2. La qualité hygiénique.

Il n'en reste pas moins vrai qu'actuellement les maladies microbiennes d'origine alimentaire sont des affections à la "mode" dont chacun d'entre nous peut être la victime. Généralement les symptômes ressentis sont qualifiés de "crise de foie" et ont une localisation gastro-intestinale.

L'évolution du mode de vie caractérisé par un passage de la cuisine familiale à la restauration collective, un recours à des aliments préparés à l'avance hors du domicile, l'apparition de produits nouveaux (100 aliments en 1900, plus de 10 000 en 1999, combinaisons de constituants de matières premières) ont entraîné une augmentation des risques. Les "accidents" affectent souvent un nombre élevé d'individus et sont amplifiés et souvent mal commentés par les médias.

Toutefois, tendre vers la consommation d'aliments stériles est probablement très défavorable pour l'humain qui deviendrait plus sensible aux maladies s'il n'est pas continuellement en contact avec un certain nombre de germes pathogènes. En effet ces germes induisent et stimulent des mécanismes de défense. Ainsi quand des européens ou des américains "voyagent" hors de leurs frontières, ils contractent des maladies pour lesquelles les populations des pays visités sont immunisées.

➤ Classification des microorganismes

La taxinomie ou science de la classification est à la base de toute démarche d'identification. Traditionnellement, les types biologiques sont classés en espèces, genre, famille, ordre, classe, phylum, domaine. En pratique ce sont les notions de genre et d'espèce qui sont surtout utilisées en microbiologie ainsi que les subdivisions au sein d'une espèce: sous-espèce (subsp), sérotype, lysotype, biotype, souche, etc.

La répartition en espèces et leur classification peuvent être réalisées en fonction de divers critères : phénotypiques, génotypiques et chimio taxinomiques (Figure 1). Les bactéries peuvent se différencier par leurs caractères phénotypique, par exemple leur forme, leur taille ou leur structure, par leurs activités chimiques, par les éléments nutritifs qui leur sont nécessaires, par la forme de l'énergie qu'elles utilisent, par les conditions physiques dans lesquelles elles peuvent croître, par leur réactions à certains colorants. La classification moderne, phylogénétique des procaryotes se base sur des critères moléculaires : les organismes sont classés principalement selon les différences (ou les similitudes) de leurs acides nucléiques

La phylogénétique est l'étude des relations évolutionnaire entre les organismes, les caractères phénotypiques des microbes ont fournis peu d'informations sur la phylogénie microbienne. Récemment, la comparaison des séquences entre macromolécules à fonctions homologues entre différentes espèces a permis une analyse de la distance évolutionnaire.

L'étude de l'ARN 16S ribosomal a été exceptionnellement bénéfique à cet égard . Parmi les techniques

1. Les proportions de GC (% de GC) Dans l'ADN, la proportion de GC (% GC) est la quantité de guanine et de cytosine exprimée en pourcents du total des bases azotées : $(\text{guanine} + \text{cytosine}) / (\text{guanine} + \text{cytosine} + \text{adénine} + \text{thymine}) \times 100 \%$ Des valeurs similaires de % de GC ne sont pas nécessairement le signe d'une relation taxinomique étroite, tandis que des valeurs fortement différentes suggèrent l'absence d'une telle relation. Parmi les bactéries, le % de GC varie de 24 à 76 .

2. L'hybridation ADN-ADN Dans cette méthode, l'ADN de deux organismes différents sont comparés en déterminant dans quelle mesure les deux échantillons peuvent s'hybrider (par hybridation, on entend l'appariement des bases, entre brins issus d'organismes différents). Plus grand est le degré d'hybridation, plus étroite est la relation entre les organismes. La méthode convient pour étudier les parentés au niveau de l'espèce. Des organismes dont les ADN montrent $>70 \%$ d'hybridation stable, pourraient être placés dans la même espèce. Les microbiologistes utilisent la taxonomie microbienne. La taxonomie microbienne communément appelée taxonomie procaryotique, la plus largement acceptée est celle du

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, publiée la première fois en 1923 par l'American Society for Microbiology .

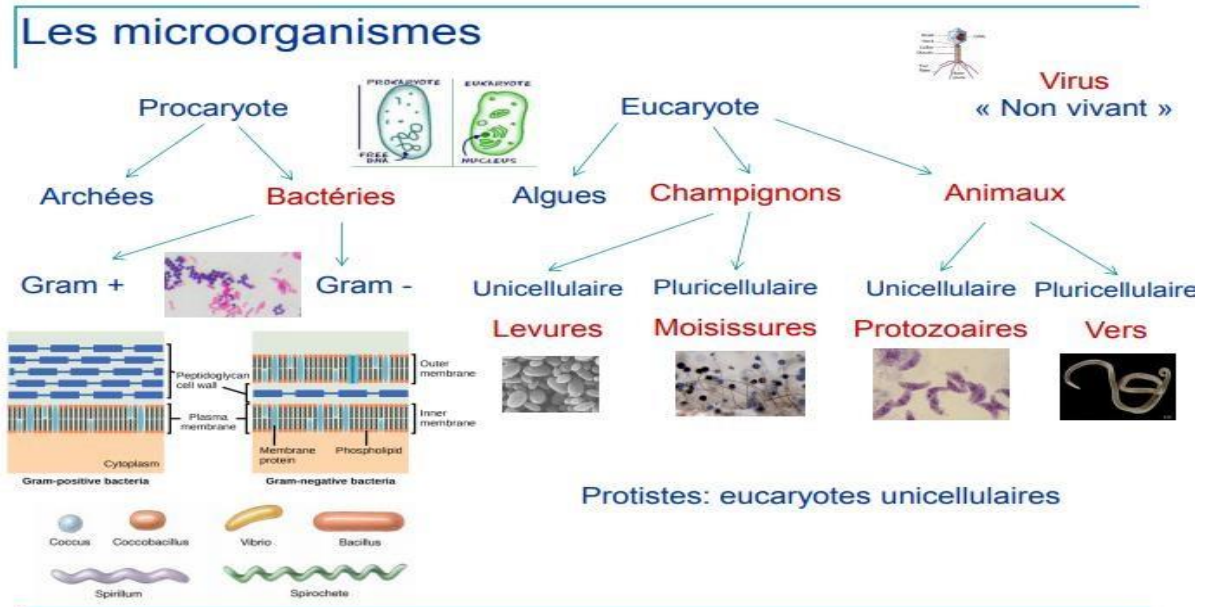


Figure 1: Classification des microorganisms

➤ Les risques au laboratoire de microbiologie

Il est clair que les risques liés à la manipulation de microorganismes, dont l'identité et le pouvoir pathogène sont souvent inconnus dans les premières étapes de leur analyse doivent être parfaitement maîtrisés par des pratiques et un environnement sans défaut. Il faut que le microbiologiste soit toujours conscient des risques liés à la manipulation de bactéries et à un degré moindre de levures et moisissures, en particulier après leur amplification nécessaire à leur étude.

Rappelons qu'une colonie est constituée d'environ 10^9 à 10^{10} cellules et qu'une turbidité appréciable d'un milieu de culture liquide correspond à environ 10^8 cellules par ml. La maîtrise du risque microbiologique passe par la parfaite connaissance :

- des germes manipulés ou recherchés - des voies de "pénétration" de ces germes dans l'organisme - des meilleures méthodes de manipulation pour minimiser ce risque. Les microorganismes sont classés en 4 groupes en fonction des risques potentiels qu'ils représentent.

Le groupe 1 comprend des microorganismes peu dangereux pour le microbiologiste et son environnement. Le groupe 2 correspond à des germes faisant courir des risques modérés aux manipulateurs et des risques limités à la communauté. Le groupe 3 est constitué de microorganismes à haut risque pour le manipulateur et à risque modéré pour la communauté. Le groupe 4 correspond à de microorganismes très dangereux pour le manipulateur et son environnement. Les voies d' infection sont essentiellement :

- buccale (ingestion) : pipetage, porté à la bouche des doigts ou d'objets contaminés comme des cigarettes, des stylos, des aliments etc. Ce type de contamination résulte d'un travail "aseptique" incorrect ou encore de projections, renversements ou actions diverses non contrôlés.

- aérienne (trachée artère, poumons) par des aérosols (particules liquides ou non en suspension dans l'air et porteuses de germes). Ces aérosols peuvent être générés par des opérations classiques (homogénéisateur, centrifugeuse, etc.) et leur pouvoir de contamination est très grand. par contact cutané (Brucella, Staphylococcus ou encore Pseudomonas par exemple) ou au niveau de muqueuses ou d'organes comme les yeux.

- par pénétration sous-cutanée accidentelle (par piqûre ou au niveau d'une plaie) .

II. Rôles et signification des microorganismes dans les aliments

Les aliments sont d'origine végétale et/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...)

II. 1. Sources primaires de microorganismes

II. 1. 1. Sol et eau

bactéries : Achromabacter, Enterobacter , Alcaligenes, Bacillus, Clostridium, Corynebacterium, Micrococcus, Proteus, Pseudomonas, Serratia, Sarcina, Streptomyces , etc..

moisissures : Aspergillus; Rhizopus, Penicillium, Trichothecium, Bothrytis, Fusarium etc...

levures : Saccharomyces , Rhodotorula , Torula etc. souvent associées aux plantes donc dans le sol.

II .1 .2. Plantes et produits dérivés

Le sol et l'eau sont les sources primaires des microorganismes des plantes (cf. ci-dessus) avec en plus des flores spécifiques : bactéries :Acetobacter, Enterobacter, Erwinia, Flavobacterium, Lactobacillus, Leuconostoc, Streptococcus, Paracolobactrum , etc. moisissures :genres responsables de dégradations des fruits et végétaux levures :Saccharomyces, Rhodotorula, Torula, etc...

II .1 .3. Animaux et produits dérivés

Le tractus intestinal de l'homme ou des animaux contient jusqu'à 10^{11} germes par g (gros intestin) : parmi les bactéries les plus fréquentes: Bifidobacterium (Lactobacillus bifidus), Bactéroïdes, Escherichia, Proteus, Salmonella, Shigella, Staphylococcus, Streptococcus, Clostridium, Paracolobactrum, Pseudomonas. Parmi les levures Candida , etc...

Les moisissures ne sont pas transmises par foie fécale. A partir du tractus digestif ces microorganismes se retrouvent souvent dans les eaux et le sol à partir desquels ils contaminent les plantes . Rappelons que la charge microbienne totale d'un homme sain est voisine de 10^{17} à 10^{19} .

La flore microbienne de la peau des animaux ou de la peau des manipulateurs (mains surtout) est fonction de l'environnement (sol, poussière, air, eau etc.) et de l'"hygiène". Les charges microbiennes atteignent facilement des valeurs comprises entre 10^4 et 10^6 par cm^2 . Gaffkya, Sarcina, Staphylococcus sont des hôtes fréquents de la main, du nez et de la bouche.

II.1. 4. Air et poussière

La plupart des bactéries et des moisissures et de très nombreuses levures y sont présentes.

Bactéries : Bacillus, Sarcina, Micrococcus sont fréquentes, moisissures

Torulopsis , etc.

II.1.5. Produits fermentés

Le développement contrôlé d'un ou plusieurs microorganismes dans une matière première donnée d'origine animale (lait, viande) ou végétale (choux, jus de fruit) permet d'obtenir des produits dont les propriétés physico-chimiques sont modifiées (texture, goût, couleur, odeur, pH, etc). De nombreux produits traditionnels sont obtenus après fermentation, la charge microbienne résiduelle étant très grande (lait fermenté) ou relativement faible (boissons fermentées).

Produits traditionnels : laits fermentés, fromages, charcuterie, choucroute, boissons fermentées
Bactéries : Lactobacillus, Streptococcus, Acétobacter, Levures : Saccharomyces et moisissures : Penicillium, Aspergillus dans les phénomènes de succession de flores.

II.1.6. Microorganismes aliments

Il s'agit de microorganismes cultivés le plus souvent sur des substrats issus de l'industrie pétrochimique (Candida, Pseudomonas, Spirulina, etc). Rappelons que Saccharomyces cerevisiae est communément consommé sous forme séchée.

II. 2. Altérations microbiennes des aliments

II .2.1. Contamination “naturelle”

Suivie soit de la mort, de la survie ou de la prolifération des germes. La charge microbienne “normale” de la plupart de nos aliments est de l'ordre de $10^4/g$. Il y a mort quand les microorganismes ne trouvent pas dans l'aliment les conditions nécessaires à leur croissance (composition, conditions d'entreposage, traitements antimicrobiens..).

La survie des microorganismes est liée à des conditions n'engendrant pas la mort mais ne permettant pas la multiplication (composition, froid ...). Il y a prolifération quand les microorganismes trouvent les conditions nécessaires à leur croissance. Dans ce cas généralement défavorable il y a altération de la qualité marchande si les germes sont saprophytes et altération de la qualité sanitaire (et parfois marchande) si les germes sont “pathogènes”. Dans la nature, les proliférations microbiennes par succession de flores ont pour finalité de minéraliser complètement le produit (dans le cas de microorganismes

hétérotrophes). La notion de charge microbienne en relation avec la qualité du produit est fonction de la nature du produit et de la nature du germe présent.

II.2.2. Incidences sur la qualité marchande (modifications des qualités organoleptiques)

La prolifération de microorganismes dans un produit alimentaire se traduit par des modifications des qualités organoleptiques généralement détectables quand le nombre de germes dépasse les 10⁶ par g de produit. Les modifications d'aspect (couleur, limon), de texture ou de flaveur (odeur et saveur) sont souvent défavorables : Pseudomonas, Acinetobacter, Moraxella, Alcaligenes, Aspergillus, Rhizopus, Flavobacterium, Clostridium . Parfois cette prolifération engendre des modifications souhaitées (bière, vin, saucisson, beurre, fromages, yaourt, choucroute).

1) Relations microorganisme / composition de l'aliment

- A partir des glucides de l'aliment (et dérivés) * polymères (amidon, cellulose) : hydrolyse : texture modifiée * dimères et monomères (saccharose, maltose , lactose , glucose , fructose , etc) : fermentations : formation d'acides et de composés carbonylés par exemple : incidence sur le goût et l'arôme .
- A partir des protides de l'aliment (et dérivés) * polymères (protéines) : hydrolyse : texture modifiée * acides aminés : décarboxylation , désamination, désulfuration etc. : modifications du goût, de l'odeur, formation de catabolites toxiques
- A partir des lipides de l'aliment (et dérivés) : oxydation et lipolyse (goût).

2) Modifications de l'odeur

Le développement de microorganismes dans un produit est d'abord détecté par des modifications d'odeurs en raison de la sensibilité de notre système olfactif. Le seuil de détection de composés organiques volatiles se situe en moyenne à 10⁻⁶ - 10⁻⁹ g

1. Une grande partie de l'aliment est transformée en un produit dominant (acide acétique - éthanol) : il peut s'agir d'une altération (aigre...) ou d'une transformation souhaitée. Si le produit est riche en glucides et a un pH > 6 il y a tendance à la fermentation lactique. Si le produit a un pH < 6 et sans O₂, tendance à

la fermentation alcoolique. Cette altération primaire est détectable à partir d'un seuil d'environ 10^8 germes / g.

2. Production d'odeurs caractéristiques liées à des composés organiques volatiles (odeur - goût) ou non (goût). Le seuil de détection de ces composés odorants varie de 10^{-6} à 10^{-12} g (dérivés de la pirazine). ces composés permettent parfois d'identifier les microorganismes qui les ont produits. Les composés odorants produits par les microorganismes sont pour la plupart d'entre eux détectés quand la charge microbienne atteint 10^6 à 10^7 germes/g.

Il n'est généralement pas possible d'attribuer à chaque microorganisme la genèse d'une odeur particulière. Cette production est fonction de la composition d'aliment, de la température, de la souche etc. Néanmoins les moisissures engendrent souvent une odeur de moisi (complexe) ou de rance tandis que les bactéries génèrent des odeurs agréables, fruitées ou désagréables. Pseudomonas : odeur de tilleul (milieux pauvres en matières organiques) Achromobater ou Flavobacterium : odeur de pomme ou de navet (bière)

Bacillus subtilis : odeur de melon pourri Streptomyces : odeur de moisi.

* viandes : un développement microbien en surface se traduit par une odeur de relent à partir de 10^7 germes/g quand l'entreposage est réalisé à 10°C et d'une odeur ammoniacale et d' H_2S quand l'entreposage est réalisé à température ambiante : on parle alors de putréfaction qui est un phénomène parfois recherché (faisandage).

* poissons : la putréfaction génère des odeurs ammoniacales (formation de triméthylamine, de mercaptan, de diméthylsulfure, H_2S etc...). Chez le maquereau il existe par exemple 2 phases : la première correspond à la production d'acide lactique (aigre) et la deuxième à la genèse des odeurs ammoniacales.

* fromages : Cl. butyricum synthétise de l'acide butyrique à odeur désagréable caractéristique. Une odeur ammoniacale survient après protéolyse.

3) Modifications du goût

Elles sont liées à la présence de composés volatils ou non. La plus fréquente correspond à une acidification liée à la production d'acide lactique. Divers qualificatifs sont utilisés par

décrire cette transformation : piqûre, aigrissement, sùrissement... Cette modification est favorable avec certains produits (fromages, choucroute, saucisson)

Certains des goûts liés à quelques microorganismes sont décrits ci-après : Goût de noisette : *Leuconostoc citrovorum* : diacétyle : beurre. Ce même microorganisme induit un goût de margarine dans les jus d'agrumes Rancissement : *Pseudomonas* Goût de malt : levures dans le lait Goût caramélisé :

4) Modifications de l'aspect et de la couleur

Ces modifications sont chronologiquement détectables visuellement bien après l'apparition d'odeurs. Dans une première phase il s'agit de petites zones qui présentent des caractéristiques variables quant à leur forme (rondes, plates, bombées, irrégulières...). Leur aspect (opaque, mat, brillant, rugueux...) et/ou leur couleur (blanc, noir, jaune, rouge...) sont multiples. Ces zones sont constituées de bactéries, levures et de sécrétions muqueuses qui s'étendent à la surface de l'aliment et forment un revêtement souvent gluant, visqueux et poisseux : cette phase est qualifiée de poissage. La prolifération de moisissures est caractérisée par la formation de zones colorées à évolution centrifuge. Ces zones peuvent présenter des aspects variés (feutrage, taches rugueuses...). Les modifications de couleur résultent d'un ou plusieurs phénomènes :

- synthèse d'un ou plusieurs pigments par le microorganisme. Toutes les couleurs sont possibles (blanc - noir - bleu - vert - jaune - rouge..). Les genres producteurs de pigments les plus souvent rencontrés sont : *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Serratia*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Rhodotorula*.
- transformation d'un pigment endogène à l'aliment .Oxydation du carotène (perte de la couleur orange de nombreux produits végétaux) , modifications de la myoglobine (dérivés nombreux de couleur marron à vert).
- destructions cellulaires mettant en contact enzyme et substrat (PPO-quinone). Ce phénomène est courant chez les produits végétaux.
- production d'un composant réactif et chromogène (H_2S générant des sulfures divers noirs) .

5) Structure et texture

La structure d'un produit alimentaire est liée à la présence de macromolécules comme les pectines, celluloses, hémicelluloses (amidon et protéines) chez les produits végétaux et les protéines chez les produits animaux . Si les microorganismes contaminants synthétisent et excrètent des hydrolases (pectinases, protéases etc...) un ramollissement apparaît. Pour un germe donné, ce ramollissement est d'autant plus grand que la charge microbienne est élevée :

- * Phénomène recherché (faisandage par protéolyse; éclaircissement des jus de fruits par pectinases)
- * Phénomène défavorable : pertes de forme etc... La production de gaz (CO₂ le plus souvent) induit la formation de fissures ou de bulles et altère les emballages. La synthèse de polymères (dextranes à partir de saccharose avec *Leuconostoc*) augmente la viscosité de certains sirops ou jus.

6) Modification de la valeur alimentaire

Dans le cas de produits obtenus par fermentation, la structure, les qualités hygiéniques, organoleptiques et nutritionnelles sont actuellement bien contrôlées. Les microorganismes intervenant dans ces processus consomment des molécules à valeur énergétique élevée et la valeur calorique des produits fermentés est donc généralement inférieure à celle du produit initial.

II.3. Principaux paramètres de contrôle de la prolifération microbienne dans nos aliments

De nombreuses caractéristiques physicochimiques de l'aliment et de son environnement conditionnent le développement des microorganismes.

II. 3.1. Caractères propres à l'aliment

II.3. 1. 1. Structures biologiques

La présence d'enveloppes, coques, peaux etc. confère à certains aliments une excellente protection contre la prolifération microbienne (testas des graines, enveloppes des fruits,

coquilles des noix, des oeufs, peau des animaux, etc.) L'altération de ces protections naturelles se traduit souvent par une contamination / prolifération. Les emballages ont pour but principal de protéger l'aliment stabilisé ou non de la contamination .Il faut signaler qu'il existe des emballages comestibles.

II. 3. 1. 2. Agents antimicrobiens naturellement présents

Le lait frais contient des lacténines et des facteurs anti-coliformes à activité limitée dans le temps. L'oeuf contient du lysozyme actif sur des germes à Gram positif. Les airelles 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.

II .3. 1. 3. Composition chimique de l'aliment

Pour proliférer, les microorganismes doivent trouver dans l'aliment des substances nutritives. 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.

II. 3. 1. 4 . pH

Pour un microorganisme donné, la vitesse de croissance en fonction du pH passe par un optimum (figure 2). Ce sont souvent des activités enzymatiques sensibles au pH qui sont les facteurs limitants de la croissance microbienne. Ainsi, c'est indirectement la conformation que prennent les protéines dans un milieu à un pH donné qui est responsable de l'expression de l'activité de ces molécules. Si à un pH donné, la conformation est telle que la macromolécule n'ait plus aucune activité, la croissance s'arrêtera si l'activité de cette macromolécule est indispensable à la vie du microorganisme. Par rapport au pH il est habituel de considérer deux groupes d'aliments : ceux dont le pH est inférieur à 4,5 et ceux dont le pH est supérieur à 4,5. Dans la première catégorie les microorganismes

dangereux ne se multiplient généralement pas et *Clostridium botulinum* n'élabore pas sa toxine.

L'acidophilie est une propriété que l'on rencontre surtout chez les levures, les moisissures et chez certaines bactéries qui sont classées en fonction de la nature de l'acide qu'elles produisent (bactéries acétiques, lactiques, propioniques, ...)

Dans les aliments dont le pH est compris entre 4,5 et 9,5, de nombreuses altérations sont susceptibles de se produire et la plupart des bactéries pathogènes cultivent dans ces conditions.

Le pH des aliments est parfois évolutif (transformation du glycogène en acide lactique au cours de la rigor mortis, niveau de maturité des légumes et fruits ...) et peut ainsi varier de plusieurs unités.

II.3.1 .5 . Activité de l'eau

Les microorganismes ont besoin, pour se multiplier, d'eau disponible ; la disponibilité de l'eau est caractérisée par son activité. Ce paramètre correspond au rapport de pression partielle de l'eau dans l'aliment à celle de l'eau pure (aux coefficients d'activité près) :

$$A_{\text{eau}} = \frac{P_{\text{eau aliment}}}{P_{\text{eau pure}}}$$

L' a_{eau} varie entre 0 et 1.

L'humidité relative H.R. est égale à l' $a_{\text{eau}} \cdot 100$.

Les microorganismes capables de se développer dans des produits à faible a_{eau} sont qualifiés de xérophiles, ceux en milieux fortement sucrés ou salés respectivement d'osmophiles et de halophiles. Les moyens d'abaisser l'activité de l'eau sont nombreux :

- physiques (congélation, déshydratation)

Les microorganismes capables de se développer dans des produits à faible a_{eau} sont qualifiés de xérophiles, ceux en milieu fortement sucrés ou salés respectivement d'osmophiles et de halophiles.

Les moyens d'abaisser l'activité de l'eau sont nombreux :

- physiques (congélation, déshydratation)
- additifs (salage, sucrage..)

Ils conduisent respectivement à des aliments congelés, séchés, aux salaisons et saumures, confitures et bonbons.

Pour $a_w < 0,65$ aucun microorganisme ne peut cultiver (ils peuvent survivre).

Pour $a_w < 0,85$ aucun microorganisme pathogène ne peut cultiver exception faite de certaines moisissures excrétrices de mycotoxines.

II. 3.1.6. Potentiel d'oxydo-réduction

Selon leur mode de respiration, les microorganismes sont soit aérobies stricts, soit anaérobies stricts, soit aéro-anaérobies, soit micro-aérophiles ...

Ces propriétés expliquent la diversité des altérations que l'on peut rencontrer :

- les moisissures et les levures aérobies strictes se développent en surface en formant des voiles plus ou moins épais
- les levures se multiplient en profondeur avec production de gaz
- les Clostridium ne se développent qu'en absence d'oxygène (masse, conserve..)
- les Pseudomonas ne se développent qu'en présence d'oxygène (surface)
- les Lactobacillus microaérophiles ne se développent qu'à une teneur réduite en oxygène.

Dans les aliments, on peut considérer la présence ou l'absence d'oxygène comme un paramètre fondamental vis à vis des microorganismes

Certains composés qualifiés de réducteurs contribuent à l'obtention de faibles valeurs de E ; il s'agit de l'acide ascorbique, de la cystéine ou encore du glucose.

Les jus de plantes ont des valeurs de E comprises entre +300 et +400 mV

La viande en morceau possède un E voisin de - 200 mV, la viande hachée de + 200 mV.

Après l'abattage la viande a un E de l'ordre de + 250 mV qui après 30 heures devient égal à -150 mV.

Les fromages ont un E compris entre - 20 et - 200 mV

Les Clostridium ne se développent qu'en dessous de -36 m

II.3.2. Paramètres externes à l'aliment

Ces paramètres sont intimement 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.

II. 3.2 .1. Température

Généralement un type de bactérie donné croit plus rapidement à une certaine température : Température optimale de croissance. La vitesse de croissance se réduit lorsque la température s'écarte de cet optimum. Pour toutes bactéries, il y a une température maximum et une température minimum au-delà desquelles la croissance s'arrête.

On distingue différent cas (figure 2).

Les microorganismes psychrophiles (ou psychrotrophes) sont capables de se développer en dessous de 15-20 °C, y compris pour certains jusqu'à des températures négatives. Il existe des psychrophiles facultatifs et d'autres obligatoires (psychrophiles strict) : ces derniers ne sont en général pas capables de se développer à 20 °C. On trouve parmi les psychrophiles facultatifs de nombreuses bactéries de la flore Gram- saprophyte (Achromobacter, Flavobacterium, Pseudomonas, etc.) et des germes pathogènes (Listeria, Yersinia), des moisissures (Cladosporium, Sporotrichum, etc). Les mésophiles comprennent la majorité des micro-organismes qui se développent entre 15 et 45 °C.

Les thermophiles sont capables de se développer au-dessus de 45 °C et les thermophiles extrêmes jusqu'à 75-80 °C et même au-dessus. Parmi les micro-organismes thermophile :

des bactéries lactique (*Lactobacillus thermobacterium*, *Streptococcus thermophilus*), et des sporulées (*Clostridium* spp., *Bacillus* spp.)

L'action de la température intervient à plusieurs niveaux : l'activation du métabolisme selon la Loi d'Arrhénius , le stress thermique et la dénaturation des constituants cellulaires. Le froid ralentit et bloque le métabolisme microbien, sans habituellement tuer les cellules, cependant la congélation (surtout lorsqu'elle est lente) peut entraîner une forte mortalité. La température intervient aussi sur les transferts physiques.

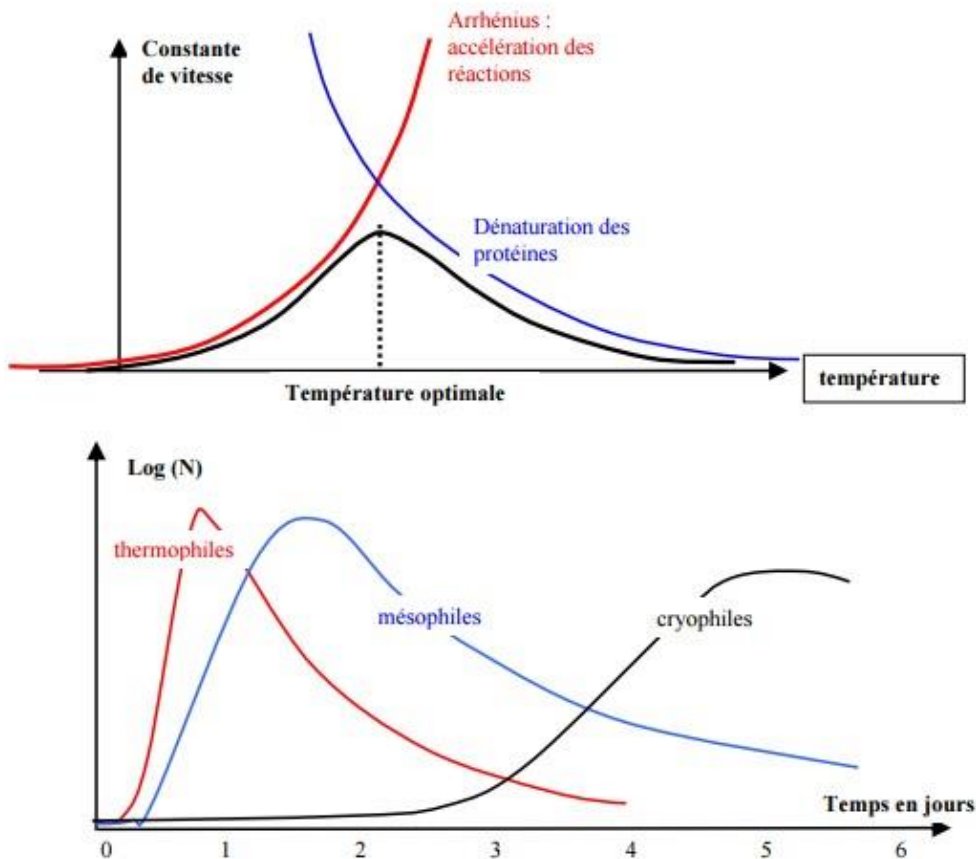


Figure 2 : Paramètres Externes à l'aliments