

Chapitre I. MICROBIOLOGIE DES EAUX

Les eaux marines (océans) et les eaux douces (lacs, étangs, rivières, etc.) sont des habitats microbiens (Algues, les bactéries, les champignons et les protozoaires) très importants, car les matières organiques en solution et les minéraux dissous permettent leur développement :

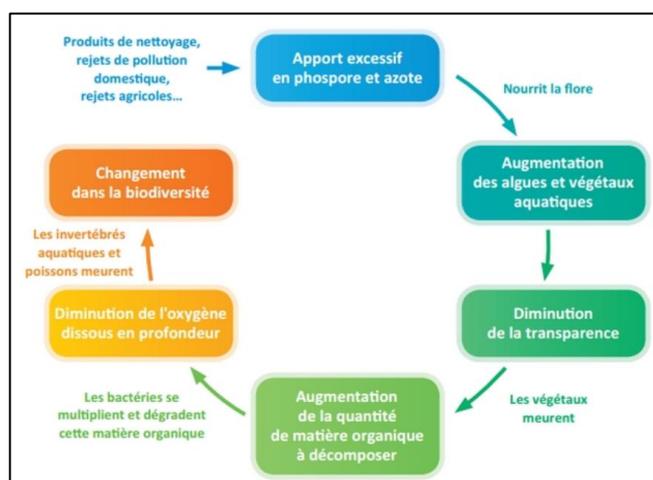
La flore bactérienne est toujours abondante et très diversifiée : Coques à Gram + (microcoques), bacilles à Gram – (*Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acromonas*, *Alcaligenes* et *Acinetobacter*). Il y a aussi les bactéries autotrophes (les cyanobactéries), et également certaines qui sont pathogènes et qui proviennent de l'intestin de l'homme et des animaux (entérobactéries, entérocoques, *Clostridium*). **Pour les algues**, on trouve dans les zones marines tempérées les **diatomées** et les **dinoflagellés**, alors que dans les eaux douces, on retrouve uniquement des **diatomées**. Concernant **les protozoaires**, ils ne constituent pas une partie importante du plancton, alors qu'en eau douce, la population est dominée par les ciliés (*Colpidium*, *Euplotes*). **Les champignons**, ne sont pas des organismes planctoniques importants, cependant, en eau douce leurs spores sont dispersées dans l'eau mais n'y croissent pas. Les seules formes libres sont les levures, parmi elle on peut citer *Candida parasitopsis*, *Cryptococcus*, *Rhodospordium* et *Leucosporidium*.

1. Pollution de l'eau

On appelle pollution de l'eau, toute modification chimique (nitrates/la maladie bleue) physique (pollution radioactive) ou biologique (*Escherichia coli*/infection urinaire, méningite...) de la qualité de l'eau qui a un effet nocif sur les êtres vivants la consommant.

1.1. L'eutrophisation comme phénomène de pollution

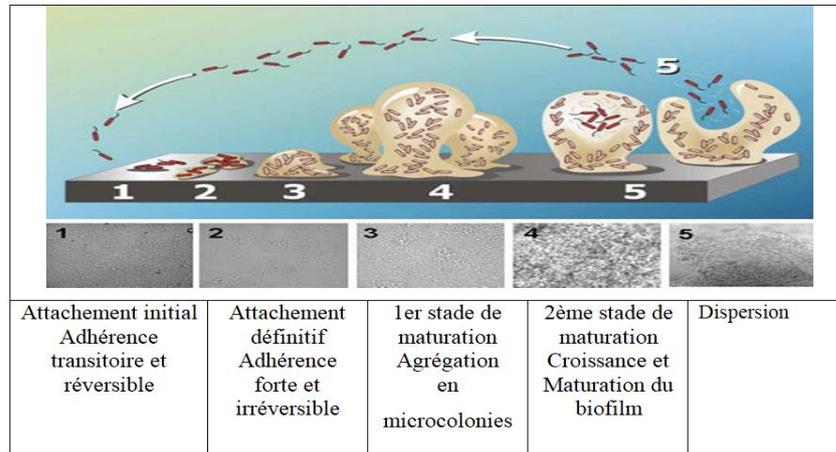
L'eutrophisation est un processus naturel et très lent,



Les étapes de l'eutrophisation

1.2. Phénomène d'adhésion microbienne (biofilm)

Un biofilm est une communauté microbienne adhérente à une surface, elle est fréquemment incluse dans une matrice de polymères exocellulaires (polysaccharides, protéines, acides nucléiques, lipides.). Il peut être simple (un seul type de microorganisme) ou complexe (plusieurs types de micro-organismes). Il peut avoir des effets positifs (biolixiviation) ou néfastes (colmatage).



Etapes de la formation d'un biofilm.

2. L'autoépuration des eaux naturelles

C'est le processus biologique par lequel l'eau présente dans la nature se nettoie elle-même lorsque la quantité de matières polluantes qui y est rejetée n'est pas trop importante. Il se déroule en plusieurs étapes : L'apport de matière organique entraîne une multiplication des bactéries, qui transforment la matière organique en sels minéraux et en gaz carbonique ce qui favorise la croissance des plantes, et des algues qui par photosynthèse vont produire de l'oxygène. Cet oxygène dissout va permettre une augmentation de l'activité bactérienne, celles-ci éliminent les restes de pollution et l'eau retrouve alors ses qualités écologiques naturelles.

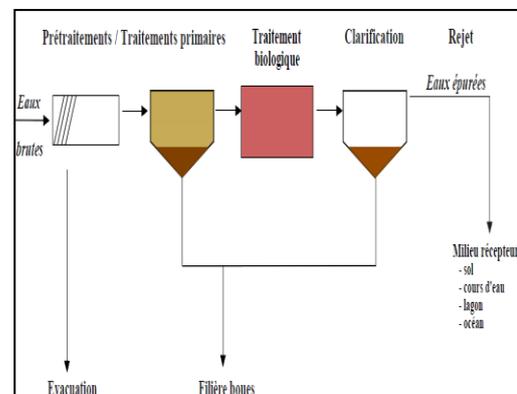
3. Traitement des eaux usées

Les principales étapes sont :

Les prétraitements (physiques) permettant le Dégrillage, Dessablage et le Déshuilage.

Traitement primaire (Décantation primaire)

L'eau s'écoule à faible vitesse dans un grand bassin (décanteur), au fond duquel se déposent les matières en suspension sous forme de boues dites "boues primaires". Ces boues déposées sont récupérées par raclage permanent et pompage.



Traitement secondaire (traitement biologique)

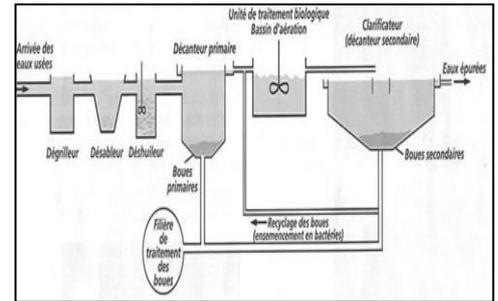
Consiste à mettre la matière organique contenue dans les eaux usées au contact d'une masse bactérienne hétérotrophe (*Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Escherichia coli*.) en présence d'oxygène.

Les principaux procédés biologiques sont :

Culture bactérienne libre (Bassins à boues activées, Lagunage)

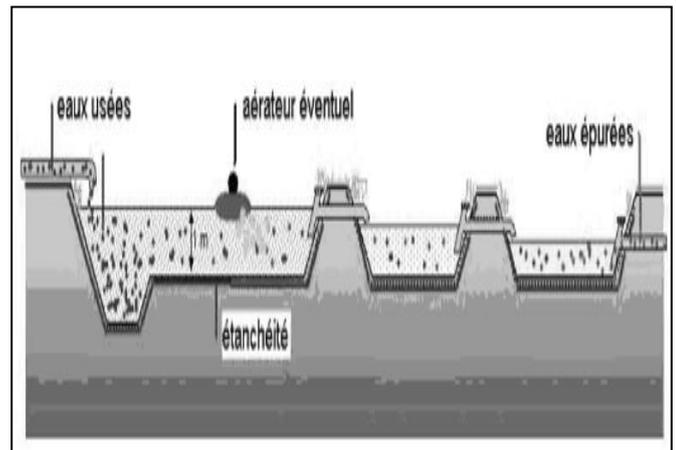
Boues activées

Il comprend un bassin d'aération (Les micro-organismes y flottent librement) aéré (agitation et alimentation en oxygène), il contient les boues activées et c'est l'endroit où les polluants sont dégradés, Un clarificateur vient ensuite servant à séparer les boues de l'eau épurée.



Lagunage

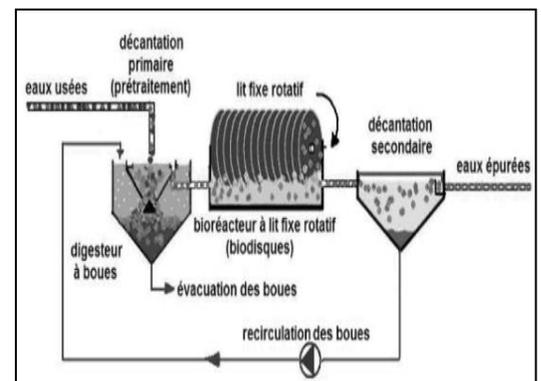
C'est un lent écoulement de l'eau dans plusieurs bassins successifs (généralement 3), de grande taille et peu profonds (moins de 1,50 m), l'aération se fait par échange avec l'atmosphère ou par photosynthèse des algues de surface, et peut être complété par des aérateurs. L'épuration se fait de façon naturelle, grâce à la prolifération de bactéries et d'algues microscopiques, qui produisent par photosynthèse l'oxygène nécessaire pour ces bactéries.



Culture bactérienne fixée (Disques biologiques - Lits bactériens, Lits granulaires (Biofiltres))

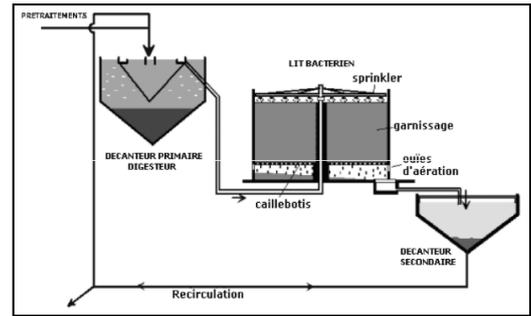
Disques biologiques

Dans ce procédé les bactéries sont fixées sur des disques (2 à 3 m de diamètre) fixés et reliés à un moteur assurant leur rotation. Ils passent alternativement dans l'eau usée et dans l'air afin de favoriser le développement bactérien. Les résidus de boues qui tombent des disques sont entraînés vers un décanteur secondaire, permettant leur séparation des eaux épurées.



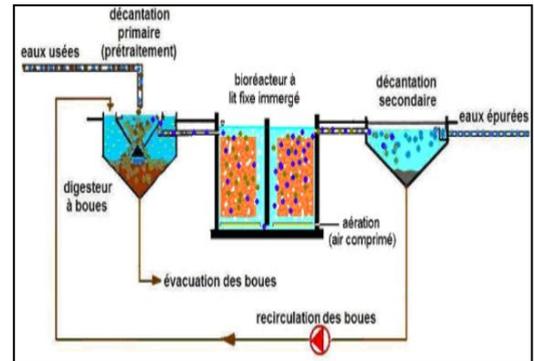
Lits bactériens

Les bactéries épuratrices sont fixées sur un support constitué de roche ou plastique poreux inerte (garnissage). Ce dernier est arrosé en continu avec l'eau à traiter introduite par le haut du lit à l'aide d'un bras d'arrosage rotatif (sprinkler), et l'oxygénation est apportée par ventilation naturelle de bas en haut (ouïes d'aération).



Lits granulaires (Biofiltres)

Ce procédé utilise un support granulaire (minéral ou organique) immergé dans un bassin périodiquement lavé pour éliminer les matières en suspension (MES) et la biomasse fixée sur le support. La respiration des bactéries est assurée par un système d'aération (air comprimé) aménagé en-dessous du matériau à lit fixe.

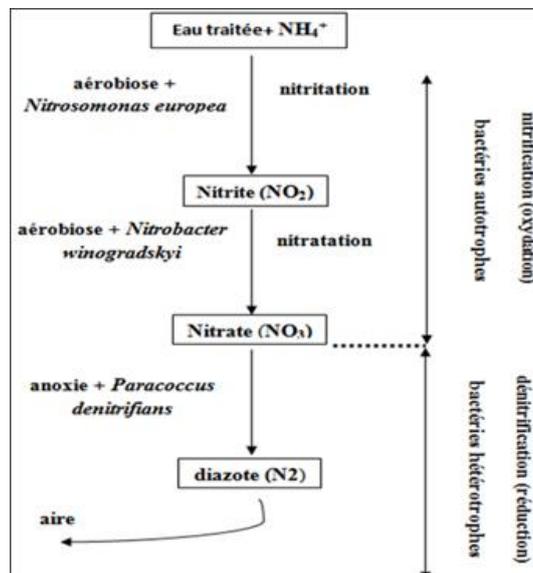


Clarification (décantation secondaire)

Une décantation permet de recueillir les matières agglomérées par les bactéries sous forme de boues. L'eau clarifiée située à la surface de décanteur est ensuite dirigée vers le milieu récepteur ou vers d'autres traitements (traitement tertiaire).

Au cours des traitements secondaires (biologiques) il va aussi :

L'élimination de l'azote : Après l'élimination de la matière organique l'élimination de l'azote se fait en deux étapes (figure ci-dessous) :



Traitement tertiaire

Il s'agit de procédés utilisés sur un effluent épuré afin d'améliorer la qualité du rejet. Ce dernier traitement n'est pas toujours mis en place. Il englobe :

L'élimination du phosphore

Elle se fait par un procédé biologique qui se fait par des bactéries aérobies strictes (*Acinetobacter sp.*), qui sous l'action du stress anaérobique dans le milieu ; relarguent leur propre phosphate intracellulaire. Dès que ces mêmes germes sont à nouveau aérés, ils réabsorbent non seulement leurs phosphates mais aussi 50 à 60 % de celui apporté par les eaux usées. Ce traitement biologique est complété par un traitement physico-chimique, par adjonction de réactif (sels de fer ou d'aluminium ou la chaux) donnant naissance à un précipité complexe de phosphore insoluble et leur élimination se fait par décantation.

Traitement par voie physico-chimique

Cette étape permet de réduire le nombre de bactéries et des germes pathogènes présents dans l'eau traitée par rayonnement UV ou par le chlore et une neutralisation des métaux en solution.

4. Contrôle de la qualité de l'eau

Le contrôle microbiologique d'une eau potable consiste à rechercher les germes pathogènes qu'elle pourrait contenir, les germes recherchés, les méthodes, les milieux, les températures et les durées d'incubation sont résumés dans le tableau suivant :

Flores	Méthodes	Milieux	Température d'incubation	Durée d'incubation
Coliformes fécaux (<i>E. coli</i>)	En milieu liquide (NPP)	Schubert	44°C	24 h à 48 h
	Par filtration sur membrane	Gélose lacotisé au TTC et au tergitol 7	44°C	24h
FTAM	En milieu solide (dans la masse)	PCA	22°C * 37°C	72h * 24h
Streptocoques fécaux	En milieu liquide (NPP)	Roth et EVA Lytski	37°	24h à 48h
	Par filtration sur membrane	gélose de Slanetz et Bartley	37°C	24h
Spores des anaérobies sulfite-réducteurs	En milieu solide (en profondeur)	Gélose viande-foie additionnée de sulfite de Na et Alun de fer	37°C	24h à 48h

TTC: Chlorure de triphényltetrazolium

PCA : Plate Count Agar

* :22 °C pour différencier la flore saprophyte de l'eau et 37°C (température du corps humain) pour favoriser les bactéries d'origine intestinales.

Chapitre II. MICROBIOLOGIE DU SOL

1. Les microorganismes du sol

Les microorganismes du sol sont constitués de 5 principaux groupes : Les virus, les algues, les bactéries, les actinobactéries, et les champignons. Les trois derniers groupes représentent l'essentiel de la biomasse microbienne du sol.

Les **bactéries** sont ubiquistes, mais leur activité est principalement concentrée dans les premiers centimètres du sol. Il existe 4 groupes principaux dans les sols :

Les eubactéries

Elles sont classifiées en **4 groupes** (Tableau) :

Dans le sol les deux premières catégories sont rares. Les bactéries de la troisième catégorie sont relativement peu abondantes mais jouent un rôle important, alors que

	Lumière	Oxygène	Source d'électrons	Source de carbone	Type trophique
1	Oui		Inorganique (H ₂)	CO ₂	Photolithotrophes
2	Oui		organique	organique	Photoorganotrophes
3		Oui (oxydation d'un composé chimique)	Inorganique (H ₂)	CO ₂	Chémolithotrophes
4		Oui (oxydation d'un composé chimique)	Organique	organique	Chémoorganotrophes

celles de la quatrième catégorie constituent la majorité des microorganismes telluriques.

Les bactéries ferrugineuses filamenteuses

Ressemble aux eubactéries sur le plan morphologique. Elles en diffèrent par la présence d'une gaine qui entoure les cellules en chaînes. Elles se colorent en jaune rouille sous l'influence de l'oxydation du fer ferreux (Fe²⁺) contenu dans le milieu. Ce sont des microorganismes essentiellement aquatiques, elles oxydent le fer ferreux (Fe²⁺) en hydroxyde ferrique (Fe₂O₃).

Les bactéries sulfureuses

Organismes filamenteux, capables de mouvement de glissement. Leur habitat est sensiblement le même que celui des bactéries ferrugineuses avec lesquelles elles sont fréquemment associées. Elles en diffèrent par l'oxydation des formes réduites du soufre (H₂S) en soufre élément (S), puis en sulfures.

Les Myxobactéries

Ce sont des bactéries glissantes unicellulaires, bacilliformes et extrêmement flexibles. Diffèrent des Eubactéries par leur mobilité très particulière (glissement) et leur flexibilité due à la finesse de leur paroi cellulaire.

- ✚ Les bactéries jouent un rôle fondamental dans les cycles de l'azote (ammonification, nitrification, dénitrification, fixation symbiotique de N₂), le cycle du carbone (décomposition et minéralisation), celui du phosphore et du soufre, et dans le recyclage des déchets et des polluants comme les pesticides. Elles interviennent également dans le maintien de la structure du sol, par la formation d'agrégats.

Les actinobactéries

Elles sont représentées essentiellement par les genres *Nocardia* et *Streptomyces*. Leur densité est en général de 3 à 15 fois plus faible que celle des bactéries. Ce sont des bactéries filamenteuses hétérotrophes et la plupart sont des Gram-positif. Elles possèdent un mycélium ramifié dont le diamètre (0,5-1,5µm), plus fin que celui des champignons.

- ✚ Les actinomycètes sont des décomposeurs primaires des matières végétales résistantes comme l'écorce, les feuilles et les tiges. Elles sont particulièrement efficaces dans la dégradation de la cellulose, de la chitine, et de la lignine. Les espèces du genre *Frankia* forment des symbioses fixatrices d'azote en associations avec les casuarinacées et d'autres plantes supérieures. Ces bactéries ont aussi d'autres capacités métaboliques très importantes, comme la production de pigments, vitamines et d'antibiotiques.

Les champignons

Ce sont des eucaryotes hétérotrophes et immobiles dotés d'une structure filamenteuse végétative (mycélium). Ils sont constitués de quatre principaux groupes qui diffèrent par la structure de leur mycélium et de leur organe reproducteur survivant dans le sol : Les zygomycètes, les ascomycètes, les basidiomycètes et les deutéromycètes

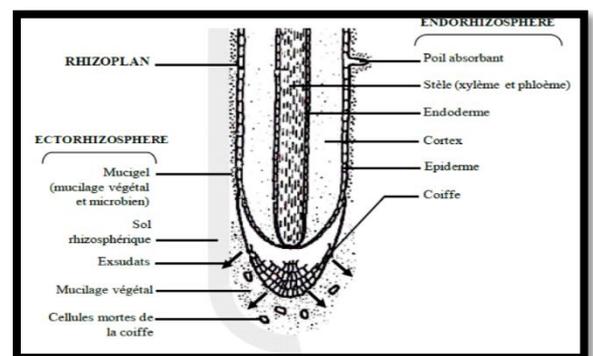
- ✚ Les champignons interviennent principalement dans la dégradation des sucres complexes (cellulose, lignine) et dans les processus d'ammonification (dégradation des matières azotées). Ils interviennent dans un grand nombre d'interactions mutualistes (mycorhizes); et ont une part importante dans plusieurs relations commensales, parasitismes et compétitives avec les autres organismes du sol. Les champignons jouent un rôle dans le recyclage des déchets, des sécrétions chimiques et excréments des racines des plantes, des animaux et des microorganismes.

Les algues et les protozoaires

Les algues sont relativement peu abondantes dans le sol, les groupes les plus courants sont des *Chlorophyceae* et certaines diatomées. Les protozoaires isolés des sols sont variés et se développent dans les zones superficielles humides.

2. La rhizosphère

La rhizosphère est définie comme le volume de sol soumis à l'influence de la racine, c'est une zone d'intense activité microbienne. La plante, via les exsudats racinaires, met à la disposition de la microflore des substrats, qui favorisent le développement de ces microorganismes, qu'ils soient pathogènes ou bénéfiques. La rhizosphère est constituée de trois parties (figure).



De nombreuses associations racines-microorganismes sont observées au niveau de la rhizosphère :

- **La symbiose mycorhizienne** entre les champignons du sol et les racines des végétaux, Comme exemple de ces symbiotes on peut citer, les genres *Glomus*, *Gigaspora*, *Pezizella* et *Rhizoctone*.

- **Les Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)** sont également capables de stimuler la croissance des plantes et de s'opposer à l'activité d'agents pathogènes. On citera à titre d'exemple : Les bactéries du genre *Bacillus* ou *Pseudomonas*.

- **Les bactéries fixatrices d'azote** des genres *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* et *Azorhizobium* fixent l'azote atmosphérique et le réduisent en ion ammonium qui est assimilé par la plante hôte et intégré dans la synthèse de ses acides aminés.

Interaction plante-sol-microorganismes

✓ Influence du sol sur la plante

Plusieurs facteurs liés au sol tels que la texture, la porosité et la teneur en ions minéraux influencent l'enracinement et la croissance des plantes.

✓ Influence du sol sur les microorganismes

L'humidité du sol, l'apport de matière organique, et les amendements apportés au sol sont des facteurs nécessaires pour la vie et le déplacement des microorganismes, la croissance des microorganismes hétérotrophes et modifient le peuplement microbien respectivement.

✓ Influence de la plante sur les microorganismes

La plante exerce un effet sélectif sur la microflore rhizosphérique. Certains exsudats racinaires stimulent certaines bactéries et d'autres tels que les substances phénoliques (Acide isochlorogénique et l'acide gallique) inhibent la croissance microbienne.

✓ Influence des microorganismes sur la plante

Les plantes peuvent absorber par leurs racines de nombreuses substances organiques telles que les phytohormones (Auxines), acides aminés, vitamines (Riboflavine), antibiotiques, dérivés phénoliques, enzymes et protéines, pesticides provenant de l'activité métabolique des microorganismes telluriques.

3. Méthode d'analyse microbiologique d'un échantillon de sol

Les milieux de culture utilisés ainsi que les conditions d'incubation des différents germes recherchés sont représentés dans le tableau suivant :

Paramètres	Milieu de culture	Incubation	observations
Coliformes Totaux	Gélose au Tergitol	37 °C 24h à 48 h	Dénombrement de toutes les colonies de couleur rouges briques.
Coliformes Fécaux	Gélose au Tergitol	44 °C 24h à 48 h	Dénombrement de toutes les colonies de couleur rouges briques.
Streptocoques Fécaux	Slanetz et bartley	37 °C/ 24h à 48 h	Dénombrement de toutes les colonies de couleur roses.
Germes Totaux	Plate Count Agar	37 °C et 22 °C/ 24 h à 48h	Dénombrement de toutes les colonies.
Anaérobies Sulfite Réducteurs	Gélose SPS *	37 °C/ 24h à 48 h	Dénombrement de toutes les colonies de couleur noires.
Staphylococcus	Chapman	37 °C/ 24h à 48 h	Dénombrement de toutes les colonies de couleur jaunes et roses.
Pseudomonas	Gélose à la Cétrimide	37 °C/ 24h à 48 h	Dénombrement de toutes les colonies de couleur verdâtres.
Salmonella	Hektoen	37 °C/ 24h à 48 h	Dénombrement de toutes les colonies de couleur Colonies bleu vert à centre noir.
Moisissures et levures	PAD+ Chloramphencol ou oxytetracyline	29°C 3 à 5 jours	Dénombrement de toutes les colonies lisses et crémeuses (levures) et poudreuses (moisissures)

SPS : sulfite-polymyxine-sulfadiazine.

Chapitre III. LA MICROBIOLOGIE DE L'AIR

Pour les microorganismes, l'air constitue plutôt un véhicule qu'un habitat, ces microorganismes sont véhiculés par des vecteurs. Telle que :

Les poussières atmosphériques, ces particules véhiculent des spores de champignons et des microorganismes (bactéries, virus, etc.).

Les gouttelettes d'expectoration, ce sont des fines gouttelettes (1-2 mm) porteuses de germes comme : *Mycobacterium tuberculosis*. Ces gouttelettes ont une vitesse de chute (2metres/seconde).

Les noyaux de condensation, qui sont produits par le processus d'évaporation des gouttelettes d'expectoration (2 microns), leur vitesse de chute est très lente (1mm/min). Ils représentent des éléments contaminateurs par excellence, car transportables à distance et capable de pénétrer en profondeur dans l'appareil respiratoire.

1. La diversité de la flore microbienne de l'air

1.1. Les microorganismes de l'air extérieur ou libre

Le nombre de microorganismes varie selon les conditions de l'environnement, ils sont plus nombreux pendant les mois d'été qu'en hiver, dans les villes que les campagnes, autour des terres fertiles et rares au-dessus des terrains pauvres. La persistance des microorganismes dans l'air libre dépend des facteurs climatiques (vent, humidité...), et de la taille des microgouttelettes.

A/ La flore saprophyte

Cette flore de base est constituée par les germes de l'environnement, composés de :

Bactéries, Ce sont des bactéries à Gram positif (généralement les plus résistantes dans le milieu extérieur): *Micrococcus* ou les bacilles sporulés comme les *Bacillus*.

Flore mycélienne, elle est très diversifiée et plus abondante en été et en automne (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Botrytis*).

Levures appartenant aux genres *Rhodotorula*, *Pichia*, *Kloeckera*.

B/ Flore accidentelle d'origine humaine, animale ou hydro-tellurique

Cette flore vient surcontaminer la flore de base, elle est constituée de :

Microorganismes d'origine humaine ou animale qui peuvent se diviser en deux groupes : Ceux dont la durée de vie est limitée dans le milieu extérieur et qui sont rarement retrouvés dans les prélèvements (virus et bactéries fragiles) et ceux capables de survivre pendant un temps plus ou moins prolongé dans le milieu extérieur et qui seront les indicateurs d'une contamination d'origine fécale (*E. coli*, *Enterococcus*...), rhinopharyngée ou cutanée (*Staphylococcus*, *Neisseria*, *Corynebacterium*).

Microorganismes d'origine hydro-tellurique qui peuvent être soit des bactéries telles que *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter* ou des champignons microscopiques et leurs spores. Ils ont une vie indépendante de la présence humaine.

1.2. Les microorganismes de l'air confiné

Le nombre de microorganismes peut varier de quelques milliers dans un appartement à quelques millions dans des locaux d'aéroport. Ces microorganismes proviennent surtout des voies respiratoires de l'homme à travers les gouttelettes de la salive et les noyaux de condensation qui en résultent.

2. Analyses microbiologiques de l'air

L'analyse microbiologique de l'air est basée sur deux études, l'étude quantitative, réalisée par numération des colonies sur des boîtes gélosées et la charge microbienne est exprimée en UFC. Et l'**étude qualitative** qui a pour but l'identification des espèces microbiennes de l'air.

Les principales techniques qui nous permettent de collecter ou mettre en culture les microorganismes de l'air sont :

Technique des écouvillons

Le prélèvement se fait à l'aide d'un écouvillon sur les surfaces (pailles, tables, etc.), suivie d'un ensemencement sur une gélose ---> incubation.

La sédimentation

Des boîtes gélosées sont ouvertes et exposées à l'air pendant quelque minute afin que les microorganismes se déposent sur la gélose ---> incubation.

Le Biocollecteur

Cet appareil aspire l'air par des ventilateurs. L'air est ensuite dirigé directement vers les surfaces gélosées, à un débit donné et constant. Cette opération ne doit pas dépasser les 10 minutes en raison du risque d'assèchement des surfaces gélosées.

Chapitre IV. La flore digestive chez l'homme

1. Evolution dans le temps de la microflore intestinale

La microflore intestinale suit un long cycle de maturation tout au long de notre vie. Nous naissons stériles du point de vue microbien, ensuite et dans la première semaine de vie, nous sommes colonisés par un premier groupe de bactéries provenant des contacts humains (la mère et l'environnement). Le microbiote se complexifie ensuite, surtout au moment où l'alimentation n'est plus exclusivement à base de lait.

Dans un premier temps, le tube digestif est colonisé de façon massive et rapide par un microbiote peu diversifié. Les premières bactéries qui s'implantent sont des aérobies-anaérobies facultatives (staphylocoques, des entérocoques et des entérobactéries), elles prolifèrent abondamment en seulement quelques jours. D'autres bactéries anaérobies s'implantent alors dès le 3^{ème} jour de vie (*Bifidobacterium* et les lactobacilles ainsi que dans une moindre mesure des *Bactéroïdes* et de *Clostridiaes*). Puis l'enfant, continuellement exposé à de nouvelles bactéries par l'intermédiaire de l'environnement et de l'alimentation, sa microflore se diversifie peu à peu. Et vers 2 ans, il possède une microflore de type adulte, constitué de plusieurs centaines d'espèces.

2. Composition et répartition topographique de la flore digestive chez l'homme

Cette distribution dépend des conditions régnant dans les compartiments du tractus gastro-intestinal, telles que la teneur du milieu en oxygène, des sécrétions du tube digestif haut, des nutriments disponibles, du pH et de la vitesse du transit (rapide de la bouche au caecum, plus lent ensuite).

2.1. La bouche, elle présente peu de flore qui est peu active car le temps buccal est court.

2.2. L'estomac, présente une prolifération microbienne fortement réduite (inférieure à 10^3 UFC/g) par la présence d'oxygène apporté par la déglutition et d'une forte acidité (pH=1-2). De ce fait, l'estomac héberge sélectivement les microorganismes acidotolérants et anaérobies facultatifs comme les lactobacilles, streptocoques, levures, et même l'*Helicobacter pylori*.

2.3. L'intestin grêle, le pH redevient proche de la neutralité, l'oxygène se raréfie et la flore présente une variabilité quantitative (duodénum : 10^3 - 10^4 ; jéjunum : 10^5 à 10^7 ; iléon : 10^7 à

10⁸) et une variabilité qualitative par la diminution progressive des bactéries aérobies au profit des bactéries anaérobies strictes. Ce compartiment reçoit les sécrétions biliaires et pancréatiques qui ont un effet inhibiteur des bactéries. De plus, son contenu est en permanence balayé par les mouvements du péristaltisme qui chassent constamment les bactéries vers les parties basses du tube digestif. La microflore est constituée essentiellement de bactéries anaérobies facultatives tels que les lactobacilles, les streptocoques et les entérobactéries, et les anaérobies stricts notamment les bifidobactéries, les bactéroïdes et les clostridies.

2.4. Le colon, dans ce dernier compartiment (dépourvu d'oxygène, pH relativement neutre), le transit digestif est plus lent et la flore microbienne est plus abondante (10⁹ à 10¹¹). C'est une « chambre de fermentation ». Le côlon est la seule zone colonisée de façon permanente, sa microflore est très complexe et dominée par les bactéries anaérobies strictes, alors que les bactéries anaérobies facultatives sont moins nombreuses. Les levures (*Candida albicans*) sont relativement faiblement représentées.

3. Les probiotiques

Le terme probiotique dérive des deux mots grecs "pros" et "bios" qui signifient littéralement "pour la vie" contrairement au terme antibiotique signifiant "contre la vie". Ce sont des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additif alimentaire ayant une action bénéfique sur l'hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale, et qui contribuent au maintien de l'équilibre de la flore de l'intestin. Pour qu'un organisme soit considéré comme étant potentiellement probiotique il doit présenter les caractéristiques suivantes :

- Être un habitant naturel de l'intestin,
- Être capable de coloniser le milieu intestinal, persister et se multiplier
- Adhérer aux cellules intestinales et exclure ou réduire l'adhérence des pathogènes
- Avoir un métabolisme actif et produire des substances inhibant les pathogènes (acides, H₂O₂, bactériocines...)
- Non invasif, non carcinogène et non pathogène
- Survivre aux différents procédés technologiques de production
- Garder sa viabilité dans l'aliment et durant le transit intestinal.

En alimentation humaine, les genres microbiens les plus utilisés comme probiotiques sont *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Streptococcus*. Par contre, en alimentation animale de nombreux genres bactériens et fongiques sont utilisés, comme *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Propionibacterium*, *Saccharomyces*, *Aspergillus* et *Torulopsis*.

Chapitre V. CONTAMINATION ET HYGIENE DES LOCAUX

1. Hygiène des surfaces et des matériels

1.1. Nettoyage et désinfection

Les surfaces, les récipients et les matériels en contact avec les produits alimentaires doivent être constamment maintenus à un bon niveau de propreté. Trois types d'opérations contribuent au maintien d'une bonne hygiène des surfaces :

- ✓ **Le nettoyage** qui a pour but d'éliminer les souillures visibles : il s'agit, en général, de substances organiques provenant des matières premières ou du produit en cours de fabrication à l'aide d'un produit détergent. **C'est la propreté physique.**
- ✓ **La désinfection** permettant d'éliminer ou de tuer les microorganismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés par un moyen chimique, **C'est la propreté microbiologique.**
- ✓ **Le rinçage** est destiné à éliminer toute trace de produit utilisé précédemment, sans évidemment apporter une nouvelle souillure ou de nouveaux microorganismes, **C'est la propreté chimique.**
- ✓ Selon les zones à risque, il convient de définir une procédure de nettoyage et de désinfection :

Zone à risque faible : Un simple nettoyage peut être mis en œuvre.

Zone à risque moyen : Une procédure en trois points est appliquée, c'est-à-dire un prélavage, un nettoyage-désinfection et un rinçage final.

Zone à risque élevé : Une procédure en cinq points est utilisée, c'est-à-dire un prélavage, un nettoyage, un rinçage, une désinfection et un rinçage final.

Zone à risque très élevé : il s'agit des salles microbiologiquement maîtrisées nécessitant également une procédure en cinq points.

1.2. Contrôle de la propreté microbiologique

Des prélèvements effectués sur la surface à traiter permettent de révéler le ou les types de microorganismes présents et d'évaluer le degré de contamination. Les modalités de la procédure de nettoyage et de désinfection sont alors déduites des résultats obtenus. La propreté

microbiologique est ensuite contrôlée en procédant à des prélèvements, qui sont effectués en général entre une et deux heures après l'opération de nettoyage et de désinfection. Ces tests permettent de contrôler l'efficacité, et donc de valider la procédure mise en œuvre.

Techniques de prélèvement de surface

Il existe principalement deux types de méthodes pour détacher les microorganismes présents sur une surface :

A. Technique d'écouvillonnage

- Elle est intéressante pour rechercher les « nids microbiens » pouvant se former dans des coins ou des cavités. L'écouvillonnage est à conseiller pour une recherche qualitative des espèces contaminantes.

B. Technique d'impression sur gélose

Ce procédé nécessite l'emploi de boîtes contenant un milieu gélosé qui dépasse du bord de la boîte sous la forme d'un ménisque convexe en surface (boîtes Rodac (Replica Organism Agar Direct Contact)) avec un diamètre de **60 mm**, une surface d'environ **30 cm²** et leur fond est quadrillé de façon à faciliter le comptage des colonies. En appliquant ce ménisque sur l'endroit suspect, une grande partie des germes restent "piégés" sur le milieu gélosé.

2. Contrôle de l'hygiène du personnel

Dans certaines industries, la pratique de l'hygiène n'est souvent pas assez rigoureuse puisque 80 % de la contamination des produits serait d'origine humaine. Il convient de prendre en compte les points suivants lors de l'étude des dangers potentiels liés à l'hygiène du personnel :

2.1. L'état de santé

Une personne ne peut être affectée ou maintenue dans un emploi nécessitant la manipulation de denrées animales ou d'origine animale, si elle est reconnue atteinte d'une maladie transmissible ou porteuse de germes ou de parasites, à la suite des examens de dépistage. Cette personne est donc écartée jusqu'à ce qu'un nouveau prélèvement soit reconnu négatif.

2.2. La propreté (en particulier l'hygiène des mains)

A. Propreté de la chevelure (barbe et moustache)

La barbe ou la moustache hébergent des microorganismes principalement des bactéries, et donc, dans les zones sensibles ou ultra-sensibles, les cheveux doivent être correctement recouverts par une coiffe.

B. Hygiène des mains

Les mains sont le support de nombreux microorganismes qui se trouvent en général en plus grand nombre au bout des doigts, en particulier sous les ongles, ainsi qu'entre les doigts. Le lavage des mains doit être fait selon une méthode et une fréquence établie. Il doit être réalisé systématiquement avant tout geste sur du matériel propre et après tout geste contaminant, en particulier après le passage aux toilettes. L'essuyage se fait grâce à un essuie-mains en papier à usage unique et non par un sèche-mains qui ventile les germes cutanés dans l'environnement.

2.3. La tenue vestimentaire (tenue de travail)

Les vêtements souillés de matière organique par contact avec des aliments en cours de fabrication deviennent d'excellents supports pour le développement de microorganismes et peuvent être à l'origine de contaminations secondaires ; ils doivent être changés à une fréquence déterminée, lavés et désinfectés entre deux utilisations.

Il doit exister des sas vestiaires pour revêtir une tenue adaptée, c'est-à-dire d'un niveau de protection plus ou moins important en fonction des types de zone et du niveau de risque de contamination du produit :

- **Zone inerte** : tenue normale ;
- **Zone sensible** : blouse, coiffe et gants ;
- **Zone ultra-sensible** : blouse, coiffe, surchaussures, gants et masque.

Le contrôle microbiologique des vêtements peut se faire en réalisant une empreinte sur un milieu gélosé (boîte contact).