

Sécurité microbiologique des aliments

I - INTRODUCTION

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.

L'innocuité d'un aliment correspond à une qualité seuil et la norme zéro défaut doit être atteinte pour certains systèmes aliment-microorganisme en particulier à partir du moment où la présence du microorganisme dans le produit risque d'avoir une incidence défavorable et parfois très grave sur la santé du consommateur.

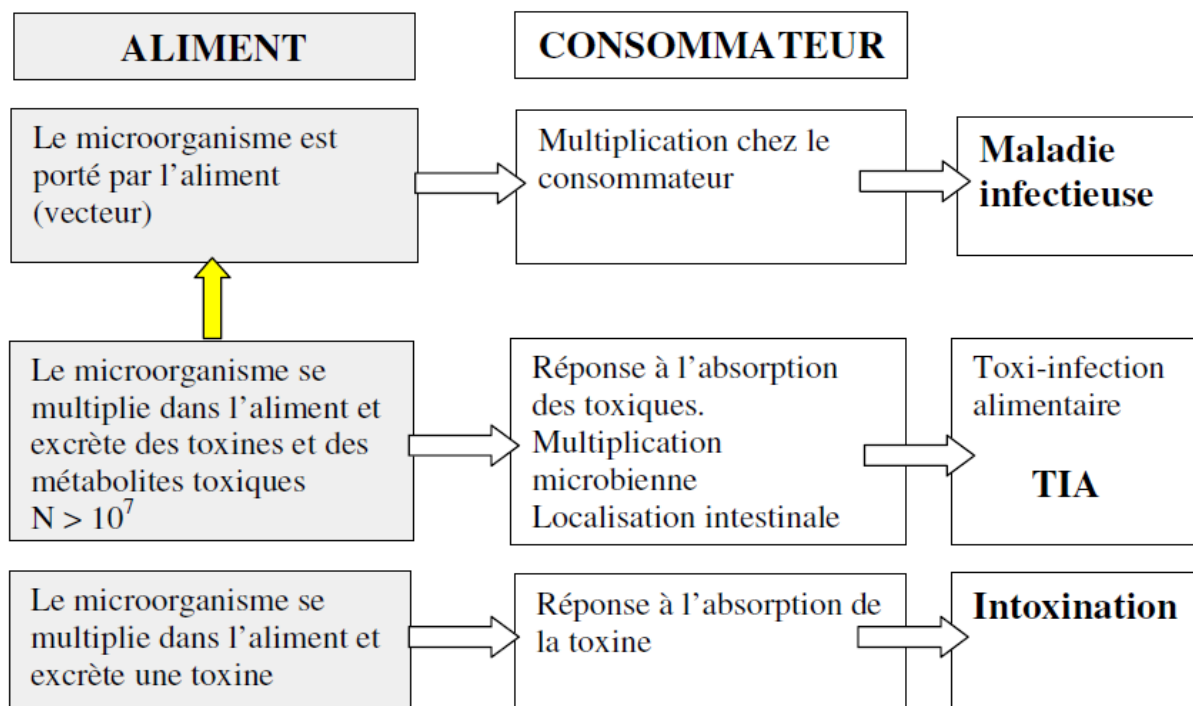
Toutefois, tendre vers la consommation d'aliments stériles est probablement très défavorable pour l'humain qui deviendrait plus sensible aux maladies s'il n'est pas continuellement en contact avec un certain nombre de germes pathogènes. En effet ces germes induisent et stimulent des mécanismes de défense.

Dans son approche actuelle, la microbiologie alimentaire apparaît au premier abord comme une démarche simpliste. En effet, vérifier la conformité à des critères microbiologiques par l'étude de groupes mal définis au plan taxonomique comme la flore aérobie mésophile, les coliformes, les anaérobies sulfito-réducteurs est une opération apparemment facile à effectuer.

II- principe de la toxi-infection

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

Chaque système **aliment / microorganisme / consommateur** est particulier. Néanmoins il est possible de schématiser les principales interactions susceptibles de se produire de la façon suivante:



Parmi les **maladies infectieuses** d'origine alimentaire, les plus fréquemment rencontrées résultent de l'ingestion des microorganismes appartenant aux genres *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria*, *Brucella*, *Mycobacterium*, *Escherichia*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *Yersinia*, *Vibrio* et de l'ingestion de virus.

Ces microorganismes se comportent vis-à-vis de l'organisme comme des parasites et se multiplient en utilisant des composants de l'organisme comme nutriments.

Les **toxi-infections** sont produites par de très nombreux germes et correspondent à l'ingestion d'un produit alimentaire dans lequel la prolifération des microorganismes atteint 10^6 à 10^7 par gramme.

Les **intoxinations** résultent de l'ingestion d'une toxine préformée dans l'aliment. Il s'agit essentiellement des intoxications botuliniques, staphylococciques et à *Bacillus cereus*. Les microorganismes synthétisent ces toxines de nature protéique au cours de la phase exponentielle de croissance (*C. botulinum*) ou en fin de cette phase (*S. aureus*).

Toxi-infection: ingestion massive de bactéries et de toxines dans l'aliment

Intoxication: ingestion de toxine bactérienne (la bactérie pouvant être tuée)

Intoxication: aliment dégradé, par des bactéries, en catabolites toxiques

Infection: ingestion de bactéries (ou virus) qui se multiplient in vivo

Toxi-infection alimentaire collective (TIAC)

Une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) est définie comme l'apparition chez au moins deux cas groupés, d'une symptomatologie similaire, le plus souvent de type gastro-intestinal dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire. De multiples microorganismes (bactéries, virus, parasites) ou leurs toxines sont susceptibles de contaminer les denrées alimentaires et d'engendrer diverses pathologies. Les mesures mises en œuvre par les autorités sanitaires ont permis une diminution importante du nombre de toxi-infections liées à l'alimentation (ex. : salmonelles, *Listeria*, ...). Il convient toutefois de rester vigilant car le risque de contamination des aliments peut survenir à n'importe quelle étape du processus alimentaire, de la fourche à la fourchette, et, à cet égard, si les TIAC sont généralement bénignes, le caractère épidémique de ces dernières peut avoir un impact non négligeable en termes de santé publique.

II-1- Toxicité d'origine bactérienne et d'autres microorganismes

Agents bactériens					
Pathogène	Symptômes	Incubation	Sources (aliments à risque)	Contagiosité	Points d'attention
<i>Campylobacter jejuni</i> et <i>coli</i>	Prodromes : fièvre qui peut atteindre rapidement 40°C, maux de tête et myalgies. Durée : 1 à 7 jours. Symptômes : nausées et crampes abdominales typiques localisées dans la région péri-ombilicale, selles liquides et abondantes (parfois sanguinolentes). Durée : 7 à 10 jours.	De 1 à 10 jours et habituellement de 2 à 5 jours.	Volaille, viande de bœuf ou de porc peu ou mal cuites ; Lait cru ; Eau contaminée.	Pendant la période symptomatique et peut persister de 2 à 7 semaines chez les patients non traités ; Faible ; La transmission interhumaine est inhabituelle.	Le plus souvent sporadique avec tendance saisonnière (pic en été).
<i>E. coli</i> producteur de shiga-toxines (STEC)	Diarrhée aqueuse suivie de diarrhée sanguinolente accompagnée de crampes abdominales sévères mais peu ou pas de fièvre. Durée : une semaine ou plus. Pathogène responsable du syndrome hémolytique et urémique (SHU).	De 1 à 10 jours et habituellement de 3 à 4 jours.	Haché de bœuf insuffisamment cuit ; Fruits et légumes crus, y compris les graines germées ; Des produits d'origine végétale non pasteurisés (ex. : jus de pomme), lait cru, fromage au lait cru.	Une personne infectée peut excréter le pathogène dans les selles pendant plusieurs semaines.	Transmission interhumaine possible mais peu fréquente à cause de la dose infectieuse élevée.
<i>E. coli</i> autres	Crampes d'estomac, diarrhée, vomissements, fièvre < 38,5°. Durée : environ 5 jours.	De quelques heures à plusieurs jours.	Haché de bœuf insuffisamment cuit ; Fruits et légumes crus, y compris les graines germées ; Lait cru, fromage au lait cru.	Le plus souvent au cours de la période symptomatique. Parfois plus longtemps, surtout chez les enfants.	Aussi par contact direct avec des animaux.

Agents bactériens (suite)					
Pathogène	Symptômes	Incubation	Sources (aliments à risque)	Contagiosité	Points d'attention
<i>Listeria monocytogenes</i>	Forme légère : Etat grippal, diarrhée et crampes abdominales ; Forme invasive chez les adultes et nouveau-nés sous forme de septicémie, méningo-encéphalite ;	Forme légère : 6h à 10 jours Forme invasive : De 2 à 70 jours.	Fromage au lait cru + produits préparés à base de lait cru, saumon fumé, charcuterie (ex. : pâté, salami, jambon, ...), crèmes glacées, beurre.	Une personne infectée peut excréter le pathogène dans les selles pendant plusieurs mois.	Le plus souvent sous forme sporadique mais épidémie possible. Complication : Cause d'avortement spontané chez la femme enceinte.
<i>Salmonella</i>	Diarrhée, forte fièvre accompagnée de frissons et maux de tête, douleurs abdominales, vomissements. Durée : 2 à 3 jours, parfois plus.	De 6 à 72 h et habituellement de 12 à 36 h.	Œufs et préparations à base d'œufs non ou peu cuits. Viande insuffisamment cuite, dont volaille et porc. Poissons ou fruits de mer peu cuits. Aliments préparés souillés et mal conservés.	Plusieurs jours à plusieurs semaines. Portage temporaire (plusieurs mois à un an) possible surtout chez les enfants de <5 ans (5%).	Non-respect de la chaîne du froid ; Cuisson insuffisante.
<i>Salmonella Typhi</i>	Fièvre élevée, asthénie, céphalées, insomnie, symptômes digestifs sont inconstants (diarrhée ou constipation).	De 1 à 2 semaines.	Le plus souvent par absorption d'aliments souillés par un porteur. Par ingestion d'eau, de coquillages, de fruits de mer ou de légumes crus contaminés.	De la première semaine de la maladie à la convalescence.	Portage chronique (>6 mois) : 2 à 5%. Taux de mortalité des formes graves en absence de traitement : 10%. Complications : digestives, myocardiques ou neurologiques possibles.

Agents bactériens (suite)					
Pathogène	Symptômes	Incubation	Sources (aliments à risque)	Contagiosité	Points d'attention
<i>Shigella</i>	Diarrhée peu abondante, le plus souvent sanguinolente et glaireuse accompagnée de fièvre, nausées, vomissements, ténésme et de douleurs abdominales.	De 1 à 7 jours et habituellement de 1 à 3 jours.	Transmission féco-orale directe ou indirecte (tout produit de consommation manipulé par l'homme).	Pendant la phase symptomatique et jusqu'à 4 semaines après l'infection. Un porteur asymptomatique peut aussi transmettre le pathogène.	La présentation clinique varie selon la dose et l'espèce ingérée. Il existe un risque de convulsions chez les enfants et d'arthropathie réactive chez les adultes (syndrome de Reiter).
<i>Vibrio cholerae</i>	Diarrhées légères à modérées, avec ou sans vomissement. Dans les cas les plus graves : crampes aux jambes, nausées, vomissements et diarrhées aqueuses profuses qui peuvent provoquer une déshydratation grave et même la mort en absence de traitement.	De 1 à 5 jours.	Ingestion d'aliments insuffisamment cuits, fruits de mer ou poissons crus ; Eau contaminée.	Environ 75% des sujets infectés sont sans symptôme alors que le bacille reste présent dans les selles de 7 à 14 jours après l'infection. Excrété dans l'environnement, il peut potentiellement infecter d'autres personnes.	Liée au voyage dans des régions où les eaux usées et l'eau potable ne sont pas adéquatement traitées. Risque de présentation sous forme de TIAC très faible en Belgique.
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Diarrhée aqueuse ou muco-purulente parfois accompagnée de fièvre, céphalées, vomissements, ténésme. Les adultes peuvent présenter un syndrome pseudo-appendiculaire. Durée : 2-3 semaines.	De 3 à 7 jours.	Aliments peu ou mal cuits (porc, mouton) ; Produits laitiers contaminés ; Contamination de l'eau également possible.	Aussi longtemps que les symptômes sont présents. Les personnes non traitées peuvent excréter le germe pendant 2-3 mois.	Complications possibles: arthrite réactionnelle et érythème noueux (10% des adultes, surtout les femmes).

Agents bactériens produisant des toxines					
Pathogène	Symptômes	Incubation	Sources (aliments à risque)	Contagiosité	Points d'attention
<i>Bacillus cereus</i>	<u>Forme émetique</u> : nausées et vomissements, parfois diarrhée. <u>Forme diarrhéique</u> : diarrhée, ténésme et crampes, parfois vomissements. <u>Durée</u> : 24 à 48 h. <i>B. cereus</i> peut aussi être responsable d'infections invasives comme bactériémie, méningite, pneumonie, endocardite, ...	<u>Émetique</u> : de 1 à 5 h (toxine préformée dans l'aliment) ; <u>Diarrhéique</u> : de 8 à 24 h.	<u>Émetique</u> : Céréales, riz, pâtes alimentaires (produits riches en amidon), plats préparés à base de pommes de terre. <u>Diarrhéique</u> : Produits laitiers, légumes, viandes.	<i>B. cereus</i> forme des spores et se propage facilement; en milieu hospitalier, notamment par contact avec de la literie contaminée.	Entre 22 et 37°C, il faut 12 h à <i>B. cereus</i> pour atteindre une dose infectante ; Les toxines sont parfois résistantes à la chaleur (souches de type B).
<i>Clostridium botulinum</i>	Expression clinique variable : Vision trouble ou diplopie, sécheresse bouche, gorge, faiblesse, dysphagie et difficulté d'élocution, maux de tête, nausées, vomissements, douleur abdominale, paralysie partant des épaules et des bras et progressant vers le bas du corps. Paralysie des muscles respiratoires et insuffisance respiratoire ou cardiaque pouvant entraîner le décès. <u>Durée</u> : plusieurs semaines.	De 2 heures à 8 jours, habituellement de 12 à 48 h.	Aliments peu acides (ex. : maïs, haricots verts, pois, sauce à spaghetti, saumon) dont la mise en conserve domestique a été inadéquate. Jus de fruits peu acides (ex. : jus de carotte) dont la conservation est inadéquate. Le miel, qui a été associé au botulisme infantile ne devrait pas être servi aux enfants âgés de moins d'un an.	Pas de personne à personne.	Urgence médicale : Si la maladie n'est pas diagnostiquée et traitée, le décès survient entre 24 heures et 10 jours ; Souvent cas groupés dans un contexte familial.
<i>Clostridium perfringens</i>	Crampes abdominales soudaines accompagnées de diarrhée et de nausées. Généralement pas de vomissements ni de fièvre. Bénin et de courte durée (<24h).	De 8 à 24 h, habituellement de 10 à 12h	Aliments refroidis trop lentement, plats préparés, principalement à base de viande.	Pas de personne à personne.	Non-respect de la chaîne du froid. Toxines libérées dans l'intestin.

Agents bactériens produisant des toxines (suite)					
Pathogène	Symptômes	Incubation	Sources (aliments à risque)	Contagiosité	Points d'attention
<i>Staphylococcus aureus</i>	Apparition brutale de nausées, de vomissements, de douleurs abdominales, de crampes et de diarrhée. Les symptômes disparaissent habituellement après 24 heures.	De 30 minutes à 8 heures, habituellement de 2 à 4 h.	Portage humain. Toxine préformée dans un aliment contaminé. Tout aliment incorrectement manipulé ou préparé (ex. : pâtisseries, plats préparés, salades composées, ...).	Pas de personne à personne.	Non-respect des règles d'hygiène au cours de la préparation ; Non-respect de la chaîne du froid ; Plats préparés à l'avance.
Agents viraux					
Hépatite A	Forme ictérique : ictère, fièvre, anorexie, perte de poids, prurit, arthralgies, décoloration des selles, urines foncées. Forme anictérique ou symptomatiques.	De 15 à 50 jours, moyenne de 28 jours.	Transmission féco-orale directe (ex. : lors du change d'un enfant malade) ou indirecte (ex. : poignée de porte contaminée). Par de l'eau ou des aliments contaminés : crustacés, mollusques, fruits, salades, ... tout aliment manipulé improprement.	A partir de 2 à 4 semaines avant l'apparition de l'ictère et jusqu'à la disparition des symptômes cliniques.	Voir fiche spécifique.
Norovirus	Diarrhée soudaine, nausées, vomissements et crampes abdominales ; Parfois associée à des céphalées, faible fièvre ; Durée de 24 à 72 h.	De 12 à 48 h.	Transmission féco-orale directe (ex. : lors du change d'un enfant malade) ou indirecte (ex. : poignée de porte contaminée). Par de l'eau ou des aliments contaminés surtout crustacés, mollusques, ...	Forte contagiosité dès le début des symptômes et jusqu'à 3 jours au moins après rétablissement, parfois jusqu'à 2 semaines.	Cause la plus fréquente des gastro-entérites épidémiques.

Parasites					
Pathogène	Symptômes	Incubation	Sources (aliments à risque)	Contagiosité	Points d'attention
<i>Cryptosporidium</i> <i>Giardia</i>	Le plus souvent asymptomatiques. Quand symptômes : nausées, sensation de froid, faible fièvre, douleur épigastrique, diarrhée aqueuse soudaine, souvent explosive. La plupart des cas seront spontanément résolutifs en six semaines.	De 6 à 16 jours.	Principalement par l'eau contaminée.	Les kystes infectieux sont excrétés en grand nombre dans les selles des sujets infectés et peuvent contaminer les mains, l'eau potable, l'eau des piscines. L'excrétion peut persister plusieurs mois.	
<i>Cyclospora</i>	Diarrhée (aqueuse, parfois explosive), perte d'appétit, perte de poids, crampes et ballonnement abdominaux, accroissement de la flatulence, nausée, fatigue. Durée : quelques jours à plusieurs semaines.	7 jours.	Au cours de la culture, de la récolte ou de l'emballage ; Lors de la manutention des aliments infectés au cours de l'emballage et du transport ; Par de l'eau d'irrigation ou du robinet contaminée ; Aliments contaminés crus ou légèrement cuits (ex. : fruits et légumes frais – basilic, mûres, framboises).	Pas de personne à personne.	<i>Cyclospora</i> est un parasite microscopique présent à l'état naturel dans les intestins des êtres humains.

Autres					
Pathogène	Symptômes	Incubation	Sources (aliments à risque)	Contagiosité	Points d'attention
Histamine	Réaction de type allergique à des concentrations élevées d'histamine : rougeurs faciales, œdème du visage, nausées, vomissements, diarrhée, goût de poivre dans la bouche, sensation de brûlure dans la gorge, démangeaisons, picotements, ... Durée : quelques heures.	De quelques minutes à quelques heures (2 h).	Thon, anchois, maquereaux, hareng, sardines ; Rarement fromage, volaille.	Pas de personne à personne.	Les signes digestifs sont absents ou très modérés ; Susceptibilité individuelle variable.
Autres	Toxines marines, métaux lourds, glutamate, champignons, ... sont autant de substances pouvant provoquer des symptômes gastro-intestinaux associés à des symptômes spécifiques (ex. : troubles du système nerveux). Ces intoxications peuvent survenir de manière sporadique mais aussi collective.				

II-2- Les mycotoxines

Les mycotoxines de structure chimique très variée sont des exotoxines produites par des champignons inférieurs quand les conditions de croissance sont satisfaites en particulier l'**aeau**, le **pH** et la **température**.

Non contagieuses, elles ne provoquent pas de réaction immunologique chez les malades. Une espèce de moisissure donnée peut synthétiser plusieurs mycotoxines et une mycotoxine donnée peut être synthétisée par plusieurs espèces ou genres de champignons. Par ailleurs, la production de la toxine dépend aussi de la souche. Il existe ainsi des souches toxigènes et d'autres non (60 % des *Aspergillus flavus* sont non toxigènes).

A l'heure actuelle plus de 150 mycotoxines ont été identifiées.

Les mycotoxicoses peuvent être classées selon leur cause (classification étiologique) ou selon leurs syndrômes (classification nosologique). On connaît des hépatotoxicoes, des néphrotoxicoses, des neurotoxicoses, des dermatotoxicoes etc. Il existe aussi des toxines à activité oestrogène ou photosensibilisantes ou encore abortives.

Le métabolisme primaire des moisissures est identique à celui des autres êtres vivants tandis que leur métabolisme secondaire très important et très varié dépend de la souche considérée, ce qui conduit à une grande diversité de mycotoxines.

Les différentes voies de la biosynthèse des mycotoxines sont extrêmement nombreuses. La voie des polycétoacides reste cependant la plus commune.

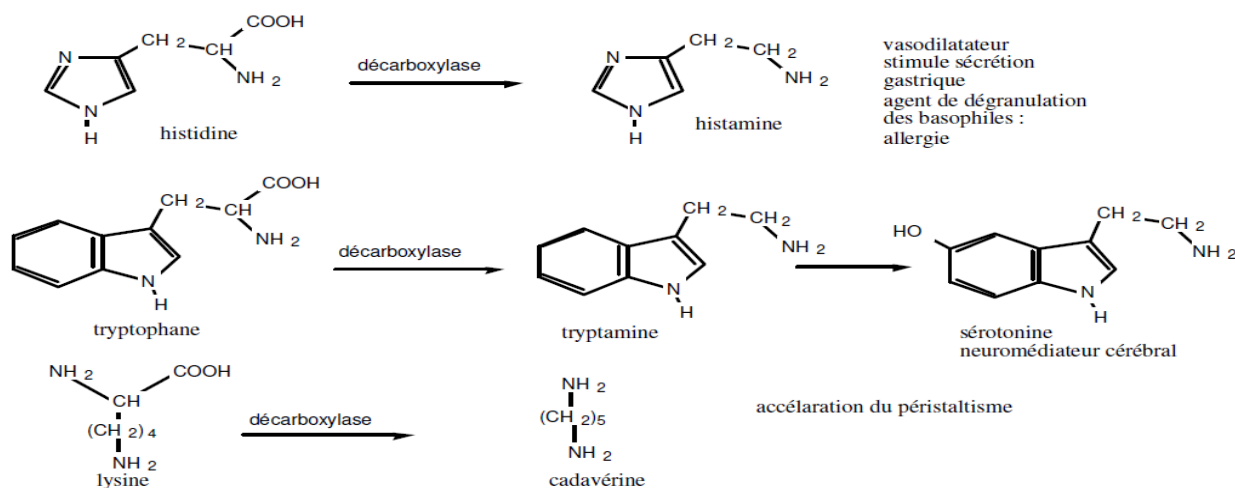
Il est possible de classer les mycotoxines selon la structure de laquelle elles dérivent:

- dérivés du glucose: acide kojique
- dérivés d'acides aminés: acide aspergillique (leu, ile), fumitremorgènes (trp, pro), gliotoxine (phe, ser), roquefortine (trp, his), slafranine (lys), sporidesmines (trp, ala, cys)
- dérivés d'acides aminés et de mévalonate: ergotamine, acide cyclopiazonique
- dérivés des polycétoacides: aflatoxines, acide pénicillique, citrinine, patuline, rubratoxines, stérigmatocystines, zéaralénone
- dérivés des polycétoacides et d'acides aminés: ochratoxine A, cytochalasanase, érythroscyrine
- dérivés des terpènes (voie de l'acétate via le mévalonate): trichothécènes

Les aflatoxines – Historique et Structure

La découverte de la plupart des mycotoxines date des années 60. Ainsi la découverte de l'**aflatoxine** en 1960 en Angleterre est le résultat de l'enquête liée à la mort de 100 000 dindes ayant consommé des graines d'arachide importées d'Afrique. Des aliments soupçonnés fut isolé *Aspergillus flavus* et la toxine produite par le microorganisme a été appelée **A(spergillus) fla(vus) toxine**.

Quatre principales toxines sont actuellement décrites (B1, B2, G1, G2), et certains de leurs dérivés possédant encore un pouvoir toxique se retrouvent dans des produits comme le lait d'animaux ayant consommé des végétaux contaminés (aflatoxines M1 et M2 par exemple).



Il s'agit de coumarines substituées qui sont **hépatocarcinogènes**. Leur toxicité est plus grande chez les mâles que chez les femelles et les effets sont plus importants dans le cas de sous alimentation protéique.

Chez le rat mâle la DL50 est, en toxicité aigüe, de 10 mg par kg.

Les effets carcinogéniques résultent d'un effet sur l'ADN (molécules intercalantes) et d'un turn-over hépatique extrêmement lent, ce qui se traduit par une accumulation dans le temps avec, à un moment donné, atteinte d'un seuil déclenchant.

Stabilité et Inactivation

Ces molécules sont insensibles à l'ébullition et un autoclavage de 4 heures à 121°C réduit mais ne détruit pas leur nocivité.

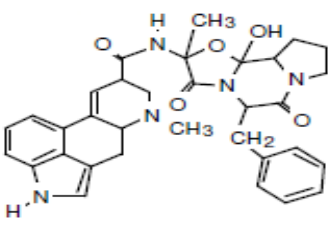
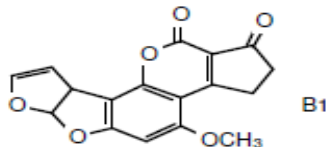
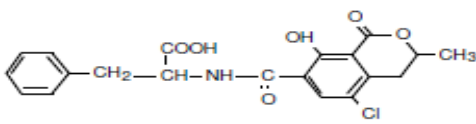
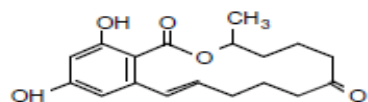
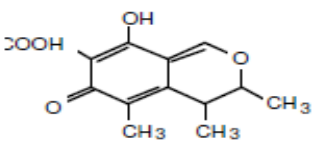
L'hypochlorite de sodium à 5% et les agents oxydants sont à utiliser pour décontaminer les équipements de laboratoire ou industriels. Les traitements alcalins (NH₃ sous pression par exemple) permettent d'inactiver ces toxines par ouverture du pont lactone, les dérivés formés n'étant plus hépatocarcinogènes.

Production

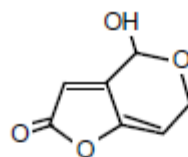
La toxine peut être produite par *Aspergillus flavus* ou *A. parasiticus* dans des graines (riz, soja, coton, arachide, blé, etc.) et dans les produits dont la teneur en eau est supérieure à 15-17% (eau supérieure à 0,75). Sa teneur est généralement inférieure à 5 µg / kg, mais il n'est pas rare de trouver des graines dont la teneur est voisine ou supérieure à 100 µg/kg.

Ces aflatoxines, comme la plupart des autres mycotoxines, sont analysables, après extraction par des solvants, en une dizaine de minutes par HPLC sur des phases stationnaires du type C18 ou par ELISA.

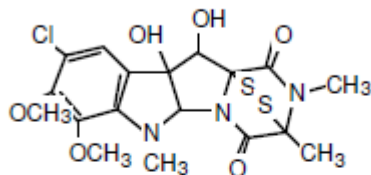
Les principales mycotoxines susceptibles d'être présentes dans les aliments sont indiquées dans le tableau ci-après.

Mycotoxine	Moisissures responsables	Aliment	Syndrômes	formule chimique
Ergotamine	<i>Claviceps purpurea</i>	seigle	gangrène des extrémités	
Aflatoxines	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. parasiticus</i>	arachide céréales	syndrômes hépatiques	
Ochratoxines	<i>A. ochraceus</i> <i>P. viridicatum</i>	maïs orge	syndrômes hépatiques et rénaux	
Zéaralénone	<i>Fusarium graminearum</i>	maïs aliments	syndrômes oestrogéniques	
Citrinine	<i>P. citrinum</i>	orge seigle	syndrome néphrotique	

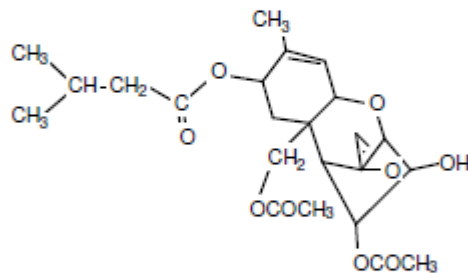
Patuline	<i>A. clavatus</i> <i>P. expansum</i> <i>P. expansum</i>	pomme jus de pomme blé	neurotrope - syndrome cutané (sarcome de la peau) cancérogène
----------	--	------------------------------	---



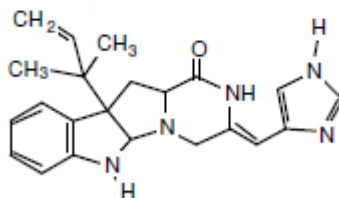
Sporidesmine	<i>Phthomyces</i> <i>chartarum</i>	herbe	eczéma par photosensi- bilisation
--------------	---------------------------------------	-------	---



T2 toxine	<i>Fusarium</i> <i>tricinctum</i>	céréales	leucopénie
-----------	--------------------------------------	----------	------------



roquefortine	<i>Penicillium</i> <i>roqueforti</i>	Fromage	hépatotoxique
--------------	---	---------	---------------



Parmi les principales autres mycotoxines, il est encore possible de citer :

<u>mycotoxine</u>	<u>moisissure</u>	<u>signes cliniques</u>
émodine	<i>Aspergillus wentii</i>	diarrhéique
acide kojique	<i>Aspergillus flavus</i>	convulsant
fumitremorgène	<i>Aspergillus fumigatus</i>	tremblements
lutéoskyrine	<i>Penicillium islandicum</i>	cancérogène
époxyoptalone	<i>Penicillium roqueforti</i>	hépatotoxique et néphrotoxique
vomitoxine	<i>Fusarium</i>	émétique
stérigmatocystine	<i>Aspergillus versicolor</i>	hépatocancérogène

III- Association microorganismes/ aliments

III-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 germes/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 «hygiénique» (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.

III-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 10^6 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).

a) 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).

b) 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 (10^{-12} pour des dérivés de la pirazine).

Généralement, ces modifications sont biphasiques:

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 $\text{pH} > 6$ il y a tendance à la fermentation lactique. Si le produit a un $\text{pH} < 6$ et sans O_2 , tendance à la fermentation alcoolique.

Cette altération primaire est détectable à partir d'un seuil d'environ 108 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).

Quelques exemples de seuils de perception:

	Odeur	$\mu\text{g/l}$	
2-isobutyl, 3-méthoxypirazine	poivron	$2 \cdot 10^{-3}$	
méthylmercaptan	café	$2 \cdot 10^{-2}$	
2,4-décadiénal	poulet	$7 \cdot 10^{-2}$	
éthyl-2-méthyl butyrate	pomme	10^{-1}	
3-hexénal	tomate	$3 \cdot 10^{-1}$	
γ -dêcalactone	pêche	$7 \cdot 10^{-1}$	
acétate d'amyle	banane	5	

Ces composés contribuent à la qualité de certains produits fermentés (vins, fromages) ou à la dépréciation quand ces odeurs sont désagréables (odeurs de relent, d'ammoniac, de mercaptans, d'amines, etc...).

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).

Achromobacter 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 107

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.

c) 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 pour décrire cette transformation: piquêre, aigrissement, sùrissement... Cette modification est favorable avec certains produits (fromages, choucroute, saucisson). Dans le cas du vinaigre c'est l'acide acétique qui est produit.

Les seuils de perception du goût de certains composés sont indiqués dans le tableau ci-après:

NaCl	0,25 %
Saccharose	0,5 %
HCl	0,007 %
quinine	$5 \cdot 10^{-5}$ %

Certains des goûts liés à la présence de 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: levures ou *Streptococcus lactis* var. maltigenes dans le lait

Goût alcoolisé: levures

Goût douçâtre: levures (production de mannitol): vin

Goût crayeux: levures (*Endomycopsis* ou *Trichosporum*): pain

Goût amer: *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* transforment le glycérol en acroléine qui se combine avec des polyphénols: bière.

Goût piquant: production de CO₂

Goûts fruités (biotransformations).

d) 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 (H₂S générant des sulfures divers noirs).

e) 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.

f) 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.

Ces mêmes microorganismes ont un rôle favorable en synthétisant des molécules à activité biologique comme des vitamines ou encore en catabolisant des produits toxiques ou antinutritionnels (glucides non fermentescibles C₁-C₆: stachyose, protéines toxiques).

Pour la plupart de nos aliments, le développement d'une flore microbienne superficielle se fait à partir de glucides simples et d'azote non protéique. Ainsi dans le cas des viandes et poissons, l'altération de surface se traduisant par la formation de limon (poisse) et d'odeurs caractéristiques n'est pratiquement par accompagnée de protéolyse, donc d'une modification sensible de valeur nutritionnelle jusqu'à 10⁹ germes/cm².

Quand des phénomènes de protéolyse apparaissent, ils sont suivis par la formation de dérivés d'acides aminés qui confèrent aux produits des odeurs, goûts et texture tels, qu'ils deviennent inconsommables.

IV- Contrôle microbiologique des aliments

VII.3. CONSEILS D'HYGIENE EN CAS DE RESULTATS D'ANALYSES NON SATISFAISANTS

GERMES RECHERCHES	MOYENS DE LUTTE
Micro-organismes aérobies à 30°C Origine: Environnement (air, matériel, vêtement...)	· Nettoyage et désinfection des surfaces de travail et du petit matériel avant et après chaque manipulation. · Extraction des vapeurs. · Porter des vêtements de travail propres. · Refroidir rapidement les préparations et les réchauffer assez longtemps, laisser le moins possible à température ambiante. · Filmer ou couvrir produits entamés et préparations (fondant, pâte...) · Garantir le fonctionnement et l'entretien du matériel frigorifique. · Désinfection régulière et efficace des chambres froide.
Coliformes thermotolérants <i>Escherichia coli</i> Origine intestinale: Soit animale et humaine, soit les mains des manipulateurs, les matières premières non décontaminées, sol	· Lavage des mains à chaque reprise du poste de travail. · Nettoyage et désinfection du matériel avant chaque manipulation. · Refroidir rapidement les préparations et les réchauffer assez longtemps, laisser le moins possible à température ambiante. · Entretien de la plonge, lavabo et toilettes. · Nettoyer des légumes, salades au vinaigre et les fruits au citron, surtout pour les végétaux à consommer crus.
Coliformes présumés 30°C Origine: Environnement (poussières, air, plantes, animaux...) Ils peuvent être le reflet de procédures de nettoyage et de désinfection inadéquates et d'une mauvaise gestion des déchets et des emballages.	· Nettoyage et désinfection du matériel avant et après chaque manipulation. · Nettoyage des légumes, salades au vinaigre et les fruits au citron, surtout pour les végétaux à consommer crus. · Propreté des vêtements de travail. · Fermeture des récipients de stockage. · Supprimer les emballages cartons des locaux de stockage et de production. · Ne rien entreposer à même le sol. · Limiter les projections d'eau.
Staphylocoques à coagulase positive 37°C Origine: Essentiellement humaine (plaies et brûlures infectées, boutons d'acné, mal de gorge, porteurs sains ...)	· Eviter la contamination par l'homme: éloignement des personnes infectées, réduction des manipulations, respect de la propreté et des bonnes pratiques par les manipulateurs. · Prévoir pansements et gants pour les petites plaies; masques. · Eviter la multiplication des germes introduits dans l'aliment (éviter les séjours des aliments dans la zone de température comprise entre 6 et 63°C, notamment dans le cadre de repas préparés à l'avance).

	· Eliminer les micro-organismes par la chaleur avant qu'il ne se soit multipliés (pasteurisation, cuisson). · Eviter les contaminations croisées (contact aliments crus et cuits). · Proscrire la réutilisation des restes. · Garantir des procédures de nettoyage et de désinfection efficaces.
Anaérobies sulfito-réducteurs Origine: Spores disséminées dans la nature (sol, terre, eau).	· Protéger les plaies infectées (port de gants). · Port du masque bucco-nasal en cas de rhume, angine... · Lavage régulier des mains (entre chaque activité différente). · Désinfection du matériel avant utilisation.
Salmonelles Origine: Tractus intestinal (homme et animal). Ex: œufs	· Dépister les porteurs sains (analyse des selles). · Savoir utiliser les œufs coquilles. · Respect des barèmes de cuisson. · Séparation des denrées crues et cuites. · Procédures de nettoyage et désinfection efficaces afin d'éviter les contaminations croisées. · Lavage efficace des mains en sortie des sanitaires et après contact de produits et surfaces potentiellement contaminés.
<i>Listeria</i> Origine: Disséminée dans la nature (sol, terre, eau).	· Laver les crudités avec du vinaigre. · Efficacité du nettoyage/désinfection du matériel. · Limiter les projections d'eau. · Ne rien entreposer directement à même le sol. · Formation du personnel. · Réfrigération rigoureuse pour éviter ou ralentir fortement le développement des germes. · Limiter les durées de conservation en chambre froide. · Effectuer un entreposage sélectif (produits crus/cuits) dans les enceintes frigorifiques et respecter le principe de la marche en avant. · Respecter la chaîne du froid et surveiller les températures de stockage. · Entretien régulier des enceintes frigorifiques. · Risque de contamination croisée par le matériel en contact avec les produits crus et cuits.
<i>Bacillus cereus</i> Origine: Disséminée dans la nature (sol, terre, eau), matières fécales, poussières.	· Eviter les refroidissements et remises en température successifs. · Respecter les durées de refroidissement et de remise en température. · Limiter les durées de conservation en chambre froide. · Germe à prendre en compte sur de lait en poudre, et produit sec à base de végétaux.
<i>Clostridium perferingens</i> Origine: Présent dans l'environnement et dans le tube digestif d'hommes ou d'animaux malades ou porteurs sains. L'eau, la terre, les poussières,	· <i>Clostridium perfringens</i> est un contaminant du tube digestif des animaux et les viandes crues sont souvent contaminées. · La manipulation des denrées dans des conditions appropriées doit éviter la contamination par l'environnement ou par le manipulateur. · Si l'aliment n'est pas un produit stabilisé le conserver à des températures situées en dehors de la plage des températures de croissance. · Lorsqu'il y a réchauffage des aliments immédiatement avant consommation, la toxine qui pourrait se trouver préformée dans le

	produit est détruite. · Les matériels, les manipulations peuvent être des sources de contamination.
<i>Campylobacter</i> Origine: L'eau contaminée non traitée, le lait cru, les viandes et abats de volailles.	· Eviter les contaminations croisées. · Chauffer suffisamment les aliments.