



**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

## **Polycopié de Cours**

# **Agents d'Altération de la qualité marchande et sanitaire des bioproduits**

**Présenté par**  
**Mme BENFREHA Hamida**

**Cours destiné aux étudiants de Master I**

**Spécialité : Biotechnologie microbienne**

**2016/2017**

## Avant propos

Ce polycopier de cours est un support pédagogique destiné principalement aux étudiants de première année Master de la spécialité, Biotechnologie microbienne , mais qui reste, également, un outil de base pour d'autres spécialités de Master tel que, Microbiologie appliquée, Technologie alimentaire, Nutrition et diététique.

Le contenu permettra à l'étudiant de bien explorer le monde microbien, et surtout bien comprendre d'une part, le comportement des différents microorganismes et les différentes stratégies développées et adoptées par ces microorganismes, d'autre part l'importance du terrain en mettant en avant les paramètres qui permettent d'évaluer le pouvoir pathogène des germes et de mettre en évidence la complexité de certains surtout les deux phénomènes invasifs et toxinogène.

# Table des matières

Cours destiné aux étudiants de Master I.....	1
Spécialité : Biotechnologie microbienne.....	1
Introduction.....	1
I. Origines des flores d'altération .....	2
I.1. Flores d'origine exogène .....	2
I.1.1. Flore de l'eau .....	2
I.1.2. Flore du sol .....	3
I.1.3. Flore de l'air.....	4
I.1.4. Flores commensales et pathogènes de l'homme et des animaux .....	5
II. Flore d'altération de la qualité marchande.....	11
II.1. Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) .....	11
II.2. Flores bactériennes sélectionnées par les caractéristiques physico-chimiques du bioproduit.....	12
II.2.1. Modification de l'odeur.....	13
II.2.2. Modification du goût.....	14
II.2.3. Modification de l'aspect et de la couleur.....	14
II.2.4. Modification de la structure et de la texture .....	15
II.2.5. Modification de la valeur alimentaire .....	15
II.2.6. Influence du pH .....	16
II.2.7. Influence de l'eau .....	16
II.3. Flores bactériennes liées au mode de fabrication et de conservation .....	16
II.4. Flore fongique .....	18
II.4.1. Les levures.....	18
II.4.2. Les moisissures .....	21
III. Flore indicatrices de l'altération de la qualité sanitaire .....	23
III.1. Coliformes et coliformes thermotolérants.....	23
III.1.1. coliformes totaux .....	23
III.1.2 Coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants .....	24
III.2. Enterobacteriaceae .....	25
III.3. Escherichia coli .....	25
III.4. Streptocoques fécaux.....	26
III.5. Spores de bactéries anaérobies sulfite réductrices et spores de <i>Clostridium</i> Sulfite Reducteur .....	27
IV.1. Salmonella .....	30
VI.2. <i>E.coli</i> O157:H7 .....	32

IV.3. Yersinia enterocolitica.....	33
IV.4. Shigella .....	34
IV. 5. Staphylococcus.....	35
VI .6. Vibrio .....	37
VI.6.1. Vibrio cholerae,.....	37
VI.6.2. Vibrio parahaemolyticus .....	38
VI.7. Campylobacter .....	38
VI.8. Listeria monocytogenes .....	39
VI.9. Bacillus cereus.....	40
VI.10. Clostridium .....	41
VI.10.1. Clostridium perfringens .....	41
VI.10.2. Clostridium botulinum .....	42
V. Les moisissures productrices de mycotoxines .....	43
VI. Les maladies parasitaires d'origine alimentaire.....	45
VII. Maladies alimentaires d'origine virale.....	45
Références bibliographiques.....	47

## **Introduction**

La plupart des produits utilisés par l'homme sont susceptibles d'être altérés par différentes voies. L'action des microorganismes est une des causes majeures d'altérations, particulièrement sur les produits alimentaires.

La transformation des aliments par les microorganismes n'a pas toujours pour conséquence de les détériorer. Bien contrôlée, elle peut au contraire contribuer à la fabrication de denrées différentes, agréables au goût, d'une bonne valeur nutritive, plus digestes et souvent plus faciles à conserver que les produits d'origine.

On peut considérer que les aliments sont tous des produits d'origine animale ou végétale. Ces produits issus "du vivant" sont des produits fragiles susceptibles d'évoluer dans le temps. Cette évolution peut être bénéfique, mais la plupart du temps on observe des évolutions négatives et une détérioration des aliments.

La détérioration des aliments constitue un problème d'une ampleur considérable si l'on considère qu'elle touche, par exemple, près du quart des fruits, légumes et céréales récoltés chaque année. D'autre part bon nombre d'autres denrées alimentaires doivent être jetées avant leur consommation car elles sont rendues impropres à la consommation (avariées) du fait du développement de microorganismes.

L'Altération d'origine microbienne reste la principale cause de détérioration de nos aliments due à la prolifération de certains microorganismes qui les contaminent.

Selon la composition de l'aliment et la nature des systèmes actifs des microorganismes dominants, on assistera à un type particulier d'altération, remarquable par les changements d'apparence, de texture, d'odeur et de saveur qu'il provoque dans le produit. Le développement des microorganismes dans l'aliment provoque parfois la production de substances toxiques à l'origine de toxi-infections alimentaires.

Les micro-organismes qui contaminent un aliment ne sont pas tous responsables de sa détérioration. La flore d'altération comprend souvent un petit nombre d'espèces dominantes. La composition de cette flore d'altération varie avec le type d'aliment et les conditions d'entreposage.

L'altération des aliments peut avoir d'autres origines :-Attaques d'insectes ou de rongeurs.-Actions physiques (gel, écrasement au cours de la récolte ou du transport, flétrissement par déshydratation, etc.). -Détériorations chimiques (brunissement, rancissement par oxydation, rassisement du pain et des pâtisseries). -Altérations dues à l'évolution naturelle des aliments (ramollissement exagéré des fruits, brunissement, etc.).

## **I. Origines des flores d'altération**

Les microorganismes contaminants sont très variés et classés en deux catégories selon leur origine exogène ou endogène. Ils sont présents partout dans l'environnement (eau, sol, air), sur les plantes, les animaux et les humains eux-mêmes. Puisque nos aliments sont des produits dérivés des plantes ou des animaux, qu'ils sont exposés à l'air, à l'eau et à la poussière, et qu'ils doivent être manipulés par différentes personnes et avec différents équipements, il est inévitable qu'ils contiennent des microorganismes.

Le nombre et la diversité de la microflore varient considérablement d'un produit à un autre, mais les microorganismes qui contaminent un aliment ne sont pas tous responsables de sa détérioration.

La flore d'altération comprend souvent un petit nombre d'espèces dominantes. La composition de cette flore d'altération varie avec le type d'aliment et les conditions d'entreposage.

### **I.1. Flores d'origine exogène**

- Flores saprophytes (eau, sol, air, surface, matériel)

#### **I.1.1. Flore de l'eau**

L'eau contient de nombreux germes d'altérations alimentaires, de genres bactériens, mais également des spores de moisissures d'altérations courantes. Les activités agricoles et les égouts sont des sources importantes de contamination de l'eau par des germes d'origine animale et humaine. Les eaux non traitées contiennent fréquemment des contaminants fécaux.

La qualité microbiologique de l'eau a une très grande influence sur la contamination des produits alimentaires. En effet, l'eau contient en suspension des microorganismes très divers. Les germes hydriques sont surtout des bactéries provenant du sol (*Streptomyces*, *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Chromobacterium*, *Moraxella*) ou des matières fécales de l'homme et des animaux ( **Entérobactéries**, **Entérocoques**). Les bactéries sont parfois pathogènes pour l'homme (**Salmonelles**, **Shigelles**) et souvent responsables de l'altération des aliments. Les moisissures sont également présentes dans l'eau et provoquent des maladies chez les plantes et animaux et des altérations de produits : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Botrytis*, *Fusarium*, les levures sont par contre rarement rencontrées dans l'eau et interviennent donc peu dans les contaminations alimentaires.

La plupart des cours d'eau recueillent la pollution domestique d'origine humaine et animale. Ils se chargent de microorganismes provenant de l'intestin de l'homme et des animaux parmi lesquels peuvent se trouver des germes pathogènes, en particulier les *Salmonella* et les **Enterovirus**.

Les eaux de surface présentent donc des dangers pour la santé. C'est pourquoi les eaux destinées à la consommation ou utilisées dans les industries agro-alimentaires subissent des traitements.

Les organismes en contact avec l'eau de mer peuvent être contaminés par les cellules microbiennes qu'elle contient qui, en général ne sont pas pathogènes. Des bactéries malodorantes peuvent ainsi contaminer les poissons : *Aeromonas*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Achromobacter*, *Plasmococcus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*.

La qualité microbiologique de l'eau de mer se reflète dans le niveau de contamination des poissons et fruits de mer qui y vivent. Les égouts rejetés sans traitements sur les rivages marins sont une source importante de germes. Une attention particulière est accordée aux coquillages, comme les huîtres, qui sont consommés crus, car ils concentrent, par leur activité de filtration, les microorganismes présents dans l'eau de mer.

La qualité microbiologique de l'eau a donc une très grande influence sur la contamination des produits alimentaires. L'eau que l'on utilise pour laver, rafraîchir ou préparer les aliments et boissons, de même que la glace employée pour les conserver ou refroidir, sont des causes très importantes de contamination. En conséquence, l'eau utilisée pour le traitement ou la préparation des aliments doit respecter au minimum les mêmes normes microbiologiques que l'eau de consommation courante. L'eau de lavage des récipients et ustensiles divers, ainsi que l'eau en contact avec les aliments, doivent également être de très bonne qualité microbiologique. L'eau peut être purifiée par filtration, chloration, irradiation aux ultraviolets ou ébullition. Il faut toutefois se méfier des filtres car ils sont fréquemment une cause de contamination de l'eau lorsqu'ils ne sont pas renouvelés ou nettoyés régulièrement.

### **I.1.2. Flore du sol**

La microflore du sol varie considérablement selon les conditions climatiques et la teneur du sol en matières organiques. Les interactions entre eau et sol étant très grandes, on trouvera dans le sol les microorganismes cités pour l'eau. Notons toutefois l'importance des *Clostridium* parmi les germes telluriques.

Les produits alimentaires les plus exposés aux micro-organismes du sol sont évidemment les tubercules et les racines, comme les pommes de terre, les carottes, les navets, les betteraves, etc.

les fruits et légumes pour lesquels on trouve les problèmes posés par les microorganismes des barrières de surface. L'enveloppe des graines ou des fruits utilisés peut être la principale source de *Saccharomyces cerevisiae*, *S. steineri* et *S. carlbergensis* contaminant les boissons fermentées ou non : bières, jus de fruits.

Une particularité des microorganismes du sol est qu'ils peuvent, dans certains cas, être véhiculés par des insectes sur les végétaux. C'est l'exemple d' *Aspergillus flavus* sur le poivron rouge et *Penicillium*, *Rhizopus* et *Fusarium* sur le maïs.

Une autre particularité des microorganismes du sol est leur aptitude à transformer des composés naturels en produits toxiques pour l'homme. C'est le cas du tritium transformé en eau tritiée.

### **I.1.3. Flore de l'air**

L'air ne contient pas d'éléments nutritifs. Les microorganismes qui y sont présents ne peuvent donc s'y multiplier et s'y installer durablement. Ils sont en transit fixés sur les poussières et véhiculés par elles. La composition de la flore de l'air d'une salle dépend essentiellement de l'activité qui y est exercée. La flore de l'air rassemble des microorganismes en transit provenant du sol et des eaux ainsi que des flores commensales humaines et animales.

Ces différents micro-organismes survivent un certain temps dans l'air avant de disparaître, les plus résistants persistant plus longtemps, c'est le cas, en particulier, des spores de moisissures et de bactéries. Les levures peuvent également être présentes, mais elles sont généralement moins abondantes que les bactéries et les moisissures.

Le froid, les ultraviolets du soleil et les précipitations réduisent la densité des micro-organismes dans l'air. La densité et les types de micro-organismes présents dans l'air des habitations varient considérablement en fonction de plusieurs facteurs dont le taux de renouvellement, l'agitation de l'air (courants d'air, ventilation, mouvements des personnes...), l'humidité, la température, le nombre de personnes présentes et la quantité de poussière ou de gouttelettes de liquide en suspension. Les gouttelettes buccales et nasales émises par les humains (ventilation pulmonaire, paroles, éternuements, toux...) renferment de grandes quantités de micro-organismes de la flore respiratoire. Ces germes meurent plus ou moins rapidement au contact de l'air, mais si des aliments se trouvent à proximité des sources d'émission, ils pourront être contaminés.

Dans les systèmes de ventilation mécanique, les filtres doivent être fréquemment changés ou stérilisés, car ils peuvent devenir une cause de contamination de l'air.

Dans une salle vide, la flore de l'air est semblable à celle de l'air extérieur. La plupart des microorganismes présents proviennent des poussières arrachées au sol et disséminées par le vent, les

chaussures ou les vêtements. En absence de tout mouvement d'air, les plus grosses particules sédimentent ; ne persistent alors dans l'air que les poussières les plus fines. Les microorganismes y sont donc en nombre relativement faible.

Si l'on remet en suspension les poussières dans l'air (à l'occasion, par exemple, d'un nettoyage à sec), le nombre de microorganismes dans l'air augmente.

Les microorganismes apportés par l'air extérieur sont des microcoques, des staphylocoques, des bacilles et essentiellement des moisissures sous forme de spores (90% des micro-organismes de l'air). La flore de l'air n'est constituée que de microorganismes résistants à la dessiccation, cela explique la prédominance des Gram+ et des moisissures et la rareté des bacilles à Gram-.

Dans l'air d'une salle où sont présentes plusieurs personnes, on trouve en plus des micro-organismes présents dans une salle vide (Gram+, moisissures) la flore commensale de l'oropharynx : comme les streptocoques ou *Neisseria*. Si la salle est évacuée et si l'atmosphère n'est pas agitée par des courants d'air, les bactéries se déposeront lentement sur les surfaces. Par contre, tout mouvement d'air (le fait, par exemple, d'essuyer avec un chiffon) les dispersera à nouveau dans l'air.

Afin de réduire la flore microbienne de l'air, il convient donc d'éliminer les poussières sans les disperser (nettoyage humide), d'éviter les déplacements inutiles, de limiter le nombre de personnes présentes dans la salle et d'éviter de prendre trop souvent la parole (ou alors porter un masque).

#### **I.1.4. Flores commensales et pathogènes de l'homme et des animaux**

##### **a. Flore intestinale de l'homme**

Le gros intestin héberge une flore abondante et très diversifiée. On a pu y dénombrer plus de 450 espèces microbiennes, associées pour former un écosystème dont la composition est stable pour un même individu. Les bactéries intestinales représentent 75% de la masse des selles fraîches ; nous éliminons environ  $10^{12}$  cellules bactériennes soit 70 g de bactéries toutes les 24 heures. Elles représentent donc un réservoir considérable de micro-organismes.

On distingue en fonction de l'importance de leur population :

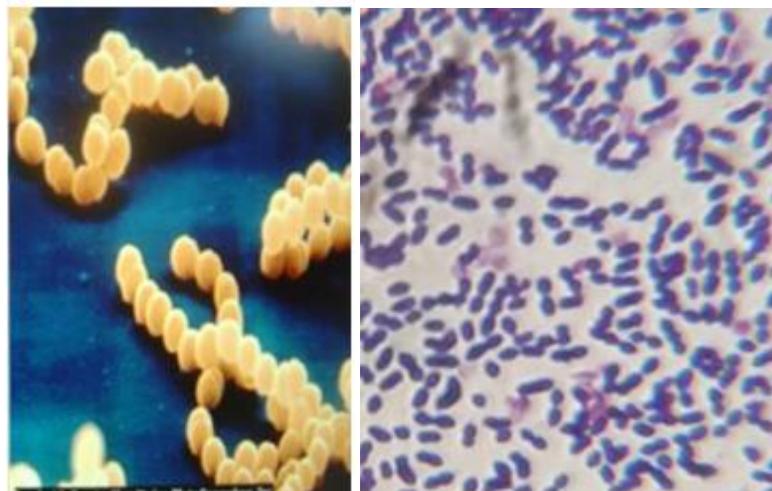
- **Des espèces dites dominantes**, car atteignant des concentrations de l'ordre de  $10^9$  à  $10^{11}$  par gramme de selles. Ces bactéries sont toujours présentes dans la flore intestinale, elles sont fixées à la muqueuse ou dans la couche du mucus et constitue la flore résidente.
- **D'autres sont en concentration inférieure à  $10^5$  et correspondent à la flore transitoire.** Ces espèces, apportées par l'alimentation, « ne font que passer » dans l'intestin et ne s'y établissent pas, du fait de l'antagonisme exercé par les bactéries de la flore dominante. On

les retrouve en majorité dans la lumière de l'intestin (partie de l'intestin dans laquelle circulent les aliments digérés). Dans certains cas des bactéries de la flore transitoire peuvent s'installer malgré ces conditions défavorables ; elles restent alors en concentration inférieure à celle de la flore résidente : de l'ordre de  $10^5$  à  $10^6$  par gramme de selle. Ces espèces sont dites sous-dominantes.

- **Les bactéries anaérobies sont largement prédominantes** représentent 99% du nombre total de bactéries et 40% du poids sec. Parmi les aérobies, les groupes les plus représentés sont les entérobactéries, en particulier *Escherichia coli* et les entérocoques. Ces bactéries sont déversées en grande quantité avec les rejets d'égouts, dans les eaux de surface. Elles peuvent être déposées par les mains sales sur des surfaces, des instruments, des matières premières, le revêtement cutané-muqueux d'autres personnes. Dans ces conditions (hors de l'organisme, en aérobiose), seules persistent les bactéries intestinales aérobies et les *clostridium* (bactéries anaérobies sporulées). Cette flore (**entérobactéries, entérocoques, Clostridium**) est dite **de contamination fécale**.
- La flore intestinale renferme cependant des bactéries aérobies opportunistes (*proteus, coliforme, Pseudomonas*) et peut contenir (cas des malades et porteurs asymptomatiques ou porteurs sains) des bactéries aérobies entéro-pathogènes (*salmonelle, Shigella, Yersinia, Campylobacter*).

#### **b. Flore oropharyngée**

Elle est, aussi, très abondante et diversifiée. Sa composition varie selon la zone anatomique considérée. Au niveau de la bouche on trouve des streptocoques : *Streptococcus Salivarius, S. mitis, S. sanguis*.



### *Streptococcus spp*

Le pharynx est peuplé de *Neisseria*, le tartre dentaire et les espaces interdentaires contiennent des *Haemophilus*, des streptocoques, des *Lactobacillus* et de nombreuses espèces anaérobies. Les Staphylocoques et les microcoques, enfin, sont prédominants dans les fosses nasales.

#### **c. Flore de la peau :**

Parmi les microorganismes présents sur la peau, deux espèces sont constantes quelque soit le territoire cutané : *Staphylococcus epidermidis* et *Propionibacterium acnes*.



### *Staphylococcus aureus*

D'autres microorganismes sont fréquents et sont considérés comme faisant partie de la flore normale : Corynebactéries, microcoques, levures et moisissures. Certaines espèces ne sont présentes qu'occasionnellement ou sur des sites particuliers : *Staphylococcus aureus* dans les fosses nasales et sur le périnée, bacilles à Gram négatif sur toutes les régions humides (plis, aisselles...), entérobactéries d'origine fécale, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* provenant de l'environnement, d'origine fécale possible à l'hôpital.

Les zones desséchées et arides, exposées à l'air, ont une flore moins abondante (leur présence n'en est pas moins important dans le mécanisme des biocontaminations).

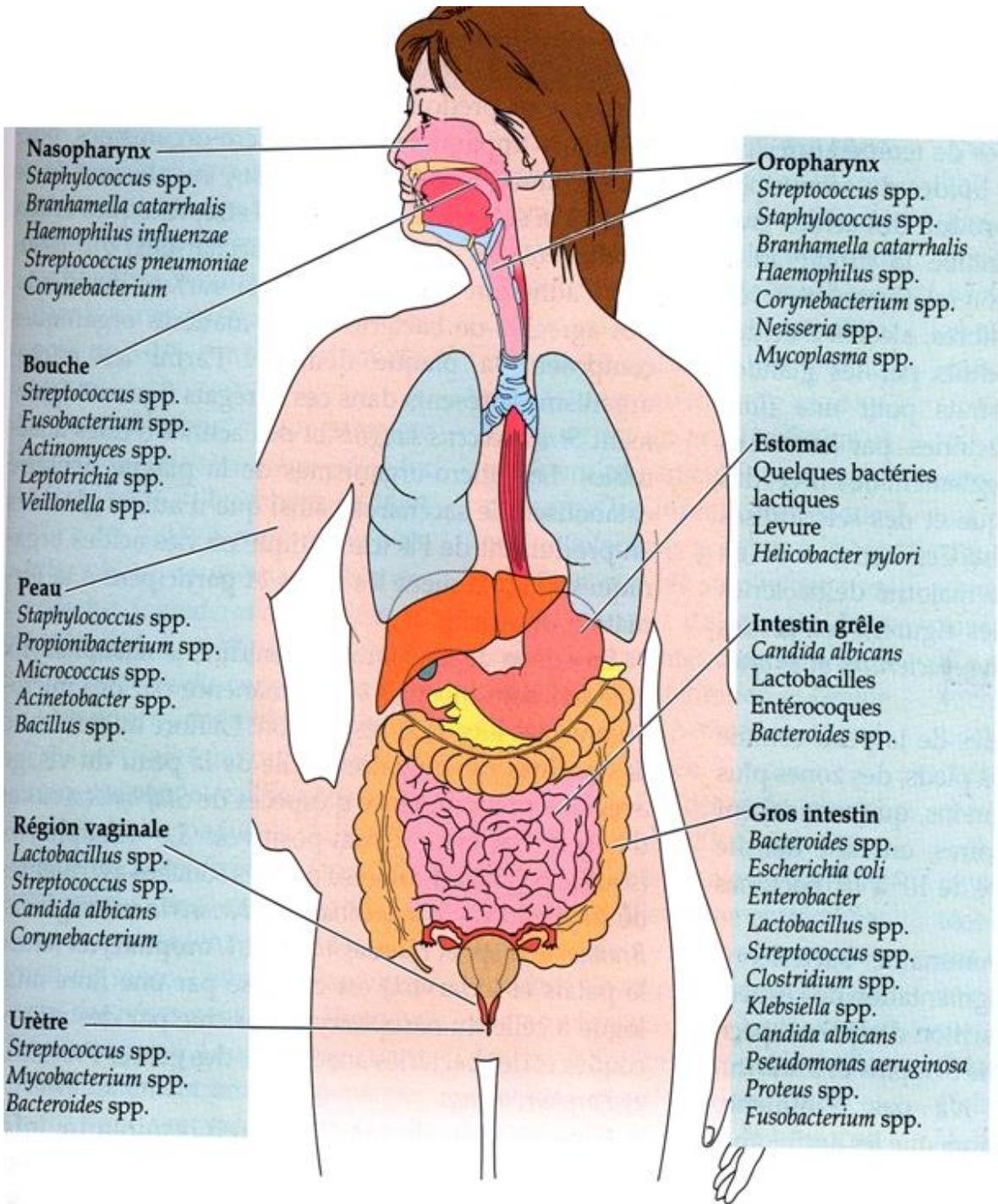
Au niveau de la peau, on distingue aussi une flore résidente et une flore transitoire. Les espèces résidentes sur la main sont ; *Staphylococcus epidermidis*, d'autre staphylocoques différents de *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, diverses espèces de corynébactéries.

On peut aussi admettre que les entérobactéries et *Acinetobacter* font partie de la flore résidente de la peau sous les aisselles....

**La flore résidente ne peut être éliminée en totalité par un nettoyage, même par les antiseptiques les plus puissants contrairement à la flore transitoire.**

Cette observation montre bien l'intérêt du lavage des mains. En effet, les bactéries constituant la flore transitoire sont souvent soit pathogène, soit occasionnellement pathogènes, soit opportunistes : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas*, entérobactéries, *acinetobacter* en sont les représentants les plus fréquents. Elles peuvent représenter un danger pour le consommateur dans le contexte des industries agro-alimentaires, car responsables d'intoxications alimentaires (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium perfringens*) peuvent habiter passagèrement la peau, surtout celle des mains, et être transmises à un aliment.

**\*Même après un lavage poussé, les mains peuvent transmettre des microorganismes appartenant à la flore résidente. Ces contaminations peuvent être dommageables pour les aliments car à l'origine d'altérations. Seul le port de gants est susceptible de réduire les contaminations par la flore résidente de la peau.**



Flore microbienne normale de l'homme « les micro-organismes indiqués sont considérés comme des éléments de la flore normale du corps humain ( Jerome J-P ., et al ., 2004 )

## I.2. Flores d'origine endogène

### a- Flores commensales et pathogènes des animaux

Les microorganismes du tractus intestinal peuvent contaminer les viandes après abattage, éviscération et découpe. Ce sont essentiellement des bactéries telles que les Entérobactéries (*Escherichia, Proteus, Salmonella, Shigella,.....*), les Entérocoques (*Streptococcus* du groupe D) et diverses autres *Bifidobacterium (Lactobacillus bifidus)*, *Bactéroides, Staphylococcus, Clostridium, Pseudomonas.*) Parmi les levures *Candida*, les moisissures ne sont pas transmises par voie fécale.

A partir du tractus digestif ces microorganismes se retrouvent souvent dans les eaux et le sol à partir desquels ils contaminent les plantes.

Les viscères sont les principales sources de contamination des viandes et des poissons. En dehors des microorganismes précédemment cités, on peut citer le *Campylobacter* et *Yersinia enterocolitica* responsables d'entérites et de septicémie.

La flore de la peau des animaux est fonction de l'environnement (sol, poussières, air, eau etc.) et de l'hygiène. Les charges microbiennes atteignent facilement des valeurs comprises entre  $10^4$  et  $10^6$  par  $\text{cm}^2$ .

Exemple de la viande de boucherie. Chez un animal sain, la chaire musculaire est stérile. Cependant, aussitôt après l'abattage, les contaminations apparaissent : les biocontaminants sont ceux peuplant le cuir des animaux. Après éviscération, on trouve, en plus ou moins grand nombre des microorganismes appartenant à la flore intestinale de l'animal. On note la contamination par l'air ou par l'outillage.

#### **b- Flores résidentes des végétaux**

Le sol et l'eau sont les sources primaires des microorganismes des plantes :

Bactéries : *Achromobacter, Enterobacter, Alcaligenes, Bacillus, Clostridium, Corynebacterium, Micrococcus, Proteus, Pseudomonas, Serratia, Sarcina, Streptomyces,*

Moisissures : *Aspergillus, Rhizopus, Penicillium, Trichothecium, Bothrytis, Fusarium,*

Levures : *Saccharomyces, Rodotorula, Torula,*

Avec en plus des flores spécifiques :

Bactéries : *Acetobacter, Erwinia, Flavobacterium, Lactobacillus, Leuconostoc, Streptococcus,*

Moisissures : les genres responsables de dégradations des fruits et végétaux.

## II. Flore d'altération de la qualité marchande

La charge microbienne normale de la plupart de nos aliments est de l'ordre de  $10^4/g$ . La survie de ces microorganismes est liée à des conditions n'engendrant pas la mort mais ne permettant pas la multiplication (composition, froid). 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).

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.

### II.1. Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT)

C'est un groupe bactérien très varié, qu'on appelle « flore banale », ces bactéries sont très répandues dans la nature et en particulier chez les végétaux. La plupart sont aérobies, elles contaminent fréquemment les produits alimentaires causant des dégradations très importantes, elles ne sont pas particulièrement pathogènes pour l'homme et la plupart appartiennent à la famille des *Pseudomonadaceae* et également à un autre groupe de bactérie acétiques. Il existe dans ce groupe quelques genres de bacilles à Gram négatif, des bactéries anaérobies facultatives qui sont plus voisins des *Enterobacteriaceae*. Cette flore regroupe des bacilles ou coccobacilles, asporulés, oxydase (+) ou (-), fermentation du glucose (-) (par opposition aux *Enterobacteriaceae*), ils se multiplient très bien sur des milieux usuels, sont mésophiles ou psychrophiles, se développent préférentiellement entre +20°C et +30°C. Certaines poussent à de très basses températures. De nombreuses espèces sont mobiles, sont très répandues dans la nature (l'air, l'eau, le sol et les produits végétaux..); Exemples : *Xanthomonas*, *Photobacterium*, *Agrobacterium* (Bactéries phytopathogènes), l'espèce type de ce groupe est *Pseudomonas*.

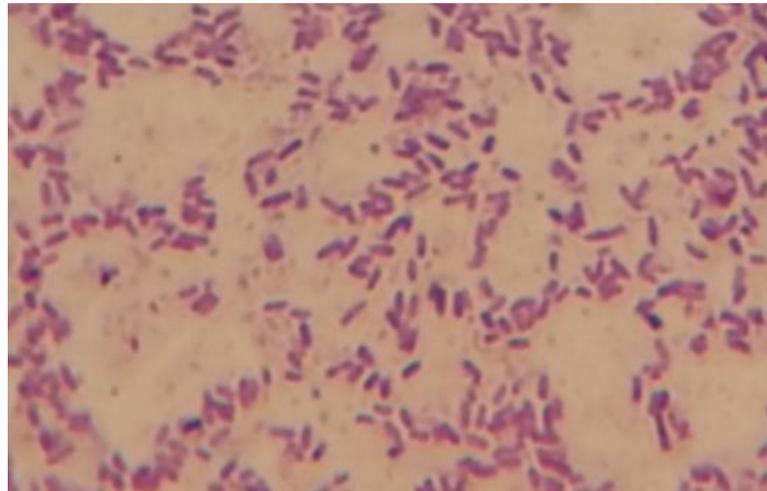
Tous les genres appartenant à ce groupe sont fréquents dans les produits alimentaires, ils sont dotés d'une grande activité métabolique (pouvoir protéolytique et lipolytique).

Les aliments souvent contaminés sont les viandes, les laits (conservés au froid) et les végétaux.

**\*Genre *Pseudomonas*** : c'est le genre type de la famille des *Pseudomonadaceae*, il représente un groupe hétérogène regroupant de nombreux bacilles à Gram(-), et contient par conséquent de nombreuses espèces ; Exemples : *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*.....ce sont des bacilles droits ou incurvés, asporulés, souvent mobiles par flagelles polaires, oxydase (+) ou (-), ne fixent pas l'azote, leur croissance est possible sur de nombreux composés organiques( leur seule source de carbone), aérobies stricts, catalase (+), ils se multiplient généralement sur des milieux ordinaires,

ils sont mésophiles ou psychrophiles (+4°C - +43°).les colonies sont souvent pigmentées, pyocyanine ou pioverdine, qui donnent une coloration bleu verdâtre avec présence d'une odeur de jasmin due à la production d'un acétophénol.

Les produits alimentaires les plus touchés sont les produits carnés, le lait et ses dérivés et même certains légumes en cours de conservation.



*Pseudomonas spp*

\***Bactéries acétiques** : appartiennent aux Gram(-), saprophytes, aérobies, ce sont des contaminants fréquents des produits alcoolisés dans l'industrie agro-alimentaire (conduisent à leur acidification).

Utilisées dans la fabrication du vinaigre et l'acide gluconique, *Acetobacter*, *Gluconobacter*. Ce sont des bacilles à Gram(-), parfois allongés, asporulés, généralement mobiles, sont oxydase(-) et aérobies. Ce sont des agents de la fermentation acétique (oxydation incomplète de l'éthanol).

Leur caractéristique principale est la production de l'acide acétique à partir de l'éthanol.

## **II.2. Flores bactériennes sélectionnées par les caractéristiques physico-chimiques du bioproduit**

Les caractéristiques physico-chimiques de l'aliment conditionnent la croissance des microorganismes. La prolifération de ces 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.

Aliment riche en glucides : - Polymères (amidon, cellulose); on assiste à une hydrolyse qui engendre une modification de la texture. – Monomères (saccharose, maltose, glucose, fructose, lactose, etc..) on assiste à une fermentation, avec formation d'acides et de composés carbonylés, qui engendre une modification du goût et de l'arôme.

Aliments riches en protides : - Polymères (protéines); on assiste à une hydrolyse qui engendre une modification de la texture. – acides aminés ; on assiste à une décarboxylation, désamination, désulfuration, etc.. qui engendre une modification du goût et de l'odeur et formation de catabolites toxiques.

Aliments riches en lipides : on assiste à une oxydation et lipolyse qui engendre une modification du goût.

### **II.2.1. Modification de l'odeur**

L'odeur est le premier indicateur du développement bactérien. Beaucoup de produits du métabolisme sont responsables d'odeurs : acides, alcools, esters, cétones, ammoniac, H<sub>2</sub>S, et plusieurs amines. Ainsi grâce à ces métabolites la bactérie est capable de donner une odeur au produit tel que l'odeur : fruitée, de sol, de limon, de linge humide, d'urine, de graisse rance, de putréfaction, de moisi..... Elle passe par deux phases, la première ou une grande partie du produit est transformée en un produit dominant (acide acétique – éthanol), il peut s'agir d'une transformation souhaitée. Si le produit est riche en glucides et a un pH > 6 on observe une fermentation lactique. Si le pH < 6 et en absence d'oxygène on observe une fermentation alcoolique.

La deuxième phase est marquée par la production d'odeurs caractéristiques liées à des composés organiques volatiles.

Il est impossible d'attribuer à chaque microorganisme l'apparition d'une odeur particulière. Cette production dépend de la composition de l'aliment, de la température, de la souche etc.. Néanmoins les moisissures engendrent souvent une odeur de moisi ou de rance alors que les bactéries génèrent des odeurs agréables, fruitées ou désagréables.

*Pseudomonas* (odeur de tilleul), *Achromobacter* ou *Flavobacterium* (odeur de pomme ou de navet), *Bacillus subtilis* (odeur de melon pourri), *Streptomyces* (odeur de moisi).

Exemple de la viande, odeur douceâtre au froid (10°C), ammoniacale ou H<sub>2</sub>S à température ambiante : on parle alors de putréfaction.

### II.2.2. Modification du goût

Liée à la présence de produits volatiles. Les bactéries modifient le goût du produit par une production de produits plus abondants que dans le cas de l'odeur:

- Directement par l'accumulation de produits du métabolisme. La modification la plus courante est liée à une acidification appelée piqûre, aigrissement, sûrissement, (l'acide lactique et acétique sont les plus souvent impliqués). Les alcools modifient aussi le goût.
- Indirectement par la réaction entre des métabolites de la bactérie et un substrat de l'aliment. exemple : dans la bière, le glycérol est dégradé par les bactéries lactiques en acroléine qui réagit avec les polyphénols et aboutit à une amertume.

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* 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 CO<sub>2</sub>

Goûts fruités (biotransformations).

### II.2.3. Modification de l'aspect et de la couleur

Sont détectables visuellement bien après l'apparition d'odeurs, correspondent à de petites zones avec des caractéristiques variables quant à leur forme Leur aspect (opaque, mat, brillant, rugueux..) et leur couleur (blanc, noir, jaune, rouge...). Ces zones sont constituées de bactéries, de levures et de sécrétions muqueuses qui s'étendent à la surface de l'aliment et forment un revêtement souvent gluant, visqueux et poisseux : phase de **poissage**.

Pour les moisissures, leur prolifération est caractérisée par la formation de zones colorées à évolution centrifuge, d'aspects variés (feutrage, taches rugueuses...).

Les modifications de couleur résultent d'un ou de 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).
- Destructures cellulaires mettant en contact enzyme et substrat . Ce phénomène est courant chez les produits végétaux.
- Production d'un composant réactif et chromogène (H<sub>2</sub>S générant des sulfures divers noirs).

#### **II.2.4. Modification de la structure et de la 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 (CO<sub>2</sub> 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.

#### **II.2.5. Modification de la valeur alimentaire**

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 10<sup>9</sup> germes/cm<sup>2</sup>.

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.

### II.2.6. Influence du pH

Pour un microorganisme donné, la vitesse de croissance en fonction du pH passe par un optimum. Ce sont souvent des activités enzymatiques sensibles au pH qui sont les facteurs limitants de la croissance microbienne.

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 de l'aliment favorisera d'autant mieux la prolifération qu'il sera voisin du pH optimum de croissance.

### II.2.7. Influence de l'eau

Les microorganismes ont besoin, pour se multiplier, d'eau disponible ; la disponibilité de l'eau est caractérisée par son activité.  $a_w = P_{\text{eau aliment}} / P_{\text{eau pure}}$ . L' $a_w$  varie entre 0 et 1.

Les microorganismes capables de se développer dans des produits à faible  $a_w$  sont qualifiés de **xérophiles**, ceux en milieux fortement sucrés ou salés respectivement d'**osmophiles** et de **halophiles**.

**NB :** 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.

Le très fort pourcentage de mortalité microbienne observé au cours de la déshydratation, du salage, de l'addition de sucres ou de la congélation est dû, en grande partie, à la diminution d'activité de l'eau.

### II.3. Flores bactériennes liées au mode de fabrication et de conservation

Dans les microorganismes, la température augmente la vitesse de l'ensemble des réactions dont il est le siège (anabolisme et catabolisme) ;

Pour des températures inférieures à la température optimale de croissance, la vitesse des réactions

impliquées dans le métabolisme et donc le taux de croissance diminuent. Cependant le “froid” ne conduit pas à une dénaturation significative des composants microbiens, ce qui conduit à une reprise des activités métaboliques dès que la température atteint des valeurs qui se rapprochent de la température optimale de croissance.

- Les **thermophiles** qui ont une phase de latence très courte, une phase exponentielle très rapide suivie d’une phase de dégénérescence. Dans cette catégorie on rencontre des microorganismes capables de se multiplier en dessous de +45°C et parfois pour certains jusqu’à 80°C.

Certains thermophiles obligatoires ne peuvent se multiplier qu’en dessous de +37°C (*Lactobacillus*, *Propionibacterium shermanii*, *Clostridium thermosaccharolyticum*, *Bacillus stearothermophilus* ).

**NB** : Il ne faut pas confondre thermophilie et thermorésistance qui est l’aptitude à résister à un traitement thermique donné.

- Les **mésophiles** qui comprennent la majorité des microorganismes se développent entre +15 et +45°C. La plupart des germes pathogènes font partie de cette catégorie.
- Les **psychrophiles** ont une température optimale de croissance voisine de 0°C. Les psychrotrophes obligatoires ne se développent pas en dessous de +20°C. De nombreuses bactéries saprophytes appartiennent à ce groupe (*Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*) ainsi que des moisissures (*Cladosporium*, *Sporotrichum*).
- **NB** : il y a des germes dangereux en microbiologie alimentaire capables de cultiver entre 0° et +10°C il faut citer: *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolytica*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloïdes* et même *E. coli* entéropathogène.

**La température la plus basse à laquelle un microorganisme a pu être observé en croissance est de -24°C et la plus haute de +90°C.**

Le **froid** est un moyen largement utilisé de nos jours pour contrôler la vitesse de croissance des microorganismes. Au réfrigérateur, la durée de conservation est voisine de 3 à 5 jours, délai correspondant à une prolifération défavorable des germes cryophiles. La congélation à -18°C stabilise totalement l’aliment au sein duquel aucune croissance de microorganisme ne peut intervenir. Pour les viandes aucun germe dangereux ne se développe en dessous de 5°C et quand la température augmente de 5°C, le “temps de vie du produit” est divisé par deux.

Les bactéries psychrotrophes agents d'altérations des aliments sont beaucoup plus nombreuses et variées, mais la famille des *Pseudomonadaceae* est souvent la plus représentée. Elle regroupe des bacilles à Gram négatif, droits ou incurvés, mobiles par ciliature polaire et aérobies stricts . Le genre *Pseudomonas* possède la meilleure capacité développement au froid et présente une activité significative jusqu'à une température de +2°C. Les genres *Shewanella*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Alteromonas* et *Flavobacterium* sont aussi fréquemment rencontrés dans les denrées alimentaires.

Les entérobactéries psychrotrophes appartiennent principalement aux genres *Enterobacter*, *Serratia* et *Hafnia*. Ce sont des bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs. On peut citer les espèces *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens* et *Hafnia alvei*. Certaines souches présentent une température minimale de croissance inférieure à 0°C.

Les bactéries lactiques sont largement représentées au sein du groupe des psychrotrophes. Ce sont 30 des bacilles ou des cocci à Gram positif, non sporulés, dépourvus de catalase, produisant de l'acide lactique selon un métabolisme homo ou hétéro-fermentaire. Les lactobacilles présentent une activité jusqu'à une température de +2°C. On rencontre aussi des bactéries des genres *Caryobacterium*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* et *Pediococcus*.

Parmi les autres bactéries psychrotrophes d'intérêt dans le domaine alimentaire, il faut citer les genres *Micrococcus* et *Staphylococcus*, certains *Bacillus* et *Clostridium* ainsi que les bactéries corynéformes, en particulier l'espèce *Brochothrix thermosphacta*.

## **II.4. Flore fongique**

Cette flore regroupe les levures et les moisissures responsables surtout d'altération des produits.

### **II.4.1. es levures**

Champignons microscopiques, au cours de leur cycle biologique elles se présentent sous une forme unicellulaire et se multiplie par bourgeonnement (pour la plupart) ou par scissiparité. Selon la classification de KREGER-VAN RIJ (1984) on distingue trois classes ou on dénombre 60 genres et 500 espèces. Cette classification est basée sur les caractères morphologiques et physiologiques.

Dans certain cas la différenciation est faite à partir du patrimoine génétique de l'espèce (une espèce est l'ensemble des souches ayant les mêmes caractères). On distingue la classe des Ascomycètes avec deux familles, les *Saccharomycetaceae* (29 genres) et les *Spermophthoraceae* (04 genres) et celle des Basidiomycètes avec la famille des *Filobasidiaceae* (05genres), et c'est relatif à leur

capacité de produire des spores d'origine sexuée dans un asque ou à les produire à l'extérieur sur des basides, une troisième classe des Deutéromycètes avec deux familles, les *Cryptococcaceae* (15 genres) et les *Sporobolomycetaceae* (02 genres) ce sont des champignons imparfaits, ce groupe pour lequel le stade sexué (stade parfait) n'est pas connu.

La distinction entre les genres repose sur les caractéristiques morphologiques des cellules végétatives et des spores. Celle des espèces est faite à partir des critères physiologiques et biochimiques.

### **Caractères généraux des levures:**

La morphologie cellulaire peut être mise en évidence par une observation microscopique d'une culture sur lame qui permet de distinguer la bordure de la cellule, la nature du mycélium (vrai ou pseudo). Les levures se différencient nettement des bactéries par leur structure cellulaire qui est de type eucaryote.

Les levures sont immobiles. Pour leur croissance, ces microorganismes ont besoin d'oxygène, de source de carbone et d'énergie (à partir de composés organiques), d'azote réduit sous forme d'ammonium (minéral/ nitrate ou organique utilisé pour la synthèse des protéines et des acides nucléiques, des minéraux, de facteurs de croissance / vitamines, thiamine, biotine.



*Saccharomyces cerevisiae*

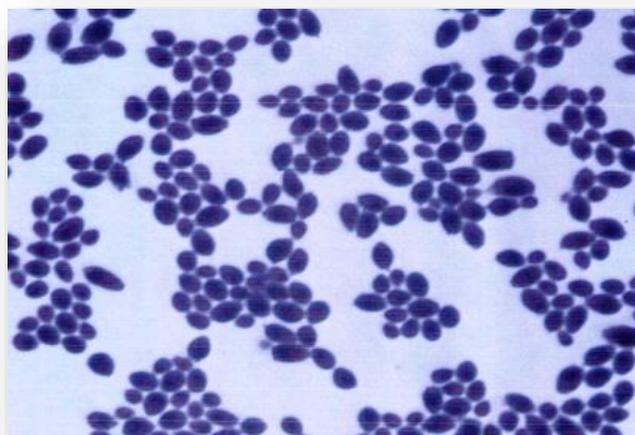
Les levures sont capables de fermenter plusieurs sucres tel que le glucose, le fructose....soit :

- par métabolisme oxydatif ce qui nous donne du CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O, ce métabolisme est très énergétique et donc la multiplication cellulaire est rapide.

- par métabolisme fermentaire et on a donc de l'éthanol et du CO<sub>2</sub>, la multiplication est moins importante que le premier.

Certaines espèces sont lipolytiques, d'autres produisent des lipides, d'autres sont protéolytiques. Les levures ne sont pas affectées par des variations de pH. Le pH optimum se situe entre 4.5 et 6.5 (certaines espèces, la plupart, peuvent se développer à un pH de 2.8 – 3 jusqu'à 8 – 8.5. la température de croissance est comprise entre 5°C - 30 et 35°C, température optimale est égale à 22°C. leur développement nécessite beaucoup d'humidité. Certaines espèces de levures sont osmophiles et capables de se développer à une  $a_w < 0.85$ .

Les levures ne provoquent pas d'intoxications alimentaires, seules deux espèces sont pathogènes : *Candida albicans* et *Cryptococcus beoformans*. Les levures représentent des agents de contamination et de dégradation des divers produits en particulier les produits sucrés ou acides.



*Candida albicans*

La contamination des aliments par les levures provoque une dégradation qui se manifeste soit par la seule présence des levures (Trouble ou pellicule en surface des liquides) ou bien une dégradation qui résulte du métabolisme des levures comme par exemple l'augmentation du pH , odeurs particulières, etc.

La composition chimique du produit, la concentration en oxygène, le pH et la température sont les facteurs favorisant le développement des levures.

Principales levures d'altération des produits alimentaires :

- Produits à forte concentration en sucre (40 - 70%), exemples: miel, confiture, sirop.....  
*Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces bisporus*, *Saccharomyces bailli*.
- Boissons sucrés (15%), exemples : limonade, soda.....
- *Torulopsis stellata*, *Torulopsis contarelli*, *Pichia kluyveri*, *Pichia fermentans*, *Brehanomyces* ( plusieurs espèces).
- Produits laitiers, *Candida*, *Torulopsis*, *Rhodotorula* .....

#### II.4.2. Les moisissures

Ce sont des champignons eucaryotes dans le genre des cryptogames thallophytes (absence de fleur, de graine, de chlorophylle, mais on a la présence d'un thalle et des filaments tubulaires.

A l'heure actuelle on dénombre environ 50 000 espèces, ce sont des mycètes saprophytes qui se développent au dépend de substrat inerte ou en voie de décomposition. Certaines espèces ont le pouvoir d'excréter des substances toxiques « mycotoxines ».

La classification des moisissures est basée essentiellement sur des critères morphologiques, on a :

- Les mucorales (ordre) classe des zygomycètes, les moisissures sont nombreuses dans ce groupe. Elles ont un mycélium non cloisonné, la reproduction sexuée se fait par les spores endogènes. Touchent surtout l'aliment de bétail.
- Les ascomycotines : ce groupe se distingue par la formation des ascospores. Contaminent le maïs, l'arachide et le poichiche.
- Les deutéromycotina : ce sont des champignons imparfaits car ils se multiplient par des spores asexuées (conidies).
- Chez les moisissures le développement du mycélium se fait à partir d'une spore qui se trouve dans un milieu nutritif avec des conditions favorables.
- La croissance du mycélium se fait en même temps dans toutes les directions de l'espace. Le rayon de la culture peut atteindre 50 mm par jour.
- Leur nutrition est basée sur l'absorption à travers la surface pariétale, les moisissures ont un métabolisme actif.
- Chez toutes les moisissures les filaments mycéliens forment des amas globuleux remplis de réserves et très résistants aux conditions environnantes difficiles.
- La dissémination des spores se fait par l'air, l'eau.

- La température est un facteur très important pour la croissance, la plupart des moisissures se développent entre 15 - 30°C avec un optimum de 20 - 25°C. On peut également voir des moisissures psychrophiles (-190°C) et d'autres thermophiles (57°C).
- La majorité des moisissures préfèrent une  $a_w$  augmentée.
- Concernant le pH, elles ont peu d'exigences, il se situe entre 4 – 8. On peut voir des moisissures acidophiles et d'autres basophiles.
- L'oxygène est un facteur très important de développement, la majorité des moisissures sont aérobies. Certaines par contre sont des anaérobies strictes.

**NB** : la particularité des moisissures c'est leur capacité d'adaptation liée à des particularités génétiques (Mutation).

### **Altération des produits alimentaires :**

Elle est directement liée à leur développement et leur système enzymatique très performant (avant l'utilisation de composés de poids moléculaire important tel que les polysaccharides, elles ont la capacité de les transformer en molécules simples).

- Les moisissures sont également capables de prélever ou de transformer la plupart des éléments des substances alimentaires.
- La flore fongique contaminant les denrées alimentaires est très importante et diversifiée, plus de 800 espèces ont été recensé, ils appartiennent surtout aux mucorales.
- Les enzymes secrétées par les moisissures comme les amylases, les protéases et les lipases entraînent une altération des denrées alimentaires avec une perte économique considérable.

**NB** : la plupart des aliments peuvent être contaminé en cours de préparation mais surtout pendant l'entreposage ou ça engendre des dégâts considérables et un risque d'intoxication alimentaire.

- L'altération aboutit à une modification de la valeur nutritive du produit, à l'apparition de flaveur indésirable, à une modification des caractéristiques organoleptiques, exemples : gout ammoniacque des pâtes molles est du à une charge importante de *Geotrichum candidum*.  
Le gout amer du café est du à la présence d'*Aspergillus tamarri*.
- Certaines moisissures attaquent préférentiellement une denrée alimentaire plus qu'une autre.
  - Les agrumes : *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum*...
  - Pommes et poires : *Penicillium expansum*,

- Fraises : *Rhizopus*
- Tomates : *Alternaria, Penicillium*
- Banane : *Fusarium*
- Pomme de terre : *Fusarium solani*
- Fruits secs : *Aspergillus, Penicillium*
- Graminés : *Fusarium, Alternaria, Cladosporium, Aspergillus, Penicillium*



*Penicillium digitatum*

### **III. Flore indicatrices de l'altération de la qualité sanitaire**

Les aliments peuvent être les vecteurs ou de véritables milieux de culture de microorganismes.. La prolifération des microorganismes dans les produits alimentaires dépend de la présence des conditions nécessaires à leur croissance. Dans ce cas, généralement défavorable, il ya altération de la qualité sanitaire si les germes sont pathogènes Ils peuvent être alors potentiellement responsables 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 des produits qu'ils excrètent.

Certains espèces bactériennes sont de très bons indicateurs de la présence de ces pathogènes, on peut citer les coliformes, les entérobactéries, les streptocoques fécaux, les anaérobies sulfitoréducteurs.....

#### **III.1. Coliformes et coliformes thermotolérants**

##### **III.1.1. coliformes totaux**

Ce sont des espèces appartenant à la famille des *Entérobacteriaceae*, ce sont des bactéries aérobies ou anaérobies facultatives, à Gram négatif, asporulées, en forme de bâtonnet possédant l'enzyme  $\beta$ -galactosidase. Les principaux genres bactériens inclus dans le groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia*. Ils vivent dans l'intestin des animaux

homéothermes, mais aussi dans l'environnement en général (sols, végétation et eau). Ce groupe bactérien est utilisé comme indicateur de la qualité microbienne (surtout pour l'eau) parce qu'il contient notamment des bactéries d'origine fécale, comme *Escherichia coli*. La presque totalité des espèces sont non pathogènes et ne représentent pas de risque direct pour la santé, à l'exception de certaines souches d'*Escherichia coli* ainsi que de rares bactéries pathogènes opportunistes.

*E. coli* est la seule espèce du groupe des coliformes totaux que l'on trouve exclusivement dans les intestins des mammifères, dont les humains. La présence d'*E. coli* dans de l'eau indique une contamination récente par des matières fécales, et peut indiquer la présence possible de pathogènes responsables de maladies, comme des bactéries, des virus et des parasites. Même si la plupart des souches d'*E. coli* sont inoffensives, certaines souches, comme *E. coli* O157:H7, peut causer des maladies.

### **III.1.2 Coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants**

sont un sous-groupe des coliformes totaux constituent un groupe hétérogène qui comporte plusieurs genres comprenant des espèces d'origine fécale et des espèces d'origine non fécale. Ils sont capables de fermenter le lactose à une température de 44 - 45°C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* (*E. coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés.

Bien que la présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale. C'est pourquoi il serait plus approprié d'utiliser le terme « coliformes thermotolérants » plutôt que celui de coliformes fécaux.

L'intérêt de la détection de ces coliformes, à titre d'organismes indicateurs, réside dans le fait que leur survie dans l'environnement est généralement équivalente à celle des bactéries pathogènes et que leur densité est généralement proportionnelle au degré de pollution d'origine fécale humaine ou animale. Ils sont généralement en nombre inférieur aux coliformes totaux et indiquent qu'il y a contamination récente ou constante

Il existe en effet une corrélation entre la présence de bactéries coliformes, témoins de la contamination fécale, et la présence de bactéries pathogènes.

### **III.2. Enterobacteriaceae**

Appartiennent à une famille de courts bâtonnets à Gram négatifs, de 0,3 à 1,0 µm sur 1,0 à 0,6 µm, dont certains sont mobiles au moyen de flagelles péritriches et d'autres immobiles. Non sporulés, ils se multiplient en présence et en absence d'oxygène. Ils possèdent un métabolisme respiratoire et fermentatif et produisent des acides, et souvent du gaz, lors de la fermentation de glucose et d'autres hydrates de carbones.

Il s'agit d'un groupe biochimiquement et génétiquement apparenté, présentant une grande hétérogénéité du point de vue de son écologie, de ses hôtes, et de son potentiel pathogène pour l'homme, les animaux, les insectes et les plantes. Cette famille inclut plusieurs genres et espèces de bactéries pathogènes intestinale (*Shigella*, *Salmonella*, et les souches pathogènes de *Yersinia* et d'*E. coli*). Elle comprend également de nombreux genres présents naturellement dans l'environnement, y compris sur les plantes, sans être d'origine fécale ni associés à des maladies d'origine alimentaire.

Dans les denrées alimentaires d'origine animale, les entérobactéries sont d'origine intestinale ou environnementale. Bactéries indicatrices, elles peuvent signifier un défaut d'hygiène lors des processus de fabrication : une contamination fécale, environnementale, une insuffisance des procédés de traitements, un défaut d'hygiène du matériel et de l'équipement utilisés, ou une contamination croisée d'une autre origine (végétale par exemple).

Pour les produits prêts à consommer et conservés sous réfrigération, les entérobactéries peuvent également signifier une conservation à des températures trop élevées ou pendant une durée trop longue. Etant donné les multiples sources de contamination, leur présence en grands nombres dans des produits traités thermiquement et dans les produits prêts à être consommés peut provoquer diverses affections chez l'homme.

### **III.3. Escherichia coli**

C'est l'espèce type de la famille des Enterobactéries. Les *Escherichia coli* sont des coliformes thermotolérants produisant de l'indole à partir du tryptophane à 44 °C. Ils donnent un résultat positif à l'essai au rouge de méthyle. Ces bactéries ne peuvent pas produire de l'acétyl-méthyl-carbinol ni utiliser le citrate comme unique source de carbone. Ils sont également capables de croître en aérobiose à +44°C en milieu liquide.



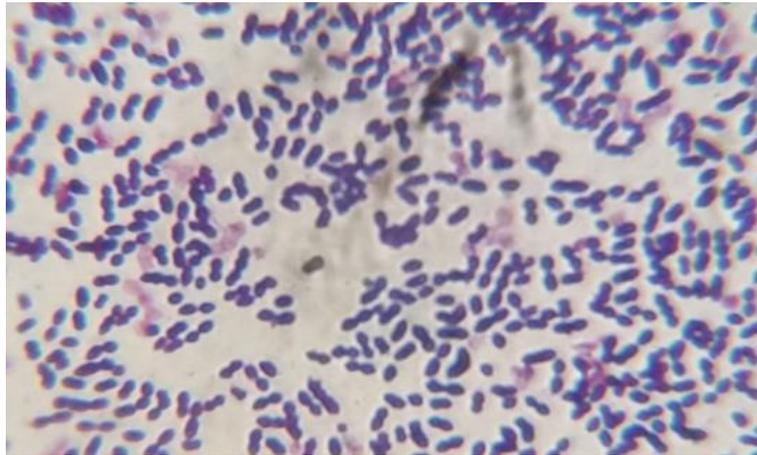
### *Escherichia coli*

*E.coli* est un hôte normal de l'intestin de l'homme, dans les fèces, son nombre est voisin de  $10^6 - 10^7$  par gramme. Comme les autres bactéries du groupe des coliformes, c'est une bactérie spécifique de contamination fécale, c'est un bon marqueur de qualité hygiénique des produits, la recherche de cet indice de qualité est généralisé pour le contrôle de l'eau et des aliments qui sont le véhicule de transmission des toxico-infections alimentaires.

#### **III.4. Streptocoques fécaux**

Ce sont des bactéries appartenant à la famille des *Streptococcaceae*, sous forme de coques à Gram positifs, immobiles, asporulés, mais généralement regroupés en paires et surtout en chaînes de longueurs variables, sont catalase négative. Les streptocoques fécaux (*Enterococcus* ou streptocoques du groupe D) sont des commensaux de l'intestin. *Enterococcus faecalis* et *E. faecium* sont les deux espèces le plus souvent identifiées chez l'humain.

Elles sont présentes dans les intestins d'environ 75 % des humains, à des concentrations variant de  $10^5$  à  $10^8$  bactéries/g. Leur détection témoigne, généralement d'une pollution fécale ancienne.



**Streptocoque du groupe D**

De toutes les bactéries non sporogènes, ces germes sont parmi ceux qui résistent le mieux à des conditions de milieu défavorables. Ils résistent mieux que les coliformes et *E.coli* à la réfrigération, à la congélation, au chauffage (jusqu'à 60°C pendant 30 minutes), à la salaison (6.5% NaCl) et à la dessiccation. Toutefois, ces germes sont moins souvent associés aux germes pathogènes que les coliformes fécaux. Ils ne renferment pas d'espèce considérée pathogène du point de vue alimentaire.

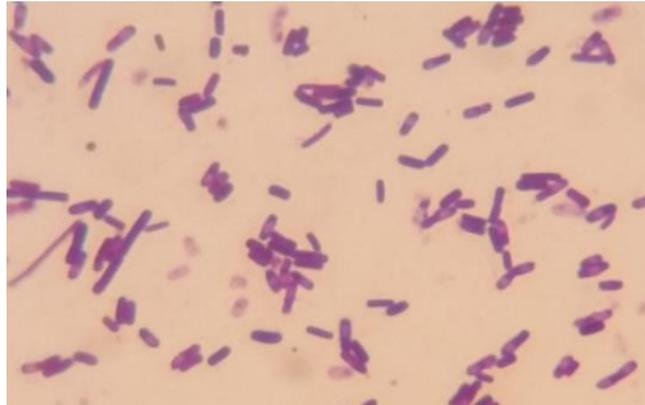
Cependant, après prolifération abondante dans l'aliment, entre  $10^8$  et  $10^{10}$  bactéries/ g de produit, ces germes peuvent être à l'origine de toxi-infections bénignes qui sont, toutefois, exceptionnelles. Elles provoquent des symptômes ordinaires de la gastro-entérite (douleurs abdominales et diarrhées) suite à l'ingestion de produits contaminés tel que les viandes, les produits laitiers, la pâtisserie.

### **III.5. Spores de bactéries anaérobies sulfite réductrices et spores de *Clostridium Sulfite Reducteur***

Les anaérobies sulfite-réducteurs sont un groupe bactérien mal défini. Pourtant, dans un certain nombre de produits alimentaires, c'est un des critères microbiologiques de la qualité, il peut être considéré comme un bon témoin de contamination fécale mais ancienne). On appelle donc anaérobies sulfite-réducteurs les bactéries qui poussent en anaérobiose avec réduction des sulfites en sulfures, en donnant des colonies caractéristiques dans un milieu défini, quelques espèces de *Clostridium* sont aérotolérantes.

Ce sont des bacilles à Gram positifs, souvent de grande taille, isolés ou en chaînettes, les cultures âgées apparaissent Gram négatifs, sont mobiles ne possèdent pas de catalase et sont capables de sporuler. La forme et la position de la spore ont une importance taxonomique.

Les spores sont des formes résistantes, dont les plus fréquentes et les plus faciles à mettre en évidence sont les Clostridies. Elles sont généralement présentes dans les matières fécales mais en plus petite quantité qu'*E. coli*, présentes également dans le sol, les rivières.



*Clostridium sp*

Les bactéries anaérobies sulfite réductrices sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux, mais on les rencontre fréquemment dans la matière organique en cours de putréfaction et dans la nature, particulièrement dans le sol d'où l'appellation « Bactéries telluriques » où les spores sont capables de survivre durant de longues périodes.

Les clostridies sont inhibées par des pH acides et des concentrations en NaCl qui reste l'un des facteurs les plus importants pour limiter la croissance de *Clostridium* dans les aliments.

Plus de cent (100) espèces de Clostridiales sont identifiées mais moins de vingt sont pathogènes. Ces germes pathogènes peuvent être subdivisés en quatre groupes ; les trois premiers sont basés sur l'activité des toxines produites et leur tissu-cible (clostridies neurotoxiques, clostridies histotoxiques et clostridies entéropathogènes et entérotoxémiques), le quatrième contient les pathogènes de moindre importance.

### **I. Bactéries pathogènes responsables d'infections alimentaires**

Les maladies bactériennes gastro-intestinales sont à 80% d'origine alimentaire.

#### **• Infections dues à des bactéries entéropathogènes :**

##### **1 Par l'action d'une toxine :**

- soit préformée dans l'aliment. Il s'agit essentiellement d'intoxinations staphylococciques .  
Les microorganismes synthétisent cette toxine de nature protéique en fin de la phase

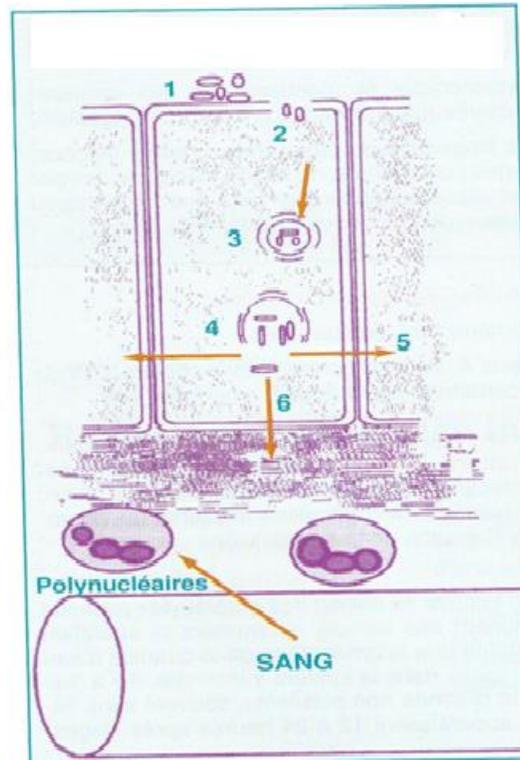
exponentielle de croissance (*S. aureus*) dans l'aliment. La toxine préformée est ingérée et agit immédiatement sur le tube digestif, il s'agit d'une intoxication.

- Soit produite au niveau de l'épithélium intestinal.

*Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* et certaines souches d'*E. coli*. Ces bactéries, déjà présentes dans l'aliment ou apporté par l'air (*Bacillus cereus*), l'eau (vibrions), se multiplient dans l'aliment sans y produire de toxines.

Après ingestion elles parviennent au niveau de l'intestin ou elles adhèrent à l'épithélium du colon. C'est la fixation des bactéries à l'épithélium intestinal qui provoque la synthèse et la libération de leurs endotoxines

- 2 **Par multiplication de bactéries entéroinvasives** : il s'agit d'une toxi-infection, souvent infectieuse et accidentelle qui intervient suite à l'ingestion d'aliment contaminés par des agents pathogènes dans lequel la prolifération des microorganismes atteint  $10^6$  à  $10^7$  par gramme, c'est le cas de *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Campylobacter* et de nombreuses entérobactéries. Ces bactéries procèdent par une invasion de l'épithélium intestinal. Les étapes sont illustrées dans la figure suivante.



Fragement  
d'intestin

### **Figure illustrant l'Adhésion et la multiplication des bactéries Entéropathogènes dans les entérocytes (Figarella et al 2004)**

**1:** adhésion de la Bactérie à la membrane de l'entérocyte. **2:** Elles sont englobées dans la cellule dans des vésicules d'endocytose. **3:** multiplication dans la vésicule. **4:** Eclatement de la vésicule et libération des bactéries. **4.5:** regagnent les cellules voisines. **6:** puis le tissu conjonctif.

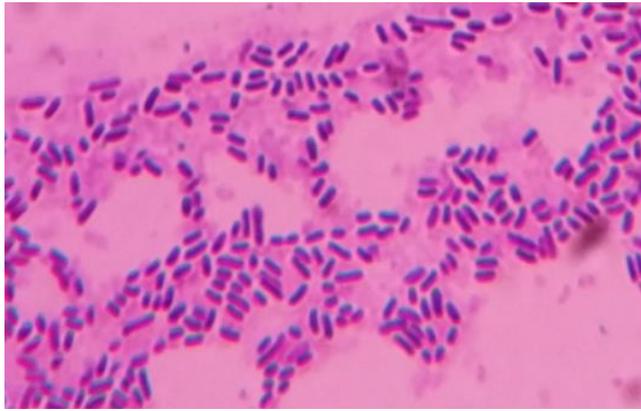
La présence de bactéries à ce niveau provoque une réaction inflammatoire puis une phagocytose des bactéries. Les symptômes provoqués par ces bactéries invasives sont : une fièvre élevée, diarrhée purulente et parfois sanglante. Ces symptômes apparaissent 24 à 48 heures après l'ingestion de l'aliment contaminé.

- **Infection due à des bactéries non entéropathogènes :** cas de *Listeria monocytogenes*, agent de la listériose et les intoxications botuliniques ou le *C. botulinum* synthétise sa toxine de nature protéique au cours de la phase exponentielle de croissance
- La formation de métabolites toxiques à partir de protides est fréquente, ceci correspond à une intoxication de type histaminique qui est due à la production de quantité importantes d'amines toxiques dans l'aliment du fait de la décarboxylation de différents acides aminés ( en particulier l'histidine) par des bactéries possédants des décarboxylases.

Il s'agit d'une intoxication histaminique caractérisée par des nausées, des vomissements, une diarrhée, des bouffées de chaleur et des œdèmes.

#### **IV.1. Salmonella**

Appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Les *Salmonella* sont constituées de bacilles droits à Gram négatifs, non sporulés, d'une taille de 0,7 à 1,5 µm de large et de 2,0 à 5 µm de long, anaérobies facultatifs, leur survie voire leur multiplication est possible dans un milieu privé d'oxygène. Les bacilles sont généralement mobiles grâce à des flagelles péritriches. Ils produisent généralement des acides et du gaz à partir de glucose et peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone.



*Salmonella spp*

- Ces bactéries croissent à des températures situées entre +8°C et +45°C, Elles survivent aux basses températures et donc résistent à la réfrigération et à la congélation, En revanche, elles sont détruites par la pasteurisation (72°C pendant 15 sec).
- Elles sont capables de se multiplier dans une plage de pH de 5 à 9, mais sont sensibles à la fermentation lactique, lorsque celle-ci entraîne des concentrations en acide lactique supérieures à 1% et un pH inférieur à 4,55.
- Le genre *Salmonella* est divisée en 2 espèces, *S. enterica* et *S. bongori*.  
*S. enterica* est elle même subdivisée en 6 sous-espèces, dont les sérovars sont régulièrement rencontrés chez l'homme, dans les produits de l'agriculture et les aliments. La souche-type de ce genre est *S. enterica subsp. enterica Typhimurium*. Toutes les souches de *Salmonella* sont potentiellement pathogènes pour l'homme, mais certains sérotypes sont particulièrement pathogènes pour l'homme, causant un syndrome typhoïde; il s'agit de *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi C*. La sous-espèce *enterica* est subdivisée en sérovars ou sérotypes sur base des antigènes somatiques (O), capsulaires (Vi) et flagellaires (H), conformément au schéma de Kauffmann-White.
- Plus de 2400 sérotypes sont décrits, mais 20.000 combinaisons sont possibles en se basant sur ce schéma. Après *S. Typhimurium*, au milieu des années 80, *S. Enteritidis* est devenu le sérotype de *Salmonella* le plus souvent rencontré, en raison de sa transmission verticale de la poule à l'œuf.
- Plus récemment, *S. Typhimurium* DT104, hautement virulente et résistance à de multiples antibiotiques, a émergé en Europe et aux USA.
- Ce microorganisme est ubiquitaire dans l'environnement naturel. Sa présence chez les animaux de rente et sur les végétaux est favorisée par l'élevage intensif et l'utilisation d'engrais organiques non traités pour fertiliser les cultures.

- Les toxi-infections à *Salmonella* sont très fréquentes et ces germes sont les plus souvent impliqués dans les TIA. La dose infectante est de quelques cellules pour *Salmonella typhi*, *paratyphi A*, *B* ou *C*, et de  $10^9$  pour *S. typhimurium* et de  $10^6$  pour *S. anatum*.

- La pathogénicité des *Salmonella* non-typhoïdiennes est due à leur résistance au pH acide de l'estomac, leur compétition avec la flore normale de l'intestin grêle et à leur franchissement de la barrière épithéliale pour proliférer dans les plaques de Peyer et envahir les ganglions mésentériques. Elles peuvent également atteindre la circulation sanguine et donner lieu à des abcès dans différents tissus, voire une septicémie.

La volaille, et plus particulièrement les œufs et les carcasses, est la source principale des cas humains de salmonellose. *Salmonella enteritidis* est le sérotype typiquement présent dans le tractus reproducteur de la poule.

-Les animaux atteints produisent des œufs contaminés au niveau du vitellus (jaune), de l'albumen (blanc), des membranes ou de la coquille, en raison d'une contamination de la coquille par des fientes ou d'une contamination de la partie interne de l'œuf lors de son passage dans le tractus reproducteur. D'autres sérotypes tels que *Salmonella typhimurium* sont plus fréquents chez les poulets de chair et, dans une moindre mesure, dans les autres filières de production de viande. La viande de bœuf est l'autre source de contamination la plus souvent rencontrée. Les produits végétaux peuvent également être une source de *Salmonella* en raison de l'utilisation d'eau ou d'engrais contaminés.

## **VI.2. *E.coli* O157:H7**

Certains types d'*Escherichia coli* peuvent provoquer des troubles digestifs : ce sont les *Escherichia coli* entéropathogènes (EPEC). Elles sont responsables de certaines gastro-entérites, notamment dans les diarrhées infantiles et dans la "diarrhée des voyageurs"

Deux types de souches sont actuellement décrites :

- d'une part des souches entérotoxigènes (ETEC) capables d'excréter soit une entérotoxine thermostable (fraction ST), soit une entérotoxine thermolabile (fraction LT) ; ces germes doivent, pour manifester leur pouvoir pathogène posséder des structures d'adhérence de type pili dont la production est codée par une plasmide (CFA I et II).
- D'autre part, il existe des souches invasives (EIEC) provoquant des diarrhées aiguës, avec fièvre, myalgies et frissons. Parmi les sérotypes, les plus souvent responsables de cette maladie, on

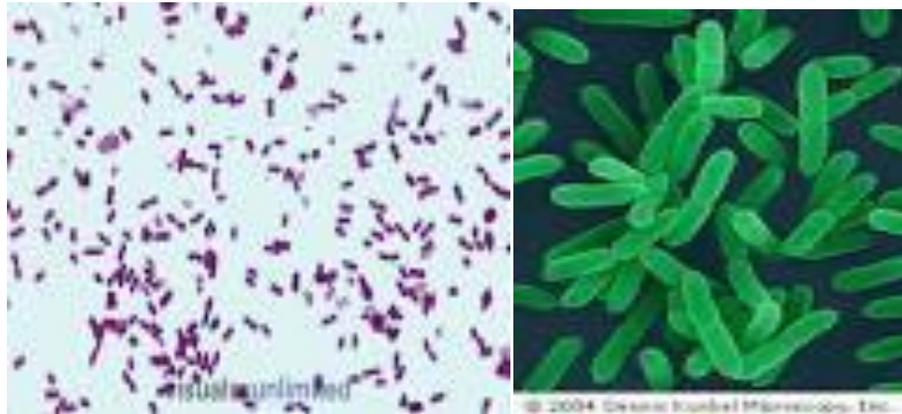
peut signaler 0 25, 0 27, 0 111, 0 115, 0 124, 0 157. Ces bactéries envahissent les cellules épithéliales du colon et provoquent une diarrhée ressemblant à une shigellose. Des complications au niveau du tractus urinaire sont parfois associées à cette TIA.

*E.coli* entérohémorragiques O157, H7(EHEC) isolé à partir de nombreux produits alimentaires provoque une colite hémorragique sévère. Cet *E. coli* vérotoxigène a été isolé dans de la viande mal cuite et certains produits laitiers.

Les infections sont le plus souvent causées par la consommation de viande de boeuf contaminée et insuffisamment cuite, mais peuvent également être dues à la consommation d'eau, de lait cru, de fruits, légumes, à des baignades, et à des contacts entre personnes...

### IV.3. *Yersinia enterocolitica*

Le genre *Yersinia* comprend 11 espèces appartenant aux *Enterobacteriaceae*. Il s'agit de bacilles à Gram négatifs, non sporulés, anaérobies facultatifs qui fermentent le glucose. Plus petites que la plupart des autres entérobactéries, elles apparaissent souvent comme des coccobacilles lorsqu'elles se multiplient à 37°C.



*Yersinia enterocolitica*

Ce genre comprend 4 espèces pathogènes bien caractérisées : *Yersinia pestis* responsable des pestes bubonique et pulmonaire, *Y.pseudotuberculosis* pathogène des rongeurs et occasionnellement de l'homme, *Y. ruckeri* provoquant des maladies chez les poissons d'eau douce, et *Y. enterocolitica*, un pathogène intestinal. *Y. pseudotuberculosis* et *Y. enterocolitica* sont les 2 agents pathogènes d'origine alimentaire. Elles atteignent le tractus gastro-intestinal de l'homme et provoquent des entérites, entérocolites, lymphadénites, et rarement des infections extra-intestinales telles que des arthrites. *Y. enterocolitica* est également présente dans l'intestin d'animaux sains tels que les bovins,

chiens et chats. L'espèce *Y. enterocolitica* est divisée en plusieurs sous-groupes suivant leur activité biochimique (biotype) et les antigènes O lipopolysaccharides (sérotipe) qu'ils portent. *Y. enterocolitica* est psychrotrophe, c'est-à-dire capable de se multiplier à des températures inférieures à 4°C. Sa température optimale de multiplication est cependant de 28-30°C. L'infection du tube digestif a pour origine l'adhésion et l'invasion des cellules de la lumière intestinale

L'infection causée par cette bactérie est qualifiée de yersiniose : la forme la plus commune est une gastroentérite et ce sont les enfants qui sont plus sévèrement affectés avec des douleurs abdominales intenses, diarrhée, vomissement et fièvre (pseudo-appendicite).

Des syndromes plus sérieux comme une septicémie, une méningite, une polyarthrite ou une adénite, peuvent subvenir. La mortalité reste rare et les signes cliniques disparaissent généralement au bout de 48 heures.

Le plus souvent ce sont des aliments, et en particulier le lait, les produits laitiers, les coquillages, les viandes et les volailles qui sont impliqués dans cette maladie. Seules certaines souches sont pathogènes.

Ce microorganisme psychrophile est très sensible à la chaleur et est facilement détruit par cuisson ou pasteurisation. Dans un milieu entreposé à 7°C, une centaine de cellules contaminantes donnent après 10 jours 10<sup>7</sup> germes par g.

#### **IV.4. Shigella**

*Shigella*, qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, est un bacille pathogène à Gram négatif. Il s'agit d'une bactérie anaérobie facultative non mobile et non encapsulée, qui ne fermente pas le lactose ou le fermente lentement.

On peut différencier différents sérogroupes, qui sont considérés comme des espèces, *S. dysenteriae* *S. flexneri* sont des hôtes de l'intestin de l'homme et des primates et sont considérées comme les plus virulentes, elles peuvent produire une cytotoxine puissante « la toxine de Shiga ».

Elle provoque une maladie infectieuse caractérisée par une invasion de la muqueuse du colon sans atteinte du tissu sous-muqueux. L'infection peut être contractée à la suite de l'ingestion de 10 à 200 cellules bactériennes.

➤ Les différentes étapes de cette physiopathologie sont les suivantes:

1) Adhésion : reconnaissance de structures entérocytaires réceptrices par les adhésines microbiennes

- 2) Invasion : les structures protéiques bactériennes ou invasives sont analogues à certaines protéines de surface. Parfois c'est une même protéine qui joue ces deux rôles.
- 3) croissance intracellulaire : si deux à trois *Shigella* ont pénétré dans une cellule, elles se multiplient sans phase de latence et au bout de 4 heures leur nombre est voisin de 400.

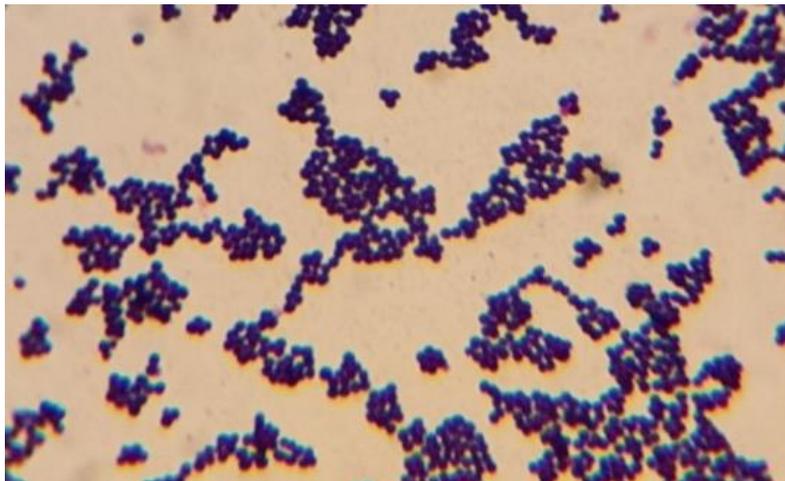
A titre de comparaison un phénomène de pénétration de deux *Salmonella typhimurium* ne se traduit, au bout de 5 heures, que par la formation de 10 bactéries par cellule.

La transmission de l'infection se fait suite à l'ingestion d'aliments contaminés (lavés avec de l'eau contaminée par des excréments ou manipulés dans de mauvaises conditions d'hygiène; les aliments le plus souvent contaminés sont la salade verte, le poulet et les mollusques et crustacés), d'eau contaminée (ou baignade dans des piscines).

#### **IV. 5. Staphylococcus**

Les bactéries du genre *Staphylococcus* appartiennent à la famille des *Micrococcaceae*, ce sont des coques (cocci) à Gram positifs, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, acapsulés, catalase positive et oxydase négative, aéro-anaérobies.

Parmi les 27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*. Parmi ces trois espèces, seule *Staphylococcus aureus* était présumé développer un pouvoir pathogène à cause de la présence d'une enzyme, la coagulase, qui peut transformer le fibrinogène en fibrine.



*Staphylococcus aureus*

*S.aureus* peut être retrouvé notamment chez de nombreuses espèces animales, sur la peau ou encore sur la muqueuse du rhinopharynx. C'est une bactérie thermosensible : une exposition à une

température de 60°C pendant 0,43 à 8 minutes permet de détruire 90% des cellules bactériennes. Une réduction partielle du nombre de bactéries dans de la viande hachée a été observée après 8 jours de stockage à -20°C. Un traitement de 0,1 à 0,6 kGray permettent de détruire 90% des cellules.

La température minimale de croissance est pour certaines souches de 6°C, pour d'autres elle est supérieure à 12°C. La température maximale de croissance est de 48,5°C pour certaines souches alors qu'elle ne dépasse pas 39,5°C pour d'autres. La production d'entérotoxines peut se faire entre 10°C et 48°C mais la zone de température permettant la toxinogénèse est en réalité beaucoup plus étroite pour certaines souches.

*S. aureus* est sensible aux acides (pH minimum de croissance de 4) mais tolère une  $a_w$  exceptionnellement basse pour une bactérie ( $a_w$  minimum de 0,83 en aérobiose, 0,90 en anaérobiose). *S. aureus* présente une bonne capacité de survie dans l'environnement grâce à sa faculté d'adaptation et à sa résistance au stress.

*S. aureus* dispose d'un équipement enzymatique important (hyaluronidase, fibrinolysine) et secrète diverses toxines (hémolysines, leucocidines, entérotoxines).

La présence de *S. aureus* dans les aliments constitue un risque pour la santé humaine parce que certaines souches sont capables de produire des entérotoxines extrêmement actives et dont

l'ingestion provoque l'apparition des intoxications alimentaires dites « à staphylocoques » ou intoxications. Les symptômes apparaissent brutalement : nausées, douleurs abdominales et surtout vomissements violents et répétés souvent accompagnés de diarrhée. Il n'y a généralement pas de fièvre. Des complications peuvent survenir en fonction de la dose ingérée et de la sensibilité individuelle : déshydratation, prostration, hypotension, état de choc. Le rétablissement intervient dans les 24 à 48 h, sans séquelle. La mortalité est exceptionnelle.

Les entérotoxines staphylococciques sont de petites protéines thermostables alors que la bactérie est thermosensible. Plusieurs types immunologiques d'entérotoxines ont été décrits : les types A à E, d'incidence connue, et les types G à M, récemment décrits, d'incidence inconnue.

Le type A, seul ou en association avec d'autres types, est le plus fréquemment impliqué dans les toxi-infections collectives (TIAC). L'ingestion de 100 ng d'entérotoxines constituerait la dose minimum capable de provoquer des troubles chez les individus les plus sensibles

Ces entérotoxines sont thermostables ou partiellement dénaturées à la chaleur. La thermorésistance est fonction du sérotype (l'entérotoxine C est plus thermostable que l'entérotoxine B elle-même plus thermostable que la A). Elles sont résistantes aux rayonnements ionisants et à la congélation.

elles peuvent être présentes sous forme active dans les aliments alors que toutes formes viables de la bactérie ont disparu. Les entérotoxines sont généralement détectables pour une charge d'au moins  $10^6$  cellules bactériennes par g.

Les aliments à l'origine de cette enterotoxigénose staphylococcique sont variés, crus ou cuits: plats cuisinés de viandes, volaille, poisson et fruits de mer, charcuteries, pâtisseries à la crème, mayonnaise, crèmes glacées, aliments d'origine non animale ou mixte ( riz cuisiné, salades de riz, de légumes, autres salades composées), aliments à teneur en eau réduite ( salaisons, poisson séché et fumé, lait en poudre, pâtes), lait et produits laitiers (fromages frais et fromages affinés au lait pasteurisé ou au lait cru). Les aliments peuvent être contaminés par les mains des porteurs sains ou infectés qui les manipulent (manuportage) ou par contact avec une matière première ou du matériel ou des surfaces contaminés.

## **VI.6. Vibrio**

Appartiennent à la famille des *Vibrionaceae* qui contient quatre genres, *Vibrio*, *Campylobacter*, *Aeromonas* et *Plaesiomonas*. Cette famille est composé d'espèces sous forme de bacilles en virgule, à Gram négatif, très mobiles aéro-anaérobies facultatifs, oxydase positive, catalase positive, réduisent les nitrates en nitrites, fermente le glucose avec ou sans production de gaz, cultivent assez bien sur milieux ordinaires.

### **VI.6.1. Vibrio cholerae,**

l'espèce est constituée de plusieurs sérovars principalement le sérovar O1 avec plusieurs types Inaba, Ogawa, Hikojima et le sérovar O139. Ces germes contaminent l'eau, les coquillages, les poissons et d'autres produits qu'on consomme cru tel que le lait cru, les légumes. Ils sont pathogènes par l'action des toxines (endotoxine et d'une entérotoxine) qui altère la perméabilité intestinale.

Cette espèce est très résistante et peut vivre très longtemps dans la nature. C'est l'agent du choléra, maladie infectieuse épidémique qui présente les symptômes suivants : douleurs abdominales – vomissements – et une intense diarrhée aqueuse. C'est au niveau de l'intestin grêle que la contamination et la prolifération se produisent par adhésion puis colonisation des entérocytes. La

toxine cholérique provoque une déshydratation très sévère qui peut être mortelle. La dose infectante est de  $10^5$  à  $10^7$  bactéries. Il existe des porteurs sains.

### **VI.6.2. *Vibrio parahaemolyticus***

Découvert pour la première fois en 1951 au Japon à la suite d'une toxi-infection résultant de la consommation de sardines semi-séchées.

*Vibrio parahaemolyticus* est un vibriion marin halophile ( Nacl 3.5%).

Ce germe est responsable de toxi-infections alimentaires, qui se présentant sous forme de gastroentérites avec vomissements, des douleurs abdominales, des diarrhées et de la fièvre. L'incubation est courte, douze heures (12h) et la maladie dure 2 – 5 jours.

Le développement du commerce international des produits de la pêche ou d'élevage va favoriser la diffusion de cette bactérie qui résiste aux opérations de congélation ou réfrigération.

### **VI.7. *Campylobacter***

Le genre *Campylobacter* est constitué de fins bacilles à Gram négatifs incurvés en spirale, non sporulés, parfois en forme de S, d'une taille de 0,2 à 0,5  $\mu\text{m}$  de large et de 0,5 à 5  $\mu\text{m}$  de long. Les bacilles sont mobiles grâce à un flagelle situé à une ou aux deux extrémités de la cellule et ont un mouvement typique de tire-bouchon.

*Campylobacter* a un métabolisme de type respiratoire et est micro-aérophile, c'est-à-dire qu'il requiert une concentration en oxygène entre 3 et 15%.

Certaines souches peuvent occasionnellement se multiplier dans des conditions d'aérobiose ou d'anaérobiose. Ils sont incapables d'oxyder ou de fermenter les sucres et sont positifs au test de l'oxydase.

Toutes les espèces de *Campylobacter* se multiplient à 37°C, mais les *Campylobacter* thermophiles (*C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari*) ont une meilleure croissance à 42°C et ne se multiplie pas à une température inférieure à 25°C. Ces bacilles sont plus sensibles aux conditions défavorables, telles que la dessiccation, la chaleur, l'acidité, les désinfectants ou l'irradiation, que la plupart d'autres bactéries pathogènes intestinales.

*C. jejuni* et *C. coli* causent plus de 95% des campylobactérioses. Il s'agit d'une zoonose. Le réservoir en est le tractus intestinal des animaux domestiques et sauvages, particulièrement les

oiseaux. La transmission a lieu généralement par la consommation d'aliments (viande de volaille insuffisamment cuite), d'eau, des contacts directs ou la manipulation d'animaux infectés (animaux de boucherie et de compagnie). Le nombre d'infections à *Campylobacter* est clairement plus élevé en été, où plus de 40% des cas humains ont pour origine la volaille, et 20% une origine non alimentaire. Les mécanismes de virulence de *Campylobacter* ne sont pas encore bien connus.

Ils auraient comme composantes des toxines, l'adhérence, la mobilité, la capacité de capter le fer et l'invasion bactérienne. La campylobactériose est due à l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminée et donne lieu à de la fièvre, de la diarrhée et de fortes douleurs abdominales. La guérison a généralement lieu sans traitement, après 2 à 6 jours.

*Campylobacter* est fréquemment présent dans le tractus intestinal des volailles, et bovins, mais en raison des techniques d'abattage de cette espèce, la viande de volaille est la principale source de contamination de l'homme.

## **VI.8. *Listeria monocytogenes***

Bactérie à l'origine de graves atteintes materno-fœtales, neuroméningées et septicémiques.

Sa position systématique est incertaine, elle est proche des *Lactobacillaceae*, c'est un bacille à Gram positif se regroupant en palissade, parfois elle présente une forme coccobacillaire, mobile, catalase positive et oxydase négative, aéro anaérobie (ou microaérophile), son pH de croissance est proche de la neutralité (7.2 – 7.6), résistante à des pH acides. La température de croissance se situe entre 03° et 45°C avec un optimum de 37°C, elle se développe très bien à 4°C, elle est très résistante aux différents agents physiques et chimiques ( la pasteurisation détruit pas constamment cette bactérie, 2s à 72°C), elle peut vivre en présence de « 10% de NaCl, 40% de bile et 0.5% de tellurite de K ». Elle se multiplie normalement dans le lait à 22°C après la traite.

La pathogénicité de cette espèce est liée à la synthèse d'une hémolysine qui est assez stable et qui est produite pendant la phase exponentielle de croissance de la bactérie, et à la capacité de la bactérie à se multiplier dans l'organisme, il s'agit d'une infection plutôt qu'une toxi infection.

- Listériose materno fœtale : représente 75% des cas environ, l'origine est alimentaire, absence de fièvre et on observe un avortement au 2<sup>ème</sup> trimestre, une mort in utero ou un accouchement pré maturé (cette forme s'accompagne d'infection du nouveau né avec ou non d'atteintes méningées).

Elle est mortelle.

- Listériose de l'adulte et l'enfant : moins fréquente, se manifeste par des méningites, des encéphalites et une septicémie. Elle est mortelle ou laisse des séquelles.

La listériose est en recrudescence continue, l'origine est souvent alimentaire. La présence de cette bactérie a été détectée essentiellement dans du lait ou dans des produits laitiers non ou mal pasteurisés, dans des produits carnés les viandes crues sont très souvent contaminées par *Listeria*,

Ce germe est capable de survivre longtemps dans des conditions défavorables (matériels, sols, végétaux, etc.) et son caractère psychrophile le rend particulièrement dangereux dans les produits réfrigérés.

L'origine de la contamination est soit animale « foyers de listériose animale et des animaux porteurs sains surtout des ovins », soit hydrique et tellurique.

## **VI.9. Bacillus cereus**

C'est une bactérie mineure de toxi infection alimentaire, appartient à la famille des *Bacillaceae*, bacille à Gram positif (négatif avec le vieillissement de la culture), catalase positive et oxydase négative, forme une spore thermorésistante, bactérie aérobie mais peut pousser en anaérobiose sur des milieux de culture complexes à une température comprise entre 30° - 37°C ( la germination des spores de certaines souches peut survenir à des températures plus basses entre 5° et 8°C). le pH de croissance est compris entre 4.5 – 9.3, la croissance est normale en présence de NaCl (7.5%), elle est inhibée en présence d'acide sorbique (0.25%).

La prolifération importante du germe est toujours nécessaire pour que la toxicité se manifeste

(de 10<sup>5</sup> à 10<sup>9</sup> germes par g). Le plus souvent, les purées de pommes de terre, les pâtisseries, les viandes diverses, le riz cuit à l'avance, sont à l'origine de cette maladie. L'origine de la contamination est surtout tellurique, Plus de 10 % des sujets sont porteurs sains de cette bactérie.

Deux types d'atteintes sont possibles : la première est caractérisée par des vomissements très violents qui apparaissent rapidement (30 minutes à 5 heures). La deuxième se traduit par une diarrhée abondante avec douleurs abdominales apparaissant une dizaine d'heures après le repas incriminé. Deux toxines ont été décrites comme étant à l'origine de ces syndromes :

1- une entérotoxine protéique nécrosante qui est le facteur diarrhéique, elle est produite durant la phase exponentielle de la croissance en présence de glucose à un pH compris entre 6 – 8.5 et une température entre 18° - 43°C. La lyse cellulaire n'est pas nécessaire pour la libération de la toxine. Toutefois la toxicité est perdue après la phase exponentielle (pendant la phase stationnaire et de

déclin), elle est instable entre 4° - 25°C, elle est complètement inactivée par chauffage à 56°C durant (5mn), elle est sensible à la trypsine. Cette toxine agit en stimulant l'accumulation des liquides dans l'intestin et c'est ce qui cause des diarrhées.

2- et une toxine polypeptidique qui est le facteur émétique, elle est différente de la première, elle est stable à 120°C pendant (90 mn) et à 4°C pendant (2mois) à un pH de 2 – 11, même en présence de trypsine et même de pepsine.

## **VI.10. Clostridium**

### **VI.10.1. Clostridium perfringens**

Espèce appartenant à la famille des *Clostridiaceae*, c'est un gros bacille droit, à Gram positif se présente isolé ou en paires, sporulé (elle est grande, ovale, centrale ou sub terminal, déformante), strictement immobile. La température optimale de croissance est de 45°C pour certaines souches pour d'autres elle varie entre 37° - 46°C, le pH de culture varie entre 5.5 – 8.

Ces bactéries ont un métabolisme très actif, une croissance rapide et sont capable de réduire fortement leur milieu, elles sont sensibles au NaCl et le KCl. Le *Clostridium perfringens* peut produire ou pas quatre (04) principales exotoxines ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\epsilon$ ,  $\delta$ ), ce critère est utilisé pour classer cette espèce en cinq (05) types A, B, C, D, E.

-Toxine  $\alpha$  : est une toxine une phospholypase, elle est hémolytique, elle peut causer des myonécroses. Elle est produite par tous les types de *C. perfringens* (il existe des exceptions).

-Toxine  $\beta$  : est un polypeptide à simple chaîne, augmente la perméabilité capillaire.

-Toxines  $\epsilon$  et  $\delta$  : elles sont excrétées sous forme de protoxines qui sont activées par les enzymes protéolytiques tel que la trypsine, elles augmentent la perméabilité vasculaire.

Toutes ces toxines interviennent dans le pouvoir pathogène de *C. perfringens* (gangrènes gazeuse).

Ces entérotoxines sont produites par certaines souches de *C. perfringens* de type A responsable de toxi infection alimentaire chez l'homme. La pathogénicité (toxinogénèse) est liée à la sporulation (c'est au cours de la sporulation que l'entérotoxine est produite et libérée dans le milieu).

Seule l'ingestion de grande quantité de cellules végétatives de *C. perfringens* de type A ( $10^8$  germes/gr) provoque une TIA, les symptômes sont des douleurs abdominales importantes, diarrhées (absence de vomissement et fièvre) qui régressent en 24H, ces symptômes ne sont pas graves mais peuvent l'être chez des sujets faibles (enfant ou personne âgée).

Ces TIA sont occasionnés par les produits carnés souvent préparés en grande quantité et laissés à température ambiante.

### **VI.10.2. Clostridium botulinum**

C'est l'agent du botulisme, espèce de la famille des *Clostridiaceae*, bacille à Gram positif aéro anaérobie strict, sporulé, cette espèce a des exigences nutritionnelles, la température optimale est comprise entre 28° - 44°C, celle minimale entre 05° - 20°C, le pH de croissance est neutre (impossible à un pH<4.5), ce qui indique un plus grand risque de développement de cette bactérie dans plusieurs produits à pH élevé tel que les produits carnés et un risque minimum pour les aliments acides tel que les jus (d'où l'intérêt d'ajout de substances acides aux aliments/ a. citrique).

Les spores se trouvent surtout dans la nature (sol, eau), elles sont thermorésistantes.

**NB** : dans les normes les barèmes de stérilisation sont calculés de façon à réduire les spores de *C botulinum* de 10<sup>12</sup>, pour éliminer tout risque de contamination, c'est donc une espèce de référence.

Le *C botulinum* synthétise sept (07) neurotoxines différentes à action paralysante : A,B,C<sub>1</sub>,D,E,F,G et une toxine mineure la C<sub>2</sub>, la maladie, « Botulisme », intervient suite à l'ingestion de toxine préformée dans les aliments, il s'agit d'une intoxication et de bactéries et spores également présents dans l'aliment, il s'agit d'une toxi infection alimentaire.

Les toxines « exotoxines » sont des polypeptides produits généralement pendant la croissance des bactéries, certaines espèces de *C botulinum* produisent deux toxines (A et B, A et F, B et E), elles agissent en trois étapes :

- Fixation au niveau ganglionnaire (récepteur membranaire au niveau des synapses)
- Migration vers les neurones.
- Etape lytique qui se traduit par des paralysies

Après 2H à 24H l'action des toxines botuliques sur les fibres nerveuses provoquent une paralysie oculaire, une sécheresse de la bouche (défaut de sécrétion salivaire), une rétention urinaire, des troubles sensitifs et on peut même observer des paralysies des muscles (respiratoire).

Les plus fréquents sont les botulismes dus à la consommation de conserves mal traités ou insuffisamment stérilisés, ou des produits conservés par des procédés traditionnels, tels que la conservation sous graisse, salaison....

Les produits congelés ne sont pas concernés par cette contamination vu que *C botulinum* ne supporte pas les très basses températures (négatives).

## V. Les moisissures productrices de mycotoxines

Qu'est ce qu'une mycotoxine ? C'est une substance organique synthétisée par certaines moisissures et qui présente une toxicité pour l'homme et l'animal.

- Ces toxines fongiques ne sont pas antigéniques.
- Une espèce de moisissure peut produire plusieurs toxines, et une même toxine peut être synthétisée par plusieurs espèces.
- Pour une espèce donnée, certaines souches peuvent se révéler toxigènes.
- Les mycotoxines s'observent sur tous les produits altérés par les moisissures, mais les céréales sont les produits les plus exposés à la production de mycotoxines.
- Les produits carnés ne sont pas très concernés par contre les produits laitiers surtout les fromages à croûte moisi posent problèmes.
- L'absence de moisissures sur les produits ne signifie pas l'innocuité de ce dernier
- Les mycotoxines sont thermorésistantes telle que l'aflatoxine (résistent aux traitements thermiques)
- Les intoxications peuvent être aiguë ou chronique, elles sont fréquentes dans les élevages industriels (tous les jours, la même ration de graines et fourrage pour les animaux)
- la toxicité s'exprime par des symptômes hépatiques, néphrétiques, nerveux, hémorragiques et immuno dépressifs
- Environ 25 % des denrées alimentaires sont contaminées par des mycotoxines, métabolites secondaires de diverses moisissures.

La mycoflore est estimée entre 200 000 et 300 000 espèces. La contamination des aliments ou des graines peut avoir lieu avant ou pendant le stockage. Les champignons toxigènes sont classés en 4 groupes suivant le moment auquel ils se développent :

- pathogène pour la plante (ex. *F. graminearum* élaborant la zéaralénone)
- champignons poussant et produisant la mycotoxines sur plantes stressées (ex *F. moniliforme* produisant la fumonisine et *A. flavus* produisant les aflatoxines)
- champignons colonisant à l'origine la plante et prédisposant celle-ci à la contamination par la mycotoxine lors de la récolte (ex *F. roseum* produisant des trichothécènes)
- champignons existant dans le sol et dans le matériel de putréfaction et qui proliféreront lors du stockage (ex *A. ochraceus* et *P. viridicatum* élaborant tous deux l'ochratoxine A).

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

Plusieurs sortes de mycotoxines sont retrouvées dans les aliments (tableau ci dessous),  
 Seulement certaines contaminent l'alimentation humaine et sont toxiques pour la santé humaine, les plus préoccupante étant : les aflatoxines, l'ochratoxine, la zéaralénone, la citrinine, la patuline, les trichothécènes, les fumonisines.

### **Mycotoxines présentes dans les aliments**

<b>champignons</b>	<b>Toxines</b>	<b>Denrées alimentaires</b>
<i>Aspergillus</i>	Aflatoxines Ochratoxines A	Maïs, arachide, graine de coton, riz, tissus d'animaux ( saucisse), lait et dérivés
<i>Fusarium</i>	Zéaralénone, Fumonisines, Trichothécènes	Blé, maïs, orge, riz, seigle, avoine
<i>Penicillium</i>	Patuline, Ochratoxine A, Citrinine	Fruits et jus de fruits, blé, riz, fromage, noix
<i>Alternaria</i>	Alternariol	Fruits, légumes et produits dérivés de pommes et tomates
<i>Claviceps</i>	Alcaloïdes de l'ergot	Blé et dérivés, seigle

## **VI. Les maladies parasitaires d'origine alimentaire**

Les parasitoses alimentaires peuvent être contractées lors de l'ingestion d'eau ou d'aliment, Les parasites concernés sont très diversifiés, on trouve des Nématodes, des Trématodes, des Cestodes ou encore des Protozoaires.

Les animaux et plus particulièrement les ruminants sont souvent porteurs de parasites à localisation diverse, même si la plupart siègent principalement dans l'intestin et concernent les Helminthoses intestinales.

Le fait que ce parasitisme animal peut impliquer le passage chez l'homme, dans ce cas on parle alors de zoonoses qui peuvent avoir une incidence plus ou moins grave pour l'espèce humaine.

Si les parasites animaux sont prédominants dans l'intestin, il n'est pas rare d'observer d'autres localisations parasitaires normales. Certains parasites peuvent se trouver dans les muscles exemple : toxoplasmose, (cestodose), dans les viscères (distomatose), dans l'estomac (oestertagiose), dans les poumons (paragonimose), dans le cerveau (cénurose). Or la plupart de ces organes ou viscères rentrent dans l'alimentation de l'Homme et de ce fait peuvent avoir des répercussions sur la santé plus ou moins graves selon le type de parasite présent et la sensibilité de l'hôte.

Certains parasites comme les trématodes liés à la consommation de poissons ne sont transmis que par l'alimentation.

D'autres comme *Echinococcus spp* ou *Taenia solium* peuvent infecter les personnes via les aliments ou le contact direct avec les animaux.

D'autres encore *Ascaris*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica* ou, *Giardia* pénètrent dans la chaîne alimentaire par l'eau ou le sol et peuvent contaminer les produits frais.

## **VII. Maladies alimentaires d'origine virale**

Alors que la présence éventuelle de bactéries et moisissures est largement prise en compte par l'ensemble des filières dans la maîtrise des risques liés à la sécurité alimentaire d'un produit, celle de virus est encore de nos jours mal étudiée. Pourtant la présence de virus est aujourd'hui potentiellement détectable ; les sources primaires de contamination sont connues.

Parmi les nombreux virus responsables de pathologies humaines et transmissibles par voie alimentaire on a :

- le virus de l'hépatite A (HAV, virus à ARN simple). L'aliment est impliqué dans environ 10 %

des cas.

- le virus de l'hépatite E le *rotavirus* (ARN double brin avec capsid e à deux couches, culture de cellules de singe FR4K4)

- L'*adénovirus* (responsable de gastroentérites virales: ADN double brin, culture de cellules de colon humain HRT 18). La contamination des aliments est souvent d'origine fécale, la plupart des virions se retrouvant dans les fèces des personnes infectées.

Dans ces conditions, les produits alimentaires les plus souvent impliqués sont l'eau, les produits de la mer, les végétaux crus (salades, etc). Il est souvent observé que certains virus sont apportés aux aliments qui ne subissent pas de traitements thermiques (cuisson, pasteurisation, stérilisation) par des manipulateurs infectés qui ne respectent pas les règles minimales d'hygiène.

D'autres virus sont transmissibles par les aliments. Il s'agit entre autres de l'*Entérovirus*, du *poliovirus*, de l'*Echovirus*, du *Calicivirus*, de l'*Astrovirus*, du *Réovirus*, du virus épidémique non-A non-B de l'hépatite etc.

La contamination d'origine alimentaire par des virus tels que ceux de l'hépatite B, de l'herpes génital ou du SIDA (syndrome d'immunodéficience acquise) est, compte tenu de nos connaissances actuelles, fort peu probable.

Les infections à *norovirus* se caractérisent par des nausées, des vomissements irrépressibles, une diarrhée aqueuse et des douleurs abdominales. Le virus de l'hépatite A peut provoquer des maladies du foie de longue durée et a généralement pour vecteur les fruits de mer crus ou pas assez cuits ou d'autres produits crus contaminés. Les personnes infectées qui manipulent les aliments sont souvent la source de la contamination alimentaire.

## Références bibliographiques

- Anonyme. 1986 : Bergey's manual of systematic bacteriology ; volume 1, 964 pages, Williams and Wilkins Editeur, Baltimore,.
- Bornert. G .2000. Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires *Revue Méd. Vét.*, 151, 11, 1003-1010
- Bourgeois C., Mescle J-F., Zucca J.1999. Microbiologie alimentaire. Tome 1. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Technique et documentation lavoisier. Paris . Pp :154 ; 165-181.
- Catteau M. 1999: Pathogènes rencontrés lors de la conservation par le froid. *In* : La microbiologie prévisionnelle appliquée à la conservation des aliments réfrigérés, 333 pages, Office des publications officielles des Communautés européennes Editeur, Luxembourg,.
- Clausen EM., Green BL et Litsky W.1977. Fecal streptococci: indicators of pollution. Dans: Hoadley, AW et BJ Dutka, édit., *Bacterial Indicators/Health hazards associated with water.* American Society for Testing and Materials, ASTM STP 635, pp: 247-264
- Cuq J.L. 2007. Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.
- D'aoust J.Y. 2001.*Salmonella.* In: Labbé R.G., García S. (Eds.), *Guide to foodborne pathogens.* John Wiley and Sons, Inc.: NewYork, , 163-191.
- Downes, F. P., & Ito, K. (Eds.). 2001. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (4th ed.). Washington, DC, USA: American Public Health Association.
- Erqou, S. A., Teferra, E., Mulu, A., & Kassu, A. 2007. A case of shigellosis with intractable septic shock and convulsions. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 60(5), 314-316.
- Figarella j., Leyral G., Terret M. 2004. Microbiologie générale et appliquée. Edition ; Delagrave ; Paris. Pp : 114-119 ; 136.
- Garry P. et LE GUERN L. 1999 : Les bactéries lactiques. *Bull. Liaison CTSCCV*, , 9, 6, 423-429.
- Gill C. et Newton K. 1977 : The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperature. *J. Appl. Bacteriol.*, , 43, 189-195.(11)
- Guiraud J.P. 2003. Microbiologie Alimentaire. Edition : DUNOD. Paris. pp : 136-139.
- ICMSF. 1996. Microorganisms in foods 5. Characteristics of microbial pathogens. Blackie Academic & Professional: London, , 513 p.

- Jerome J-P ., James T-S ., Stephen L ., 2004 . Microbiologie. Edition : Dunod ;Paris .Pp :114; 648 ;773-802 .
- Jeantet R., Croguennec T., Schuck P., Brulé G.,collectif. 2006.Sciences des aliments, Biochimie, Microbiologie procédés, Produit- Tome1, Stabilisation biologique et physicochimique. Ed : Tec & Doc( editions).
- Kurjak, A., & Chervenak, F. A. (Eds.). 2006. *Textbook of Perinatal Medicine* (2nd ed.). United Kingdom: Informa UK Ltd.
- Kweon, M. N. 2008. Shigellosis: the current status of vaccine development. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 21(3), 313-318.
- Lansing M., Prescott J-P., Harley D-A., Klein., C-M., Bacq C-J. 2002. Microbiologie. Rapport intermédiaire. Edition. Française.
- Schroeder G. N., & Hilbi H. 2008. Molecular pathogenesis of *Shigella* spp.: controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(1), 134-156.
- Weir, E.2002. Shigella: wash your hands of the whole dirty business. *CMAJ : Canadian Medical Association Journal = Journal De l'Association Medicale Canadienne*, 167(3), 281.