

MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union – Discipline -Travail

UNIVERSITÉ DE COCODY / UFR BIOSCIENCES



MICROBIOLOGIE
ALIMENTAIRE
(BCH 44)
TRAVAUX DIRIGES

Dr KOUAME Désiré

Maitre- Assistant

UNIVERSITÉ DE COCODY / UFR BIOSCIENCES
Laboratoire de Biochimie et Sciences des Aliments (LaBSA)

BIOCONTAMINATIONS
ORIGINES
CONSEQUENCES
PREVENTIONS
& TRAITEMENTS

LES BIOCONTAMINATIONS

INTRODUCTION: LES TOXI-INFECTIIONS ALIMENTAIRES (T.I.A)

L'évolution de l'industrie alimentaire tend à mettre sur le marché, un nombre de plus en plus grand d'aliments divers qui sont de plus en plus élaborés. Sans sa présentation finale, la denrée alimentaire est parfois différente de sa forme originelle qui lui offrait bien souvent une protection naturelle. En outre, l'aliment a subi un grand nombre de manipulation et, chacune d'entre elle étant susceptible d'apporter son lot de contaminant. De plus, on a tendance à exiger pour ces aliments des délais de conservation, de plus en plus long ; ce qui pose de sérieux problèmes.

Tous ces éléments c'est à dire : **le problème environnemental, l'eau, l'air, le sol, les manipulations nombreuses, les conservations prolongées ou non** entraînent une multiplication des risques sanitaires apportés par l'alimentation. Il est donc absolument nécessaire de faire progresser en même temps que les techniques de production des aliments, les techniques de contrôle sanitaires. On s'est trop souvent borné à réaliser le contrôle microbiologique sur le produit fini. Un tel contrôle a un intérêt limité parce qu'en cas de résultat défectueux, ce contrôle ne donne aucun renseignement sur l'origine de la contamination.

Ce qui est le plus important, c'est de « maîtriser les paramètres qui agissent sur la contamination du produit fini ». Cette maîtrise dépend d'une part de la qualité des matières premières, de l'environnement, des différents modes de traitement et; d'autre part de l'apport de microorganisme au cours de la chaîne de transformation.

Cet apport de microorganisme qui est sujet d'une origine multiple c'est à dire de l'eau, de l'air, du sol, du personnel et du matériel, en évoquant les conséquences de la multiplication des microorganismes constituant la flore des aliments. De tout ceci, une prévention et un traitement des bio contaminations permettent de contrôler le statut microbiologique des aliments

Les TIA constituent le concept de maladies infectieuses émergentes, elles sont issues d'une augmentation brutale de l'incidence des maladies infectieuses dans l'ensemble du monde vivant. C'est un nouveau concept : « **Food born diseases** » lié à trois facteurs : hôte, microorganisme et environnement. Comme exemple l'on a la fièvre hémorragique Ebola, l'augmentation brutale de l'épidémie à *Vibrio cholerae* O :139.

Les aliments sont contaminés par les eaux, le sol et, les microorganismes présents dans les aliments peuvent également les contaminer. L'on a aussi les méthodes de fabrications des aliments, les opérations techniques, le stockage, le transport et la commercialisation.

Les produits finis contiennent une flore qui résulte de contaminations successives et des traitements qui n'ont pu la réduire. Il faut donc éviter les altérations microbiennes, éviter les risques d'intoxications et d'intoxinations dangereux pour la santé.

La porte d'entrée des TIA est à 90% digestive mais, les manifestations sont très diverses allant même au système nerveux central avec la vache folle...La civilisation met au point plusieurs armes et remèdes : vaccins, médicaments, et mesures d'hygiène mais, c'est la coexistence pacifique, la paix des pays qui aura le dernier mot.

LES ORIGINES DE LA BIOCONTAMINATION :
L'EAU, L'AIR, LE SOL, L'ENVIRONNEMENT

A/ - LA MICROBIOLOGIE DE L'EAU

La microbiologie aquatique concerne l'étude de la flore qui peuple les étangs, les lacs, les rivières, les océans. Cette étude doit prendre une importance considérable à cause de l'utilisation massive de l'eau. En général, les eaux naturelles sont utilisées à plusieurs échelles par contre, les eaux usées vont contribuer à un milieu potentiellement riche en microorganismes.

I/ - LES EAUX NATURELLES : les océans et les eaux douces

Une eau naturelle, est une eau qui de manière naturelle existe sans l'apport de l'être humain. Elle est constituée par les océans et les eaux douces.

1/ - Les océans

Ils constituent la plus grande partie des eaux naturelles et, ont un caractère remarquable qui est celui de la « **salinité** ». L'eau de mer contient environ 30 à 35 g de NaCl/l. Dans ces eaux, il existe une quantité importante de bactéries halophiles ainsi, ne peut s'y développer que les *Vibrionacées*.

2/ - Les eaux douces

Les bactéries sont les éléments clefs du cycle biologique des eaux douces. Ces bactéries vont débarrasser ce milieu d'un certain nombre de matières organiques. Ainsi, le résultat obtenu va être une augmentation considérable de la masse microbienne. C'est ainsi que leur usage doit être fait avec beaucoup plus de précautions; nous pouvons y rencontrer plusieurs types de **bactéries Gram + et Gram -**. L'on peut également y rencontrer des **virus** et des **parasites**.

II/ - LES EAUX D'ALIMENTATION : eaux de consommation ou eaux potables

1/ - Origines

Ce sont des eaux destinées à l'alimentation humaine et doivent présenter un certain nombre de qualité. Cette eau doit être limpide, sans saveur, inodore; en plus elle doit être potable c'est à dire : exempte d'organismes pathogènes et, de tout polluant dangereux pour la santé du consommateur.

Elles sont issues des nappes profondes, des nappes phréatiques et, des eaux de surface.

a/ - Les nappes profondes : ce sont des eaux protégées parce qu'elles sont souterraines avec une contamination minimisée qui inhibe la pollution au niveau bactériologique. Ainsi, on a les « **eaux minérales** » et, les « **eaux de table** »...

b/ - Les nappes phréatiques : elles sont biologiquement saines mais, dotées d'une concentration plus élevée en constituants chimiques du sol qui les constitue (*Ex : le phénol du sol*).

c/ - Les eaux de surface : ce sont les fleuves, les rivières, les lacs, les étangs... Ici les pollutions microbiologiques et chimiques sont maximales. C'est la raison pour laquelle elles sont l'objet d'un classement permanent permettant d'éliminer les plus contaminées et de sélectionner les plus pures d'entre elles pour en faire les eaux d'alimentation. Ces eaux sont utilisées à grande proportion par les populations et les industriels. Les traitements de ces eaux sont de valeur.

Comme eaux d'alimentation, nous avons les « **eaux minérales** » qui ne doivent pas subir de traitement, ni de stérilisation, elles doivent être exemptes de toute source de contamination dangereuse. Elles doivent être pures et, peuvent être des « **eaux de source** ».

Le seul moyen de traitement est la « filtration » en utilisant des filtres de 0,22 µ pour retenir les virus et bactéries.

2/ - Maladies dues aux eaux d'alimentation

Les maladies dues aux « eaux d'alimentation » sont d'origine diverse, elles peuvent être d'origine bactérienne, virale ou parasitaire.

Nous avons comme **maladies d'origine bactérienne** : les *Vibrionaceae* qui donnent le choléra, les *Salmonella* qui donnent la fièvre typhoïde, les *Shigella* qui donnent la dysenterie bacillaire. Nous avons comme **maladies virales** : la poliomyélite, les hépatites infectieuses dont l'hépatite A. Enfin comme **maladies d'origine parasitaire** nous avons : la bilharziose, les ankylostomiasés, les dracunculoses, les amibiases qui sont des Protozoaires responsables de diarrhées sanglantes.

3/ - Traitement de l'eau d'alimentation

Du point de vue bactériologique, l'eau d'alimentation doit être potable, c'est à dire exempte de germes nocifs pour la santé. Elle doit être aussi agréable que possible sans trouble, ni coloration, sans goût, ni odeur désagréable. Du point de vue chimique, l'eau d'alimentation ne doit contenir aucune substance chimique et, de façon générale aucun produit chimique incompatible à la santé de l'homme. Pour toutes ces raisons, l'eau destinée à l'alimentation, lorsqu'elle n'est pas conforme à cet ensemble d'obligations; doit subir un traitement.

Les principales étapes du traitement de l'eau d'alimentation sont : la sédimentation, la floculation, la décantation et filtration enfin, la stérilisation.

a/- La sédimentation : c'est le traitement le plus simple, elle consiste à stocker l'eau dans des réservoirs pendant un laps de temps plus ou moins long. Toutes les matières en suspension se déposent entraînant en même temps une proportion importante de microorganismes.

b/- La floculation : La sédimentation est favorisée par l'addition de réactifs chimiques floculants comme le « sulfate d'alumine ». Il se forme un précipité insoluble constitué de particules chargées positivement qui entraînent, en se déposant toutes les substances organiques de l'eau et; ce phénomène permet d'éliminer les microorganismes.

c/- La décantation et la filtration : autrefois, on avait recours à la filtration lente sur du « sable fin » directement appliquée à l'eau brute. La surface du filtre retenait les particules en suspension et les microorganismes qui par leur multiplication formaient un véritable « filtre biologique ». Ce procédé lent est remplacé de nos jours par la « filtration rapide ». Les eaux brutes subissent un traitement de coagulation puis, de décantation avant leur filtration qui est alors rapide.

d/- La stérilisation : elle représente l'étape finale du traitement, elle est destinée à inactiver les microorganismes pathogènes ou non qui n'ont pas été retenus au cours des étapes précédentes. Le procédé le plus répandu est la « chloration » dont l'efficacité dépend : du temps de contact entre l'agent chloré et les germes, le pH du milieu, la température et la population microbienne, et le taux de chlore. Un excellent résultat est obtenu avec un temps de contact d'environ 10 mn, un taux de Cl résiduel libre de 0,2 mg/l lorsque le pH de l'eau est entre 7 et 8 avec, une température entre 10 et 15°C.

4/ - Analyse ou contrôle bactériologique

L'analyse biologique d'une eau de boisson consiste à rechercher les microorganismes pathogènes qu'elle peut contenir. Cette perspective est impossible à réaliser en raison du nombre important de tests à effectuer, des difficultés qu'ils présentent et de leur coût. La très grande majorité des microorganismes pathogènes sont déversés dans l'eau par les matières fécales ou les urines.

Aussi, est-il plus simple d'estimer la possibilité de leur présence en recherchant les germes fécaux qui l'accompagnent et, que l'on appelle pour cette raison des « germes tests » de contamination fécale. Ce sont des microorganismes « saprophytes » du tube digestif de l'homme ou de l'animal et, beaucoup plus résistants que les germes pathogènes (Ex *Salmonella*).

Pour cela, nous devons rechercher :

- la flore aérobie mésophile totale
- la flore coliforme : *E. coli* (Colimétrie)
- les Streptocoques fécaux (Streptométrie)
- les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR).

B/ - LA MICROBIOLOGIE DE L'AIR

L'étude de la microbiologie de l'air est, en rapport direct et étroit avec les infections aérogènes.

I/ - INTRODUCTION: LES MICROORGANISMES DE L'AIR

Dans les années 1860, Louis Pasteur réalise un certain nombre d'expériences et démontre la présence d'un certain nombre de microorganismes dans l'atmosphère. Il montre que l'air contient des corps organiques visibles au microscope et, que leur distribution n'est pas uniforme dans l'atmosphère. L'air des montagnes est pur et renferme peu ou pas de germes tandis que, l'air des villes est au contraire contaminé par les populations denses qui les habitent.

I.1./ - Les vecteurs

Les microorganismes sont exceptionnellement à l'état libre dans l'atmosphère, ils se fixent habituellement sur des supports dont le volume et le poids spécifique conditionnent l'évolution.

Ainsi nous avons les « **poussières** » et les « **gouttelettes d'expectorations** ». Les poussières sont de grosses particules qui sont de nature minérale, organique diverses. Nous avons les fibres végétales, les déchets tissulaires animaux, les poils, les grains de pollen, et fragments de cellules épithéliales cutanées. Les « gouttelettes d'expectorations » représentent un danger plus important sur le plan épidémiologique. Elles sont constituées de « **macro gouttelettes de Flugge** » de 1 à 2 mm de diamètre qui sédimentent rapidement (1 seconde / hauteur de 2 m) et ; de « **micro gouttelettes** » produites par l'atomisation des sécrétions pharyngées et, nasales au cours des toux ou éternuements.

I.2./ - La flore microbienne

Elle est caractérisée par sa grande variabilité. Dans l'atmosphère extérieure, les microorganismes rencontrés varient en quantité selon les conditions d'environnement.

Ils sont beaucoup plus nombreux dans les zones chaudes que dans les zones froides; également plus nombreux dans les villes qu'en campagne. Ils sont fréquents dans les terres cultivées fertiles et très rares au-dessus des terres pauvres. Ils pullulent dans les cours situées au-dessus des eaux de surface polluées (égouts ...). Les espèces « bactériennes » rencontrées souvent appartiennent aux genres: *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium* ...

Des « champignons » sont aussi rencontrés avec les genres : *Aspergillus*, *Penicillium* ...

L'air des locaux d'habitation, des écoles et des usines présente un degré de contamination d'autant plus élevé que, les individus présents sont plus nombreux. L'air des hôpitaux pollué par les malades et porteurs des germes constitue, un danger permanent d'infection d'autant plus grave que les germes en cause sont sélectionnés par les traitements antibiotiques et, rendus résistants à ceux - ci.

Dans un laboratoire, si les règles d'hygiène ne sont pas respectées, l'on a une forte circulation de germes.

II/ - LES INFECTIONS AEROGENES

On distingue deux infections par les voies aériennes supérieures qui sont : les maladies contagieuses aérogènes et les infections respiratoires liées à l'environnement.

1/ - les maladies contagieuses aérogènes Ce sont des maladies qui se transmettent d'individu à individu par l'intermédiaire de l'air ambiant et elles sont de plusieurs ordres :

* **Origine bactérienne** : coqueluche, pneumonie, diphtérie, méningite, tuberculose ...

* **Origine virale** : grippe, adénovirus, variole, oreillons, herpes, rougeole, rubéole, varicelle

2/ - les infections respiratoires liées à l'environnement Elles sont transmises par les microorganismes présents dans le milieu extérieur à l'homme. Ce sont des « **infections parasitaires** » de type aspergillose, actinomycose, candidose ...

III/ - LES MOYENS D'ÉTUDE

Les moyens d'étude font appel à des techniques variées. La diversité des moyens d'étude est corrélative à leur imperfection; ce sont : la sédimentation, la filtration, le barbotage, la précipitation

- **la sédimentation** : les particules sont recueillies en suspension dans l'air sur des milieux nutritifs solides. L'on a recours à des boîtes de Pétri ouvertes dans le local où l'on fait la recherche. L'utilisation du milieu sélectif permet d'identifier et de dénombrer les germes responsables.
- **la filtration** d'un volume d'air à travers, un support poreux qui retient les microorganismes.
- **le barbotage** consiste à recueillir l'air dans un volume mesuré, dans un milieu liquide
- **la précipitation** consiste à aspirer l'air à grande vitesse et précipiter sur une surface solide et stérile, en général en milieu gélosé, par des procédés électrostatiques, mécaniques et thermiques.

IV/ - CONTRÔLE DE LA POLLUTION MICROBIENNE DE L'AIR

Dans un but prophylactique, il est utile de lutter contre la pollution microbienne de l'air afin de limiter voire supprimer son rôle comme agent contaminant. Beaucoup de procédés sont utilisés :

- l'utilisation du **rayon ultraviolet** (procédé physique)
 - la **formolisation** (pastilles de formaldéhyde) - l'utilisation des **flux laminaires** (hotte de sécurité)
- Le résultat de ces techniques est l'obtention d'une salle blanche qui est une salle stérile et aseptique.

L'efficacité des moyens de décontamination doit être mesurable d'où l'existence de normes.

C/ - LA MICROBIOLOGIE DU SOL

I/ - INTRODUCTION

Le sol est défini comme la partie de la croûte terrestre où la géologie et la biologie se rencontrent, il est en effet un milieu vivant sur un support organique et minéral solide et ses caractéristiques varient très largement suivant le lieu, le climat et la profondeur. Le sol renferme des matières organiques, minérales, de l'eau libre, des gaz circulants dont les principaux représentants sont : l'anhydride carbonique, l'oxygène, l'azote ... L'on a aussi une phase biologique constituée de forme végétale, animale et de microorganismes

II/ - COMPOSITION DU SOL

1/ - Les substances minérales : sont composées en grande quantité des éléments tels que : la silice, le fer, l'aluminium... En faible proportion l'on trouve de l'azote, du potassium, du soufre, du phosphore, du magnésium, du sodium, du calcium ...

2/ - Les matières organiques : sont constituées d'une partie grossière de produits non encore décomposés d'origine animale ou végétale et d'une partie fine, brune appelée : « **humus** » formée de résidus organiques qui résultent de la dégradation microbienne dans ces multiples variantes.

3/ - La flore microbienne : est très variée et comprend des bactéries, des champignons, des algues, des protozoaires et des virus. Le nombre de ces microorganismes peut atteindre plusieurs milliards par gramme de sol avec, les bactéries qui sont les plus importantes (1 à 10 milliards/ gr. de sol).

III/ - ACTIVITÉ BIO - GEOCHIMIQUE DES MICROORGANISMES

Pour que le cycle de la matière vivante soit complet, il est nécessaire que les éléments organiques soient recouverts en éléments minéraux au niveau disponible pour les végétaux.

Ce processus de transformation appelé « **minéralisation** » fait appel presque uniquement à l'activité des microorganismes. Dans les fonds marins, les eaux douces de surface, dans les couches superficielles du sol, vivent des quantités prodigieuses de microorganismes.

- **Exemple du cycle de l'azote** : dans ce cas précis, les plantes vertes exigent de l'azote pour satisfaire leur synthèse protéique. Les composés azotés organiques animaux ou végétaux libérés à la mort de ces organismes subissent une décomposition microbienne avec formation d'ammoniaque. C'est ce qu'on appelle « **l'ammonification** ». L'ammoniaque est lui-même converti en « nitrate » puis en « nitrite » grâce à l'action de nouveaux microorganismes, c'est la « **nitrification** ». Les « nitrates » constituent la principale forme d'azote assimilable par les plantes.

D/ - LES MICROORGANISMES DE L'ENTREPRISE ET DE SON ENVIRONNEMENT

I/ - RELATIONS ENTRE MICROORGANISMES ET HÔTE

Si de nombreux microorganismes participent à l'équilibre biologique existant à la surface de la terre et même le conditionne, d'autres par contre tendent à détruire cette harmonie. Ils sont hautement nuisibles pour l'homme ou les animaux en provoquant des troubles plus ou moins graves, ce sont des microorganismes pathogènes. Les relations qui existent entre un microorganisme et un hôte sont loin d'être toujours néfastes et les conséquences fâcheuses sont les plus rares.

On distingue pour cela deux principaux types de relation entre les microorganismes et l'hôte :

- **La Symbiose** ou, vivre avec (obligation de vie commune), les germes et l'hôte sont étroitement associés
- **Le Parasitisme** ou, mode de relation déséquilibré au cours duquel, l'un des partenaires tire un profit certain tandis que l'autre n'en a aucun bénéfique et peut au contraire en souffrir. Ainsi la plupart des microorganismes pathogènes pour l'homme ou l'animal sont des parasites. Ils vivent au dépend de l'homme et, sont nuisibles pour l'homme.

A côté de ces deux types de relations, on parle de « **saprophytisme** », où des microorganismes qui sont hébergés chez l'homme ou l'animal, sans occasionner des troubles. Ce sont des flores saprophytes qui sont adaptées ou propres à l'homme, appelées : « **flore commensale** »

II/ - LA FLORE MICROBIENNE NORMALE

La peau et les muqueuses de l'homme hébergent une infinie variété de microorganismes commensaux ou saprophytes qui constituent la « flore normale » résidente de la peau, des muqueuses respiratoires, digestives ou même vaginales.

- **La flore de la peau** est constituée en prédominance de :

* Corynebactéries * *Staph. aureus* * Coliformes * Microcoques * *Bacillus* * Levures et Moisissures

- **La flore de la bouche** * Streptocoques hémolytiques * *Staphylocoques*

* *Neisseria* * *Lactobacillus* * *Hemophilus* * Corynebactéries.

- **La flore du tube digestif**: l'acidité du tube digestif empêche toute multiplication microbienne. Par contre les intestins sont le siège d'un développement abondant et, varié d'une flore qui se modifie avec l'âge. Ainsi nous avons la « **flore de Veillon** » composée de :

* *Bifidobactérium* * *Streptococcus* * *Pseudomonas* * *Bacteroides* * *Veillonella* * *Clostridium*

* Levures * Coliformes ... La « **flore de Doderlein** » est spécifique au vagin avec les *Lactobacillus*

III/ - CONTROLE DU PERSONNEL

Il faut savoir d'avance que le transfert des germes déjà présent sur nos mains se fait par contact manuel, par les vêtements, par les chaussures, les cheveux, par les mouvements d'air suite aux éternuements. Toutes les techniques d'analyses microbiologiques sont indispensables pour définir les traitements de nettoyage, de désinfection et pour contrôler leur efficacité. Ce sont les portages : des mains (manu portage), oro-pharyngé (gorge), nasal, digestif et autres ...

1/ - **Portage des mains** : on pose la main sur la surface de la gélose présente dans une boîte de Pétri.

2/ - **Portage oro-pharyngé et nasal** : on fait un écouvillonnage de la gorge ou nasal puis un examen

3/ - **Portage digestif** : on fait un prélèvement puis un examen des selles

4/ - **Autres** : contrôle des blouses, chaussures, cheveux, bijoux ...

* **NB** : les ongles et les éternuements sont interdits en entreprise

IV/ - CONTROLE DU MATERIEL ET DES LOCAUX

IV.1./ - Introduction

L'évolution de l'industrie alimentaire tend à mettre sur le marché, un nombre de plus en plus grand d'aliments divers qui sont de plus en plus élaborés. Dans sa présentation finale, la denrée alimentaire est parfois différente de sa forme originelle qui lui offrait bien souvent sa protection naturelle. En outre, l'aliment a subi un grand nombre de manipulations et, chacune d'entre elles étant susceptible d'apporter son lot de contaminant.

De plus l'on a tendance à exiger pour ces aliments, des délais de conservation de plus en plus longs. Bien que de gros progrès aient été faits dans ce domaine, la conservation de ces aliments pose de gros problèmes. Tous ces éléments : conservation prolongée et manipulations; entraînent une multiplication de risques sanitaires apportés par l'alimentation.

Il est donc absolument nécessaire de faire progresser en même temps que les techniques de préparation des aliments, les techniques de contrôle sanitaire. On s'est trop souvent borné à réaliser, le contrôle microbiologique sur le produit fini. Un tel contrôle à un intérêt limité parce que ce type de contrôle ne permet de constater qu'un résultat et en cas de résultat défectueux, il ne donne aucun renseignement sur l'origine de la contamination. Ce contrôle doit être considéré comme un « test de vérification de l'hygiène de fabrication », alors que ce qui est plus important, c'est de maîtriser les paramètres qui agissent sur la contamination du produit fini. Cette maîtrise dépend d'une part de la qualité des matières premières et, d'autre part de l'apport de germes au cours de la chaîne de transformation. Cet apport pouvant lui-même être attribué à divers facteurs; ainsi nous avons : le matériel, les locaux, l'air ambiant, et le personnel ...

IV.2./ - Microorganismes recherchés

Les techniques de dépistage de contamination s'appliquent à tous les microorganismes intéressants dans l'hygiène alimentaire. L'on recherche plus spécialement les groupes microbiens que l'on trouve dans les produits finis :

- la « flore mésophile totale » qui est la traduction de la contamination globale
- les *Staphylococcus aureus* - les Coliformes - les *Salmonella* - Les Levures et Moisissures ...

IV.3 ./ - Contrôle sur le matériel et les locaux

De graves foyers microbiens peuvent se localiser au niveau du matériel et des locaux mais, les « opérations de nettoyage et de désinfection » ont une très grande importance dans les industries agroalimentaires. Ces opérations doivent être impérativement bien conduites.

Les techniques utilisables sont nombreuses, on peut les regrouper suivant les techniques de base par application, par écouvillonnage, par coulage et, par rinçage

a/ - Technique par application, elle consiste à appliquer la surface d'un milieu gélosé contenu dans une boîte de Pétri, sur la surface à tester pendant 15 secondes ; elle est rapide et très pratique.

b/ - Technique par écouvillonnage, s'applique à tous les types de surface et, elle permet en particulier de dépister, les nids microbiens pouvant se former dans les coins ou les surfaces bombées

c/ - Technique de coulage, c'est un coulage direct de la gélose fondu sur la surface à contrôler

d/ - Technique par rinçage, l'on fait circuler un liquide stérile de rinçage au contact de la surface à contrôler puis, l'on va le soumettre à l'analyse microbiologique

V/ - CONTROLE DE L'ATMOSPHERE (contrôle microbiologique d'ambiance)

La technique la plus simple consiste à déposer les boîtes de milieux gélosés ouvertes aux endroits que l'on veut contrôler. Dans ces boîtes, on a coulé les milieux correspondants à la catégorie de germes que l'on veut rechercher. Chaque microorganisme va se déposer par gravimétrie à la surface de la gélose et après incubation, des colonies s'y développeront.

LA PREVENTION DES BIOCONTAMINATIONS NETTOYAGE, RINÇAGE, DESINFECTION

I/ - INTRODUCTION

Les nettoyages et la désinfection en industries agroalimentaires deviennent d'une telle importance qu'ils font actuellement partie intégrante des procédés de fabrication. Il est indispensable aujourd'hui de construire un nouvel atelier, une usine sans intégrer: la notion de nettoyabilité et de désinfectabilité des équipements. La notion de diagramme de nettoyage et de désinfection adaptée et le plus possible automatisé.

L'affectation d'une partie du temps de production à la réalisation efficace de ces deux opérations garantissant ainsi, la qualité hygiénique des produits finis. Pour aborder ce problème complexe, l'on part d'un diagramme de base et l'on examine les conditions de sa réalisation au niveau : * des conditions * des procédés et technologies mise en œuvre * des critères de choix des produits mis en oeuvre

II/ - EXAMEN DES DIFFERENTES PHASES NETTOYAGE (Diagramme complet)

Le diagramme complet de nettoyage se compose de plusieurs phases : le pré-rinçage, la phase de nettoyage, le rinçage, la phase de désinfection et la phase de nettoyage final.

II. A/ - La phase de nettoyage

1/ - Le pré – rinçage : son rôle est d'éliminer mécaniquement les micro-particules dans les conduits, les cuves et dans d'autres appareils thermiques. On utilise pour cela de l'eau qui est très souvent récupéré au rinçage final après la désinfection. Les paramètres favorisant son efficacité sont: la pression, le débit, la vitesse. Ce pré-rinçage est évacué dans les égouts.

2/ - La phase de nettoyage (phase alcaline) : elle a pour but de mettre la surface à nettoyer en contact avec des produits alcalins tels les savons, les détergents en poudre ou liquides ...

3/ - Le rinçage : Il a pour but d'éliminer les substances alcalines et les souillures restées en suspension, suite à l'action du détergent.

4/ - La phase acide : elle s'adresse aux souillures minérales acides telles que l'acide nitrique en solution, les solutions d'hydrogène phosphate et quelques produits tensioactifs. Pour que tous ces produits soient efficaces, il faut respecter des conditions mécaniques (pression, débit, vitesse)

5/ - La phase de rinçage acide : elle a pour but, l'élimination de toutes les phases acides, c'est en ce moment que le matériel reste neutre.

II. B. / - La phase de désinfection

Elle a pour but, la destruction de tous les microorganismes encore présents après le passage des deux phases de détergence : la phase alcaline et, la phase acide. Pour cela deux techniques s'imposent.

1/ - Les techniques physiques

- On utilisera d'abord la « vapeur d'eau », qui réalisera une bonne action stérilisante mais, elle cause beaucoup de problèmes de mise en œuvre : temps de contact long et, coût économique important.

- On utilisera également de « l'eau chaude à 85°C » ; la technique est plus facile : temps pas assez long (20 mn) mais, son coût est élevé.

2/ - Les techniques chimiques : Elles mettent en œuvre, les solutions chimiques de désinfectants cependant, elles doivent atteindre une certaine qualité. En effet ces produits doivent être : bactéricides, sporocides, fongicides, de toxicité nulle et stables.

Il faut également savoir l'influence du désinfectant sur le produit fini car, ce test sert à vérifier si, des taux de désinfectant auront une action sur l'équilibre physico-chimique et organoleptique du produit fini. C'est par exemple le cas en « brasserie », certains désinfectants ont une action sur les protéines sensibles de la bière et, provoquent le développement d'un trouble et le cassage de la mousse.

La notion de rinçabilité doit être préoccupante de même, que la notion de traçabilité.

II. C / - Le rinçage final

La produit alimentaire passant juste derrière ce rinçage a une importance fondamentale de plus qu'il est rendu obligatoire par la loi : appelé « rinçage final ». La qualité hygiénique de l'eau utilisée doit être parfaite. Il est obligatoire de doser en fin de rinçage, les traces de produits désinfectants. Les eaux de ce rinçage sont récupérées pour le pré-rinçage, au début du cycle.

Le nettoyage, le rinçage et la désinfection, font appel à des produits, à des procédures et à des automatismes. La qualité finale d'un nettoyage ou d'une désinfection commence à la confection de l'atelier. La nettoyabilité, la désinfectabilité sont des procédés aussi importants que la productivité.

**LES PRODUITS DE DECONTAMINATION,
DE NETTOYAGE ET DE DESINFECTION**

Le but du nettoyage des locaux est triple : la propreté, l'esthétique et, la maintenance. Le nettoyage et la désinfection sont toujours associés pour obtenir un environnement propre et décontaminé.

I/- LES PRODUITS RÉCURRENTS

Les abrasifs : action mécanique, usure de la bêche et des salissures

* Tampon nylon * Poudre à récurer * Tampon laine acier * Crème à récurer

II/- LES PRODUITS NETTOYANTS

Les savons et détergents : actions chimiques, décollent les salissures et dégraissent

1/ - Le savon de Marseille Utilisation : tous usages, bon dégraissant pour inox, bien rincer

2/ - Les détergents en poudre spécifiques Utilisation : linge, vaisselle, sols, murs et peinture ; rincer

3/ - Les détergents liquides universels : généralement très concentrés, à utiliser dilués (1/2)

Utilisation : mobilier, sols, lessive, vaisselle à la main ; rincer

4/ - Les détergents liquides ammoniacés. Utilisation : lavage sols et surfaces; rincer

III/- LES PRODUITS DECAPANTS

Action chimique et mécanique : débarrassant d'une couche ou d'un enduit qui adhère.

Les décapants sont en général spécifiques : liquides pour métaux, lessives pour murs, produits de décapage des émulsions sur sols plastiques ...

IV/- LES PRODUITS DESINFECTANTS: L'Eau de Javel

L'hypochlorite de sodium est un des produits les mieux adaptés à la désinfection des surfaces, aussi bien dans l'industrie alimentaire que dans les collectivités. C'est le seul produit ménager qui désinfecte, son efficacité se mesure en degré chlorométrique.

1/ - Utilisation : sur toutes surfaces, vaisselle, alimentation. Jamais concentré, à diluer obligatoirement, jamais mélangée à un autre produit. Il n'est pas nécessaire de rincer.

2/ - Dilution : 1/4 litre d'hypochlorite de sodium (48°) + 3/4 litre d'eau ==> Eau de Javel à 12°

3/ - Conditionnement

- Dans le commerce : * bouteilles plastiques de 1 litre à 12°

* Berlingots aux doses de 1/4 litre d'Eau de Javel concentré à 48°

- En collectivités : * Jerrican de 10 litres de Javel concentré à 48°

4/ - Stockage : * à conserver à l'abri de la lumière et de la chaleur * dans un récipient toujours fermé * repérer la date de sortie d'usine inscrite par le fabricant sur le conditionnement, trois (3) mois après cette date, l'Eau de Javel a perdu son **pouvoir désinfectant**.

V/- LES PRODUITS DÉTERGENTS – DESINFECTANTS

Leur utilisation assure la prévention quotidienne de l'infection au cours de toutes les tâches d'entretien.

1/ - Conditionnement : ils sont distribués en doses ou en bidon

2/ - Dosage : un (1) sachet dose pour huit (8) litres d'eau

3/ - Utilisation : * pour tous les nettoyages quotidiens ou à fond : mobilier, sols, murs, sanitaires etc. ; * laisser agir le produit 8 à 10 minutes sans rincer, ni sécher

4/ - Précautions:

* porter des gants * ne pas mélanger à un autre produit * ne pas utiliser en cuisine

**PROPRIETES DES AGENTS ANTIMICROBIENS
ET DES ANTISEPTIQUES**

I/ - DEFINITIONS

1/ - Antiseptique : c'est une préparation qui a la propriété d'éliminer ou de tuer les microorganismes ou d'inactiver les virus sur les tissus vivants. L'effet recherché est l'antiseptie

2/ - Antiseptie : c'est une opération au résultat momentané permettant au niveau des tissus vivants, dans la limite de leur tolérance, d'éliminer ou de tuer tous les microorganismes et/ou d'inactiver les virus en fonction des objectifs fixés.

3/ - Désinfectant : produit capable d'éliminer ou de tuer, par action directe les microorganismes ou d'inactiver les virus présents portés par des milieux ou des surfaces inertes. L'effet recherché est la désinfection.

4/ - Désinfection : opération au résultat momentané, permettant d'éliminer ou de tuer les microorganismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux ou surfaces inertes

5/ - Désinfectants : ce sont des produits de désinfection destinés aux matières inertes

PS : Les Antiseptiques sont des médicaments ayant la propriété au niveau des tissus vivants (peau saine, muqueuses, plaies) d'éliminer ou de tuer les microorganismes ou d'inactiver les virus en fonction des objectifs fixés. Parmi les moyens de lutte contre l'infection, ils occupent une place particulière se situant entre les « antibiotiques » (par leur faible index thérapeutique et effets secondaires) et les « produits désinfectants » (par leur mode d'utilisation et mécanisme d'action)

II/ - LES DESINFECTANTS : GENERALITES

1/ - INTRODUCTION

Les « désinfectants » sont des substances chimiques qui permettent de détruire ou d'inactiver les microorganismes se trouvant sur des surfaces inanimées (désinfectants au sens strict) et sur les tissus vivants (antiseptiques).

La désinfection de l'environnement comprend la désinfection des surfaces par lavage, qu'on qualifie aussi de désinfection chimico-mécanique, et celle des objets par trempage. Elle ne sera possible que si ce matériel est propre, d'où la nécessité d'employer des mélanges désinfectants - détergents. La désinfection des tissus vivants requiert des produits moins irritants que ceux employés pour l'environnement. Les antiseptiques ont une marge toujours étroite entre l'efficacité et la toxicité. Ils seront employés sous forme de savon (scrub) pour la peau saine, de solution alcoolique (teinture) pour la peau à effracter et, de solution aqueuse pour la désinfection des plaies et muqueuses. Dans le langage courant, le terme de désinfectant comprend à la fois les « désinfectants au sens strict » et, les « antiseptiques ».

2/ - MECANISME D'ACTION

Les « désinfectants au sens strict » ont un mécanisme d'action peu spécifique, agissant le plus souvent par dénaturation des protéines. Certains antiseptiques, par contre, agissent plus spécifiquement au niveau métabolique défini du microorganisme. C'est le cas pour la «Chlorhexidine» par exemple, qui opère une lyse de la membrane cytoplasmique, se rapprochant ainsi du mécanisme d'action de certains antibiotiques.

3/ - TEMPS D'ACTION

Le temps d'action est défini arbitrairement : c'est la durée de contact nécessaire pour obtenir une réduction du nombre de germes de 99,999 % pour les désinfectants et, de 99 % pour les antiseptiques. Ce temps d'action est établi sur la base de tests de laboratoire rigoureux. Il dépend étroitement de la concentration du produit.

MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE

De ce temps d'action est dérivé le temps d'application, qui est la durée pendant laquelle il est recommandé, dans la pratique, de soumettre un objet ou une surface au procédé de désinfection. Quelques antiseptiques, comme le «*chlorhexidine*», ont une activité prolongée du fait de leur liaison à certains récepteurs cutanés. Par opposition, «*l'alcool*» ne peut pas avoir de par sa volatilité, une action prolongée.

4/ - SPECTRE D'ACTION

Tout désinfectant doit satisfaire à des normes précises, qui concernent avant tout l'activité antimicrobienne. La plupart des produits ont une activité satisfaisante sur les bactéries et les virus enveloppés. Par contre, l'activité sur les virus nus, les mycobactéries, les mycètes ou les spores varient d'un produit à l'autre. Le choix du produit dépendra du type de désinfection envisagée et de l'objectif à atteindre.

5/ - STABILITE

Dans leurs emballages d'origine, fermés et à l'abri de la lumière, la plupart des désinfectants ont une stabilité de cinq ans ; sauf les produits notoirement instables, comme «*l'eau de Javel ou l'eau oxygénée*». Une fois ouverts, les désinfectants gardent normalement leur activité pendant six (6) mois à une (1) année selon le produit.

Lorsqu'ils ont été dilués au moment de l'emploi, leur stabilité est moindre et dépend du produit. Ainsi les «*phénols*» peuvent être utilisés pendant un (1) mois et les «*aldéhydes*» pendant deux (2) semaines. Pour les antiseptiques, il existe un risque de contamination par les bactéries résistantes. De ce fait, ils doivent être utilisés dans des délais raisonnables et manipulés sans faire courir le risque d'une contamination du produit.

6/ - TOXICITE

En raison de leur mode d'action peu spécifique, les désinfectants sont toxiques pour la peau, les muqueuses et les tissus. De plus, ils peuvent entraîner des allergies cutanées. Les désinfectants doivent donc toujours être manipulés avec des gants.

7/ - COMPATIBILITE / ECOLOGIE

Elle représente un des critères de choix de tout désinfectant. Par exemple, un désinfectant de l'environnement doit être compatible avec l'eau dure et sans danger pour le matériel. De ce point de vue, le «*chllore*» est corrosif pour les métaux; les «*phénols*» peuvent altérer le caoutchouc et les matières synthétiques. Bon nombre sont inactivés par les protéines, donc par les résidus organiques. Les agents cationiques tels que «*chlorhexidine*» et les «*ammoniums IV*», précipitent en présence de dérivés anioniques (savons et détergents) et perdent leur efficacité. Du fait de leur action, les désinfectants ne sont pas sans effet potentiel sur l'environnement, en particulier sur les installations d'épuration des eaux usées.

III/ - PRINCIPAUX ANTISEPTIQUES ET DESINFECTANTS

1/ - LES HALOGENES

a/ - Les Chlorés * *Hypochlorite de Sodium* Ex : Dakin, Eau de Javel * Ac. hypochloreux Ex : Chloramine T

b/ - Les Iodés : * *Iode libre* Ex : Alcool iodé * Iodophores Ex : Bétadine, Polyvinylpyrrolidone iodé

2/ - LES ALCOOLS

3/ - LES PHENOLS

a/ - Les Mono phénols : * Ex : Crésol, actifs sur les bactéries végétatives, inactifs sur les spores et les virus

b/ - Les Bi phénols halogénés * Ex : Hexachlorophènes, produits populaires pour l'antisepsie des mains

4/ - LES BIGUANIDES : *La Chlorhexidine*

Elle est active sur les BG + et BG - ; sur les virus enveloppés, inactive sur le pyocyanique et le Koch

5/ - LES CARBANILIDES : *Le Triclocarban*

6/ - LES TENSIO - ACTIFS : *Les Ammoniums quaternaires*

7/ - LE PEROXYDE D'HYDROGENE

8/ - LES ALDEHYDES

9/- LES COLORANTS

* *Le TriPhenyl - Méthane*, Ex : Cristal violet, Bleu de méthylène * *L'Acridine*, Ex : Acriflavine

EXERCICES DE MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE
Généralités : définitions, métabolisme bactérien

EXERCICE N° 1

I/ - Quels sont les microorganismes constitutifs du sous règne des « Eucaryotes »

II/ - Donner la définition des termes suivants :

1/ - Toxi-Infections 2/ - Intoxications 3/ - Intoxinations

III/ - Donner la définition des termes suivants

1 / - Milieu de culture 2/ - Culture pure 3/ - Milieu sélectif 4/ - Milieu électif

IV/ - Donner le nom des milieux de culture nécessaires pour la recherche de quatre (4) germes de votre choix et, présenter l'aspect des germes sur ces milieux.

V/ - Donner les définitions de termes suivants :

1/ - Bactéries phototrophes 2/ - Bactéries chimiotrophes

3/ - Bactéries halophiles 4/ - Bactéries cryophiles

VI/ - Donner la définition des produits suivants :

a/ - Eau alimentaire b/ - Dérivés du lait c/ - Produits de charcuterie

Pour chacun des trois produits citer au moins quatre (4) microorganismes à rechercher de façon obligatoire au cours de leur analyse

VII/ - Donner les définitions de la réfrigération; la congélation et la surgélation

EXERCICE N°2

I/ - Citer les principaux facteurs de la multiplication bactérienne

II/ - Parmi les conditions physico-chimiques de la croissance bactérienne il en existe trois (3) très importantes : la température, le rapport avec l'oxygène, le pH.

Présenter ces trois conditions majeures et préciser les différentes catégories de « bactéries » que l'on trouve dans chacune d'elles. Donner la définition de la tyndallisation

III/ - Au cours du catabolisme des sucres, les bactéries utilisent deux (2) principales voies : lesquelles ?

IV/ - On distingue selon les différentes voies métaboliques et principalement basé sur le rapport avec l'oxygène de l'air plusieurs types de « bactéries »; Présenter de façon précise ces types de bactéries.

V/ - Donner le principe de la recherche de la « catalase »

EXERCICE N° 3 :

1/ - Les Levures sont des microorganismes fermentaires

Vrai ou Faux

2/ - Les Staphylocoques sont des cocci en grappe de raisin

Vrai ou Faux

3/ - Les vrais cocci sont mobiles

Vrai ou Faux

4/ - Aucune maladie virale ne peut être transmise par les aliments

Vrai ou Faux

5/ - Un froid positif permet l'arrêt de la croissance des germes psychrophiles
(Justifier votre réponse)

Vrai ou Faux

6/ -Les « *Bacillus* » sont responsables des intoxications alimentaires

Vrai ou Faux

TOXI-INFECTIIONS ALIMENTAIRES : EXERCICES

EXERCICE N° 1 : Q.R.C./Q.C.M. Deux réponses possibles : A : Vrai B : Faux

- 1/ - Un aliment contenant une toxine botulinique est forcément dangereux à manger
- 2/ - Le botulisme est une intoxication très rare
- 3/ - Un aliment contenant l'une des entérotoxines staphylococciques provoquera forcément des troubles chez les individus l'ingérant.
- 4/ - Les *Salmonella* sont responsables d'intoxications
- 5/ - Les *Shigella* peuvent causer des toxi-infections
- 6/ - Aucune maladie virale ne peut être transmise par les aliments

EXERCICE N° 2 : Questions à Choix multiple (QCM) et Q. à Réponse Courte (QRC)

- 1/ - Citer quatre (4) bactéries pathogènes pouvant être l'origine d'infections graves
- 2/ - Les *Salmonella* sont-elles responsables d'intoxications ? Pourquoi ?
- 3/ - Donner la définition d'une toxine
- 4/ - Quels sont les deux (2) germes responsables d'intoxications alimentaires
a/ - *Staph. aureus* b/ - *Salmonella* c/ - *Lactobacillus lactis* d/ - *Candida albicans*.
e/ - *Clostridium perfringens* f/ - *Enterococcus faecalis* g/ - *Pseudomonas aeruginosa*
- 5/ - Citer trois (3) types d'aliments dans lesquels l'on peut rechercher le *Bacillus cereus*
- 6/ - Citer deux (2) bactéries responsables de diarrhées à mécanisme entéro-invasif
- 7/ - Citer 3 types de prélèvement à effectuer en cas de suspicion de «choléra» sur le campus de cocody
- 8/ - Un aliment contenant « 200 » *Listeria monocytogenes* est-il dangereux pour la consommation ? Pourquoi ?
- 9/ - Citer quatre (4) bactéries pathogènes pouvant être l'origine d'infections graves
- 10/ - A quelle température peut on tuer les microbes ?

EXERCICE N° 3 : Les toxines bactériennes **

- Comparer la toxine « staphylococcique » et la toxine « botulinique » :
Les bactéries responsables, la nature et les effets de ces toxines ainsi que, les aliments pouvant être à l'origine des toxi-infections dues à ces toxines.

EXERCICE N° 4

- 1/ - Les toxi-infections alimentaires (TIA) ont trois (3) origines principales, citer-les tout simplement.
- 2/ - Parmi les germes responsables de T.I.A deux (2) au moins sont retrouvés très souvent dans les «viandes» : lesquels ?
- 3/ - Quels sont les deux principaux germes responsables des syndromes de forme dysentérique au cours des T.I.A.
- 4/ - Quels sont les principaux germes producteurs de «mycotoxines» et, dans quels aliments se multiplient - ils ?
- 5/ - Citer les germes responsables des fermentations : alcoolique, lactique et acétique ainsi que les produits alimentaires issus de chacune de ces fermentations

ORIGINES DES BIOCONTAMINATIONS : EXERCICES

(QUESTIONS A REPONSES DEVELOPPEES)

- EXERCICE N° 1 : Microbiologie de l'air

- 1/ - Donner la définition des infections aérogènes tout en précisant les différents groupes
- 2/ - Les microorganismes se fixent habituellement sur des supports qui constituent les vecteurs des infections aérogènes : Présenter ces principaux vecteurs
- 3/ - Citer un (1) parasite, deux (2) virus et trois (3) bactéries, responsables d'infections aérogènes
- 4/ - Citer les principales techniques utilisées dans l'étude des germes de l'air
- 5/ - Classer par ordre de croissance, les sites qui auront leur charge microbienne de contamination de plus en plus importante :
a/ - Lycée Français Blaise Pascal b/ CHU de Yopougon c/ Corniche du Plateau d/ - Grotte mariale d'Issia
- 6/ - Dans quel environnement ou sur quel site les microorganismes sont les plus nombreux
a/ Zone froide b/ Zone chaude c/ Villes
d/ Campement e/ Terre pauvre f/ Terre cultivée fertile

- EXERCICE N° 2 : Microbiologie des eaux

- 1/ - Donner la définition des «eaux d'alimentation», préciser leurs qualités et, citer les principales origines de ces eaux.
- 2/ - Il existe plusieurs maladies dues aux eaux d'alimentation, elles ont trois principales origines : lesquelles ? Citer pour chacune d'elles deux exemples de parasites responsables
- 3/ - Une eau destinée à l'alimentation non conforme à l'ensemble des normes doit subir un traitement :
a/ - Citer les différentes étapes de traitement
b/ - La «chloration» est un procédé très répandu utilisé dans l'étape finale, présenter les caractéristiques des paramètres de ce procédé pour obtenir un excellent résultat.
- 4/ - Quels sont les «germes à rechercher» dans l'analyse et le contrôle bactériologique des eaux
- 5/ - De nos jours pourquoi dit-on que le « contrôle microbiologique » uniquement réalisé sur un «produit fini» est d'un intérêt limité ? Préciser les principaux paramètres qui agissent sur la contamination d'un produit fini.

- EXERCICE N° 3 : Microbiologie de l'entreprise et de son environnement

- 1/ - Dans le cadre des relations entre «microorganismes et hôte», l'on en distingue plusieurs types ; donner la définition du parasitisme, de la symbiose et, du saprophytisme
- 2/ - Donner au moins quatre (4) germes présents dans la flore normale résidente :
* de la peau * de la bouche * du tube digestif
- 3/ - Citer trois (3) «techniques» de base utilisées pour le contrôle du matériel et des locaux
- 4/ - Expliquer la «technique par application» (*écouvillonnage, coulage*) utilisée dans le contrôle sur le matériel et les locaux
- 5/ - Citer les principaux types de «portage» utilisé dans le contrôle du personnel
- 6/ - Dans les titres d'un journal « Frat-Mat » de l'An 2000 on lisait : « *Abattoir de Port-bouët, de sérieux risques de maladies; la consommation de la viande n'est plus sans danger ...* » Quel sont les principaux dangers au niveau alimentaire dont pourrait faire allusion ce quotidien ivoirien il ya près de 10 ans ? Qu'en est-il en 2010 ?
- 7/ - Peut-on accepter un animal en cuisine et, la décorer avec des plantes en pot? Pourquoi?
- 8/ - En cuisine, est ce que l'on a le droit de goûter une sauce avec le doigt ? Pourquoi?.

**ANALYSES
MICROBIOLOGIQUES
DES ALIMENTS :
PRINCIPES. CRITERES
ET RECHERCHE
DES PATHOGENES**

**PRINCIPES ET BUT DE L'ANALYSE
MICROBIOLOGIQUE DES ALIMENTS**

Les aliments sont en général contaminés par les microorganismes contenus dans l'environnement. Si les conditions sont favorables à l'aliment, les microorganismes vont se multiplier et provoquer deux types d'altérations à savoir : la qualité marchande et la qualité hygiénique.

I/ - LES DIFFERENTS TYPES D'ALTERATION

A/ - Altération de la qualité marchande

Les microorganismes provoquent des troubles des « caractères organoleptiques et physico-chimiques » sans rendre l'aliment dangereux pour le consommateur. Sa mise en évidence se fait par le dénombrement de la « flore totale ».

Exemple N°1 : *Pseudomonas marginalis* est rencontré sur les feuilles de salade et sur l'ensemble des feuilles. Il fait partie de la flore normale des végétaux mais, sa multiplication excessive peut entraîner un pourrissement de ces feuilles. **Ex N°3** : Les Levures se développent bien sur les végétaux sucrés et acides.

Ex. N°2 : Les bactéries lactiques dont le *Leuconostoc mesenteroides* est le germe d'altération fréquent sur les produits riches en sucre comme la carotte râpée

B/ - Altération de la qualité hygiénique

Dans ce cas, le microorganisme en se multipliant rend l'aliment dangereux pour la santé publique soit par sa charge, soit par la toxine qu'elle produit.

Ex.N°1 : les volailles sont souvent contaminées par *Salmonella sp.* avec des sources nombreuses (sol, poussière, matières fécales des animaux). Leur multiplication (*S. enteritidis*) peut entraîner une infection salmonelle chez le consommateur **Ex N°2** : les *Staphylococcus* et le *Vibrio cholerae* sont dangereux

II/ - ANALYSE MICROBIOLOGIQUE

L'analyse microbiologique d'un produit alimentaire a pour but, de déceler et de prévenir ces deux types d'altérations. Il est cependant nécessaire de distinguer deux types d'analyses qui sont : l'analyse du produit fini et, l'analyse du produit en cours de fabrication.

1/ - Analyse du produit fini qui a pour but de mettre en évidence les deux types d'altération. Ce sont des analyses réalisées par les laboratoires officiels de contrôle ou par des entreprises. Elles nécessitent l'application des « méthodes normalisées » (ISO,AFNOR, CODINORM ...) et, permettent de vérifier la conformité du produit à des critères.

2/ - Analyse du produit en cours de fabrication, il s'agit d'un contrôle de bonnes pratiques de fabrication ou hygiénique. Elle a un but préventif où l'utilisation de nombreux guides sont plus sévères que les critères réglementaires. Quel que soit le type d'analyse, l'analyse microbiologique peut être complète ou partielle en fonction de la demande du client ou du contenu des cahiers des charges.

III/ - ANALYSE MICROBIO. COMPLETE DES PRODUITS FINIS

Quatre groupes de microorganismes sont habituellement recherchés : les germes d'altération de la qualité marchande, les pathogènes, les germes témoins de contamination fécale et les indicateurs technologiques.

1/ - les germes capables d'altération de la qualité marchande de l'aliment

* **Exemple N°1** : Les Produits acides, pour les laits et yaourts, l'on a les microorganismes à 30°C, les Levures et Moisissures, les *Lactobacillus* et les Bactéries lactiques tels les *Leuconostocs*

* **Ex N° 2** : Les Conserves, l'on a plutôt les *Clostridium* (bombage des boîtes) et les *Bacillus*

2/ - les germes potentiellement pathogènes pour le consommateur

Ce sont principalement : * *Salmonella spp.* * *Staphylococcus aureus* * *Shigella*

* Anaérobies sulfitoréducteurs (*Clostridium perfringens/ botulinium*) * *Bacillus cereus*

* *E. coli* * *Yersinia enterocolitica* * *Listeria monocytogenes* * *Campylobacter jejuni* ect ...

3/ - les germes « témoins » de contamination fécale :

* *E. coli* * Coliformes (*Klebsiella, Citrobacter, Enterobacter*) * Entérocoques (eaux – coquillages)

4/ - les germes indicateurs technologiques : * Coliformes * Enterobactéries

NB : Les « germes témoins » sont des marqueurs dont la recherche ou le dénombrement permet de supposer la présence d'un germe cible. Deux situations peuvent se présenter : celle de l'index et de l'indicateur.

Mais avant d'envisager la recherche ou le dénombrement des germes, il est indispensable d'échantillonner, de prélever et de transporter convenablement l'aliment à analyser.

**LES CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES ALIMENTS
PRODUITS DE 4^{ème} GAMME, PLATS CUISINES, EAU DE BOISSON**

I/ - INTRODUCTION

Les microorganismes sont des composants extrêmement nombreux et actifs de notre environnement. Cependant à cause de leur petite taille, on a souvent tendance à les ignorer ou les sous estimer. Il existe pourtant deux domaines où ils nous concernent de façon particulière : celui de la santé et celui de l'alimentation. En effet ils sont la cause des altérations des produits alimentaires et des infections bactériennes et fongiques et mycosiques que nous contractons.

La détermination des microorganismes s'avère nécessaire pour permettre une maîtrise de la qualité et, une prévention des risques infectieux au niveau des matières végétales alimentaires. Ainsi pour protéger la santé des consommateurs, l'Association Française de Normalisation (AFNOR) a définie des critères microbiologiques obligatoires pour les différents types d'aliments depuis les eaux jusqu'aux plats cuisinés en passant par les fruits et légumes

II/ - CRITERES DE QUALITE DES FRUITS ET LEGUMES

Les Fruits et Légumes sont des produits végétaux dits de la 4^{ème} gamme. L'analyse microbiologique de ces produits est essentiellement dirigée vers la recherche des germes fermentaires qui, à un taux élevé altèrent la qualité marchande et des fois la qualité hygiénique lorsqu'il y a productions des « mycotoxines » telles l'aflatoxine et l'ochratoxine dans le cacao.

Les microorganismes recherchés sont :

- les « **Levures** » ou champignons unicellulaires
- les « **Moisissures** », (champignons pluricellulaires ou, thalles filamenteux)
- les « **Lactobacillus** » responsables des goûts aigres et piquants
- les « **Leuconostocs** » qui sont des bactéries hétéro-fermentaires et muqueuses

Au stade de la production, les critères de qualité des normes AFNOR adoptés par le Comité Ivoirien de Normalisation (CODINORM) pour les Levures et Moisissures sont les suivants :

- valeur limite minimale « **m** » = 1. 000 microorganismes / ml.
- valeur limite maximale « **M** » = 10. 000 microorganismes / ml

Tableau N°1 : Critères microbiologiques liés aux fruits au stade de la production

Micro-organismes recherchés	Nombre de germes / ml (Valeur limite minimale: m)	Nombre de germes / ml (Valeur limite maximale: M)
* <i>Levures</i>	« m » = 1. 000	« M » = 10. 000
* <i>Moisissures</i>	« m » = 1. 000	« M » = 10. 000
* <i>Leuconostocs</i>	Absence	Absence
* <i>Lactobacillus</i>	Absence	Absence

* **m** = Valeur limite minimale

* **M** = Valeur limite maximale

MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE

* **M** = Valeur limite maximale ou, seuil d'acceptabilité au-delà duquel les résultats sont considérés comme « non satisfaisants » pour la qualité marchande. Sans pour autant que ces produits soient considérés comme toxiques.

A partir de ces critères énoncés, les différents commentaires assignés à la qualité des fruits au stade de la production sont les suivants :

1/ - Qualité Microbiologique Satisfaisante : « **QMS** » lorsque les résultats en milieu solide, sont tous inférieurs ou égaux à trois (3) fois « **m** ».

2/ - Qualité Microbiologique considérée comme Acceptable : « **QMA** » lorsque les résultats obtenus sont compris entre trois (3) fois « **m** » et « **M** », soit dix (10) fois « **m** »

3/ - Qualité Microbiologique Non Satisfaisante : « **QMNS** » quand les résultats sont supérieurs à « **M** »

III/ - CRITÈRES DE QUALITÉ DES PLATS CUISINÉS

Tableau N°2 : Critères microbiologiques liés aux plats cuisinés (AFNOR / CODINORM)

Microorganisme recherché 00	*****	Valeur limite minimale : m
- Germes Aérobie Mésophile à 30°C. (G.A.M.)		300.000 germes / g
- Coliformes Totaux à 30° C. (C.T.)		1.000 germes / g
- Coliformes Thermotolérants (C. Fécaux : C.F.)		10 germes / g
- Staphylococcus aureus (Staph.)		100 germes / g
- Anaérobies Sulfito-Réducteurs (A.S.R.)		30 germes / g
- Streptocoques Fécaux (Strep. D)		Pas de critère
- Salmonella (Sal.)		Absence dans 25 g

A partir de ces critères énoncés, les différents commentaires assignés à la qualité des plats cuisinés sont les suivants :

1/ - Qualité Microbiologique Satisfaisante : « **QMS** » lorsque tous les dénombrements sont inférieurs à trois (3) fois le critère « **m** » avec, absence de *Salmonella*.

2/ - Qualité Microbiologique considérée comme Acceptable : « **QMA** » lorsque un des dénombrements est compris entre trois (3) fois « **m** » et « **M** », soit dix (10) fois « **m** » avec, absence de *Salmonella*

3/ - Qualité Microbiologique Non Satisfaisante : « **QMNS** » quand plusieurs dénombrements sont compris entre 3 et 10 fois le critère « **m** » avec, absence de *Salmonella*

4/ - « Aliment Corrompu » : lorsqu'il y a présence de *Salmonella* et, quand les dénombrements sont compris entre 500 et 1000 fois le critère « **m** »

PS : Index / Indicateur

a/ - Index : c'est un germe dont la présence en nombre supérieur aux valeurs définies indique la présence possible d'un pathogène d'écologie similaire.

b/ - Indicateur : c'est un germe dont la présence en nombre supérieur aux valeurs définies indique un défaut d'adhésion aux bonnes pratiques de fabrications reconnues.

MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE

Tableau N° 3 : COMMENTAIRE DES CRITERES DES PLATS CUISINES

GERMES	Q.M.S. *	Q.M.A. *	Q.M.N.S *	Aliment corrompu
G.A.M.	900.000	900.000 – 3.000.000	900.000 – 3.000.000	
C. Totaux	3.000	3.000 – 10.000	3.000 – 10.000	
C. Fécaux	30	30 - 100	30 - 100	
A.S.Réducteurs	90	90 - 100	90 - 100	
Staph. aureus	300	300 – 1.000	300 – 1.000	
Salmonella	Absence / 25 g.	Absence / 25 g.	Absence / 25 g.	Présence dans 25 g.
	Tous les dénombrements sont inférieurs à «3» fois le critère avec absence de <i>Salmonella</i>	Un des dénombrements est compris entre « 3 et 10 » fois le critère avec absence de <i>Salmonella</i>	Plusieurs dénombrements sont compris entre « 3 et 10 » fois le critère avec absence de <i>Salmonella</i>	Susceptibilité de toxicité. Egalement lorsque les dénombrements sont compris entre « 500 et 1000 » fois le critère

* 1/ - **Q.M.S.** : Qualité Microbiologique Satisfaisante

* 2/ - **Q.M.A.** : Qualité Microbiologique Acceptable

* 3/ - **Q.M.N.S.** : Qualité Microbiologique Non Satisfaisante

* 4/ - **Aliment Corrompu**

IV/ - CRITERES DE QUALITE EAUX DE BOISSONS (AFNOR / CODINORM)

Tableau N°4 : Critères microbiologiques liés aux eaux de boissons

Valeur limite minimale : m	
- Germes Aérobie Mésophile (G.A.M.) * 22°C	100 germes / ml * 37°C 200 g / ml
- Coliformes Totaux à 30° C. (C.T.)	< à 1 germe / 100 ml
- Coliformes Thermotolérants (C. Fécaux : C.F.)	< à 1 germe / 100 ml
- Anaérobies Sulfito-Réducteurs (A.S.R.)	1 germe / 20 ml
- Streptocoques Fécaux (Strep. D)	< à 1 germe / 100 ml
- Salmonella (Sal.)	Absence dans 100 ml

RECHERCHE DES PRINCIPAUX TYPES DE MICROORGANISMES PATHOGENES

Les critères établis pour la microbiologie alimentaire comportent à de rares exceptions près toujours les mêmes microorganismes. Ainsi a t'on choisi de présenter, l'ensemble des bactéries retenus et non retenues d'intérêt, leur signification et les méthodes d'analyses recommandées.

A/ - LES GERMES AEROBIES MESOPHILES

I/ - CARACTERISTIQUES

Le terme de germes aérobies mésophiles : **GAM** regroupe les bactéries, les levures, les moisissures se développant en aérobiose à une température caractéristique, il s'agit de la « **flore totale** » mésophile et psychrophile. Ces microorganismes sont des germes qui contaminent souvent les aliments et qui peuvent être néfastes pour la qualité des produits alimentaires.

Ces GAM sont des indicateurs d'hygiène. Ils sont tolérés dans la limite d'une certaine quantité au delà de laquelle, ils constituent un problème hygiénique.

Le dénombrement des GAM est couramment utilisé dans le domaine alimentaire en matière de contrôle qualité. Il permet une évaluation relative de la salubrité des procédés à l'usine et / ou de la préparation des aliments dans les établissements alimentaires. Il nous renseigne également sur l'efficacité des contrôles de température lors de la manipulation des produits, leur transport et leur entreposage.

Les GAM présentent les caractères communs aux levures, moisissures et bactéries. Ils se développent en aérobiose c'est à dire en présence d'oxygène. Ils se développent entre 30° - 37° C. Tous ces germes sont cultivés sur milieux ordinaire.

II/ - DENOMBREMENT ET IDENTIFICATION DES « GAM »

1/ - Prise d'essais : on prend **25** grammes d'aliment

2/ - Pré - enrichissement : il permet de revivifier les germes présents

Les 25 g. d'aliment sont mis dans **225 ml** ou **250 ml** d'eau peptonnée tamponnée (EPT)

3/ - Dilution décimale et ensemencement

A partir de la suspension mère (225 ml EPT / 25 g d'aliment), des dilutions décimales sont réalisées et **1 ml** de chaque dilution est utilisé pour un ensemencement par incorporation en boîte de Pétri sur **milieu PCA**. (Palt Count Agar) d'isolement des GAM.

4 / - Incubation

Après cet ensemencement, les boîtes sont incubées: mise à l'étuve à **30° C** pendant 72 heures, après ces trois jours , on va dénombrer toutes les colonies (on compte entre 30 et 300).

5/ - Expression des résultats

Ce sont des critères microbiologiques d'appréciation , seuil limite **ICSMF** (International Commission Microbiological Specification Foods) et le Codex Alimentarius.

Si l'on utilise ces deux critères , on distingue deux types de limite : une valeur "**m**" correspondant au seuil d'acceptabilité en dessous duquel le produit est de qualité microbiologique satisfaisante , et un seuil limite "**M**" supérieur à "**m**" correspondant au rejet du produit. Ce seuil "**M**" étant un multiple du seuil "**m**", la qualité du produit est inacceptable.

**B/ - LES COLIFORMES TOTAUX,
COLIFORMES FÉCAUX, ESCHERICHIA COLI (E. coli)**

I/ - CARACTÉRISTIQUES

Les coliformes constituent un groupe bactérien sans signification taxonomique. Il regroupe en théorie, les coliformes totaux et les coliformes fécaux présents dans les matières fécales. Pratiquement, on retrouve dans ce groupe des *Escherichia coli* dont le dénombrement est réalisable sans difficulté technique reflète sans ambiguïté la contamination fécale. C'est une espèce bactérienne dont certains types sérologiques sont pathogènes. Bactérie considérée dans le cadre de la microbiologie alimentaire comme un indicateur de contamination fécale et donc indicateur de bactérie pathogènes.

Escherichia coli est toujours dénombré en faible quantité ; elle est même souvent absente dans les aliments de qualité microbiologique correcte. La présence de cette bactérie hors critère indique que les règles d'hygiène n'ont pas été respectées (souillures par les fèces) ou au cours des manipulations. Le dénombrement est réalisé selon la norme AFNOR NF V08 017 par comptage des colonies ou par toute autre méthode donnant des résultats équivalents.

Les Coliformes sont en fait des Entérobactéries. Ce sont des bacilles Gram(-), mobiles péritriche ou immobiles, acapsulés, asporulés, pas de cytochrome'oxydase, possèdent une catalase, réduisent les nitrates en nitrites, et réduisent le glucose.

Les Coliformes selon les normes ISO sont des bacilles Gram(-), aéro-anaérobie facultatifs (AAF), capables de se multiplier en présence de sels biliaires et, capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 48 heures à 35 – 37° C.

L'on classe ces bactéries entériques en trois (3) groupes : les Coliformes Totaux (C.T.) qui se développent entre 30-35°C , les Coliformes Thermotolérants (C. Th.) ou Coliformes Fécaux qui ont la faculté de se développer à des températures élevées entre 44-45°C et, les bactéries *Escherichia coli* (E. coli) excluant tous les pathovars.

Ces germes sont à l'origine d'infections alimentaires sous formes de gastroentérites et des diarrhées après une incubation allant de 5 à 24 heures. Les aliments impliqués sont : les fromages, bœuf haché saignant, viandes et volailles, eau, crudités ...

II/ - DENOMBREMENT ET IDENTIFICATION

- **Prélèvement et prise d'essai** : chez l'homme,, on peut prélever *E. coli* dans les selles dans l'environnement, l'eau de boisson et certains aliments. L'on prend 25 gramme d'aliment

-**Pré-enrichissement** : pour donner du tonus à la bactérie, on utilise l'eau peptonnée tamponnée(EPT), ;cette étape peut toute fois être sautée chez les E. coli

- **Enrichissement** : importante chez les *E. coli* car, elle se développerait de façon anormale Les bouillons d'enrichissement sélectifs sont : * bouillon Lactosé au Bromocresol Pourpre * bouillon Lactosé Bilié au vert brillant * bouillon Mac Conkey * bouillon au glutamate ...

- **Isolement** : il se fait sur les milieux de culture, en général sur les géloses

* gélose au Desoxycholate Lactose 1% *gélose EMB (Eosine au bleu de méthylène) * milieu SS

* gélose VRBL (violet-cristal rouge neutre bile lactose) * gélose lactosée de Driglaski ...

- **Incubation**: 30°C pour les coliformes totaux et, 44°C pour les thermotolérants pendant 24 à 48 h

- **Identification** : elle se fait sur « 5 » colonies avec le portoir réduit de Leminor

C/ - LES STREPTOCOQUES FÉCAUX

I/ - CARACTERISTIQUES

Les Streptocoques fécaux sont des bactéries ubiquitaires, commensales du tube digestif de l'homme et des animaux, saprophytes de l'environnement (eau usée, eau douce, eau de mer, dans le sol, sur les végétaux). Ce sont des indicateurs de contamination fécale. En effet, la présence des streptocoques fécaux (*S. faecalis*) dans les eaux de boissons est considérée comme un signe de contamination fécale.

Les entérocoques sont susceptibles de contaminer les aliments comme le lait et les produits laitiers, les viandes et produits de pêche. Notons qu'*Enterococcus faecalis* participe à la maturation du fromage, et est considéré comme un ferment d'arôme. Certaines souches d'*Enterococcus* sont utilisées comme levain ou ferment

II - DENOMBREMENT DES STREPTOCOQUES D

II. A/ - MILIEUX DE CULTURE

1/ - Gélose BEA (*Bile Esculine Azide*) ou Gélose D- Cocosel

Sa composition est : la bile comme inhibiteur des bactéries Gram (+) sauf les Streptocoques D, l'azide de sodium comme inhibiteur des bactéries Gram (-), l'esculine comme composé glucidique, c'est un hétéroside dont l'hydrolyse libère le glucose et le di hydroxyde d'ammonium qui donne une coloration noire. La présence de colonie noire met en évidence la caractère esculine positif

2/ - Milieu liquide de Rothe : C'est un milieu sélectif utilisé en général pour le dénombrement des Streptocoques des eaux d'alimentation, l'on recherche l'aspect trouble

3/ - Autres milieux : * Milieu solide de Slanetz – Bartlez * Milieu de Litsky * Milieu OAA (*Oxalinique, Acide, Azide*) * Gélose Esculine Azide Canomycine

II. B/ - METHODOLOGIE

En général, les Streptocoques fécaux seront recherchés dans les eaux

- **Prise d'essai** : dans le cas de l'eau on prend 1 à 10 litres. Cette quantité est filtrée sur membrane, c'est un filtrat qui va servir à faire l'ensemencement.

- **Dilution décimale, ensemencement et résultats**

Des dilutions décimales sont réalisées avec de l'EPT et on ensemence sur milieu Rothe.

Ce milieu est un test présomptif :

1/ - si on a un Rothe positif (+) c'est à dire d'aspect trouble, on peut aussi ensemencer sur milieu BEA pour dénombrer les colonies

2/ - s'il y a des colonies noires, on suspecte des streptocoques D. A partir des colonies sur BEA, on peut faire l'identification à partir des critères morphologiques, biochimiques et d'autres tests biochimiques

- A partir de BEA (+) ===== > Tellurite de K+ (+) : *Enterococcus faecalis*

- A partir de BEA (+) ===== > Bouillon Hypersalé (+) : Strep. du groupe D (Enterocoque)

D/ - LES STAPHYLOCOCCUS AUREUS

I/ - CARACTERISTIQUES

C'est une espèce bactérienne, une bactérie pathogène pouvant être présent sur le cuir et dans les mamelles et dans le tractus digestif et génital des animaux vivants. Elle peut provenir aussi de pollutions d'origine humaine (manipulation, rhume, etc.).

Staphylococcus aureus est toujours dénombré en faible quantité ; il est même souvent absent sur les produits de qualité microbiologique correcte. La présence de cette bactérie à des taux supérieurs aux critères proposés indique que les règles d'hygiène n'ont pas été respectées.

- II/ - DENOMBREMENT ET IDENTIFICATION

Le dénombrement est réalisé selon la norme AFBOR V08 014 modifié : ensemencement de 0,1 ml de suspension mère ou de dilution à la surface du milieu Baird – Parker. Incubation à 37° C. Lecture des boîtes après 24 à 28 heures d'incubation. Toute autre méthode donnant des résultats équivalents peut être utilisée.

- **Prise d'essai** : on prend 25 grammes d'aliment ou d'échantillon

- **Enrichissement** : il permet de revivifier les germes présents les 25g d'aliment sont mis dans 225ml d'eau peptonnée tamponnée (EPT) pour une suspension mère qui est diluée au 1/10

- **Dilution décimale et ensemencement** : à partir de la suspension mère (225 EPT/25g d'aliment), des dilution décimale sont réalisés. Ensuite 0,1ml de chaque dilution est utilisé pour un ensemencement par étalement sur **milieu Baird Parker** coulé en boîte de Pétri. Le milieu Baird Parker est le milieu sélectif avec trois agents sélectifs : la glycine, le tellurite de potassium et le chlorure de lithium. L'on va assister au métabolisme lipidique des germes avec la production de lécithine.

- **Identification** : après cet ensemencement, les boîtes sont incubées mises à l'étuve à 37°C pendant 45 à 48 heures. Après ces deux jours, on va dénombrer les colonies de *Staphylocoque aureus* qui se présentent sous forme de « **colonies noires** » brillantes, bombées entourées d'un halo clair s'étendant dans le milieu opaque. En général, on choisit les géloses contenant les boîtes ayant entre 20 à 200 colonies suspectes.

E/ - LES ANAEROBIES SULFITO – REDUCTEURS (ASR)

I/ - CARACTERISTIQUES

C'est une espèce bactérienne pathogène. Elle peut être présente sous forme de spore, en très petite quantité. C'est une bactérie anaérobie stricte, mésophile ne se développant pas dans les aliments quand les règles de bonnes pratiques des opérations de transformation et de conservation ne sont pas respectées. La dose minimale infectante de *Clostridium perfringens* ne paraît pas connue. D'autre part on peut toujours craindre une croissance de cette bactérie au cours de refroidissement mal conduit de produits après cuisson (temps de refroidissement trop long à des températures entre 50°C et 15°C).

En théorie, le dénombrement des spores et des cellules végétatives de *Clostridium* est considéré comme révélant la présence de *Clostridium perfringens*.

II/ - DENOMBREMENT ET IDENTIFICATION DES ASR

C'est en fait le dénombrement des spores des « ASR » qui peuvent être isolées en utilisant des milieux contenant du sulfite. Le milieu doit contenir environ 0.45% de sulfite. Ex : **milieu TSN**

Les bactéries anaérobies ne possèdent pas d'oxyde disulfite, pas d'oxydase, catalase et de peroxydase. Elles sont identifiées par la présence de colonies noires, on peut réaliser la confirmation en repiquant, les colonies noires sur une boîte de gélose à l'œuf de willis.

F/ - LES SALMONELLA

I/ - CARACTERISTIQUES

C'est une espèce bactérienne, une bactérie pathogène pouvant être présent sur le cuir et dans le tractus digestif de l'animal vivant porteur sain, rarement décelé à l'intérieur des masses musculaires. Elle peut se trouver sur les carcasses après abattage : lors des opérations d'abattage, elle passe directement ou indirectement du cuir à la carcasse pour les bovins, ovins et équins.

Les conditions de ressuage, la conservation à des températures de réfrigération ou de congélation n'entraînent pas la destruction de cette bactérie. Elle est mésophile, ne se développant ni sur ni dans la viande au cours des opérations de transformation et de conservation si les règles de bonnes pratiques sont respectées.

Salmonella peut donner lieu à des contaminations croisées tout au long de la chaîne de fabrication des produits « **viande** » et ultérieurement en cuisine.

II/ - RECHERCHE ET IDENTIFICATION

Détection selon la norme AFNOR NF V08 013 ou toute autre méthode donnant des résultats équivalents. La recherche dans 10 gr a été substituée à celle dans 25 gr car la méthode actuellement utilisée (milieu Rappaport - Vassiliadis) s'est révélée deux fois plus sensible que l'ancienne technique (milieu Müller-Kauffmann)

-- **Prise d'essai ou échantillonnage** : la recherche se fait sur 25 grammes d'aliment en général

-- **Pré-enrichissement** : c'est la préparation de la suspension mère qui se fait avec 225ml d'eau peptonnée tamponnée (EPT) et, l'on met à l'étuve à 37°C pendant 16 à 20 heures

- **Enrichissement** : il est réalisé en ensemençant dans les bouillons d'enrichissement sélectifs pendant 24 à 48 heures avec : *le bouillon de Séléline à 37°C

*le bouillon Mueller Kauffman à 43°C *le bouillon Rappaport à 43°C pendant 4 heures

- **Isolement** : on le fait sur les géloses sélectives à 37°C pendant 24 à 48 heures

- **Identification** : sur au moins 5 colonies ensemençées sur **portoir réduit de Leminor**

A partir des colonies caractéristiques sur les géloses SS et Hektoen on ensemence le portoir réduit de Leminor comprenant les milieux ci-dessous incubé à 37°C pendant 24 h :

- Urée indole de Fergusson *, Kligler-Hajna
- Citrate de Simons, * Lysine de fer * et Mannitol mobilité,

ETUDE DES GERMES PATHOGENES:
Staphylococcus, Streptococcus, Clostridium, Salmonella

EXERCICE N° 1 : Recherche des Staphylocoques

- 1/ - Vous devez isoler et dénombrer les *Staphylococcus aureus*
 - a/ - Donner le nom du milieu de culture spécifique et présenter la méthode de dénombrement à utiliser pour cette recherche
 - b/ - Préciser la température et le temps d'incubation nécessaire pour un bon isolement
- 2/ - Présenter les caractères macroscopiques des colonies sur le milieu de culture
- 3/ - Indiquer les caractères microscopiques observés après une coloration de Gram puis, réaliser une représentation schématique de ces germes
- 4/ - Présenter les « tests biochimiques » utilisés pour la recherche et la mise en évidence de :
 - a/ - la Catalase
 - b/ - l'Oxydase et
 - c/ - la Bêta-galactosidase
- 5/ - Le germe recherché est « Staphylocoagulase positif » : quelle est la signification de ce résultat ?

EXERCICE N° 2 : Etude du pouvoir pathogène *

Staphylococcus aureus est responsable de septicémie au pronostic grave chez les sujets hospitalisés et affaiblis. La porte d'entrée des septicémies thrombo-emboliques est souvent une plaie sur infectée et le pouvoir pathogène repose surtout sur les capacités de multiplication et d'invasion du germe : 1/ - Donner la définition d'une septicémie

- 2/ - Citer deux (2) facteurs sécrétés par *Staphylococcus aureus* et qui contribue au pouvoir pathogène lors d'une septicémie et justifier leurs rôles
- 3/ - Pour l'un des facteurs dont la recherche est effectuée au laboratoire, expliquer sommairement le principe des tests réalisés et la signification des résultats obtenus

EXERCICE N° 3

- I/ - Quel est le rôle de la recherche des Streptocoques D
- II/ - Donner les différences majeures entre les *Staphylococcus* et les *Streptococcus*; aussi bien morphologique que biochimique

EXERCICE N° 4: Recherche des Clostridium (ASR)

Vous devez isoler et dénombrer des Anaéobies Sulfito-Réducteurs (ASR)

- 1/ - Donner le nom de deux (2) milieux de culture que vous pouvez utiliser
- 2/ - Préciser la température et le temps d'incubation
- 3/ - Présenter les caractères macroscopiques d'identification de ces germes

EXERCICE N° 5 : Entérobactéries (Salmonelle)

- 1/ - Donner la définition des Entérobactéries et présenter leurs caractères généraux
- 2/ - Donner le nom des milieux de culture utilisés pour leur isolement
- 3/ - Citer les différents milieux constitutifs du portoir réduit de Leminor et donner les caractères des réactions positives et négatives observées après ensemencement et incubation des souches d'Entérobactéries
- 4/ - Présenter l'importance des germes appartenant au genre *SALMONELLA* dans le milieu des infections bactériennes et les différentes étapes nécessaires pour sa recherche
- 5/ - Déterminer les caractères biochimiques spécifiques des *SALMONELLA*

ANALYSE CONTROLE DE QUALITE DES ALIMENTS

- EXERCICE N° 1 : Normes et critères

Donner les normes utilisées après les analyses :

- a/ - d'une eau alimentaire b/ - du lait cru c/ - d'un fruit
d/ - de la viande e/ - d'un plat cuisiné

Et dites quand un produit alimentaire est de Qualité Microbiologique Non Satisfaisante.

- EXERCICE N° 2 : Etude des eaux d'alimentation

- Quels sont les «germes» à recherche obligatoire dans l'analyse et le contrôle bactériologique des Eaux, et donner la définition de la «colimétrie»

- EXERCICE N° 3 : Contrôle de qualité des eaux de boissons et de boissons alcoolisées

Une analyse de trois échantillons d'eau de boissons et d'une boisson alcoolisée est effectuée, les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous

	<u>*Eau Minérale Céleste</u>	<u>*Eau Purifiée en sachet</u>	<u>*Eau Potable</u>
* G.A.M.	1. 000	22. 000	4. 500
* Coliformes Totaux	34	7. 200	320
* Coliformes Fécaux	0	200	60
* Streptocoques gpe D	0	800	0

* Boisson alcoolisée : Absence totale de germes

- 1/ - Faites un commentaire de ces résultats
- 2/ - Dans quel but la recherche des coliformes et des streptocoques D est réalisée
- 3/ - L'échantillon d'eau en sachet dit «purifiée» peut-il être mis en vente ? Pourquoi ?
- 4/ - Malgré l'absence de germes, cette boisson alcoolisée fût à l'origine d'intoxications sévères; de quel type d'intoxication pourrait il s'agir ?

- EXERCICE N° 4 : Contrôle de qualité des eaux de boissons

Une analyse de trois (3) échantillons d'Eau est effectuée, les résultats des germes isolés par ml sont consignés dans le tableau ci-dessous

	<u>* Eau Awa Dji</u>	<u>* Eau Purifiée en sachet</u>	<u>* Eau Sodeci</u>
a/ - G.A.M.	800	32. 000	8. 000
b/ - Coliformes Totaux	26	6, 400	350
c/ - Coliformes Thermo-tolérants	0	400	40
d/ - Streptocoques Fécaux	0	2. 200	0

- 1/ - Faites un commentaire de ces résultats en vous référant aux normes internationales AFNOR et nationale CODINORM
- 2/ - Dans quel but d'une part, la recherche des germes aérobies mésophiles (GAM) est réalisée, et d'autre part ceux des coliformes et des Streptocoques D.
- 3/ - L'échantillon d'eau en sachet dit «purifiée» peut-il être mis en vente ? Pourquoi ?

MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE

- EXERCICE N° 5 : Contrôle d'un jus de fruit

L'analyse microbiologique d'un jus de fruit du secteur informel donne les résultats suivants :

	* SM	* 10-1	* 10-2
* Coliformes	- 48	05	
* Clostridium	- 11	01	

1/ - Quels sont les noms des milieux spécifiques utilisés pour la recherche des germes isolés

2/ - Quel est le nombre de chaque germe dans 1 ml de jus

- EXERCICE N° 6 : Contrôle de « foutou banane »

L'analyse microbiologique d'un « foutou de banane » donne les résultats suivants :

	* SM	* 10-1	* 10-2
* Milieu Baird Parker	72	08	
* Milieu P.C.A.			55

1/ - Quels sont les noms des germes recherchés sur ces milieux spécifiques

2/ - Quel est le nombre de chaque germe dans un (1) gramme de foutou

- EXERCICE N° 7 : Contrôle microbiologique d'un plat cuisiné

L'analyse microbiologique qualitative et quantitative d'un « plat cuisiné » issu d'un maquis de la rue princesse de Yopougon donne les résultats suivants :

	* SM	* 10-2	* 10-3
* G Aérobies Mésophiles	- 260	30	02
* <i>Staphylococcus</i>	- 09	01	
* <i>Salmonella</i>	- Présence		

1/ - Quel est le nombre de chaque germe isolé dans 1 g d'aliment

2/ - Quelle est la « qualité microbiologique » de cet aliment en fonction des normes AFNOR et CODINORM en sachant que les autres germes recherchés sont absents

3/ - Quels sont les principaux conseils que vous pouvez transmettre aux clients de ce maquis

- EXERCICE N° 8 : Etude de cas

En Zone de front au centre de la Côte d'Ivoire des signes cliniques affectant un groupe de population déplacée amène un médecin de la Croix rouge à la suspicion d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) au cours des fêtes pascales 2003. Des prélèvements de plusieurs plats de résistance sont alors réalisés et transférés à votre laboratoire à Abidjan pour un contrôle microbiologique complet avec des recherches poussées sur les germes *Staphylococcus* et *Salmonella*

A/ - 1^{ère} partie

1/ - Donner la définition d'une toxi-infection alimentaire collective

2/ - Présenter les principales origines des microorganismes dans les aliments

3/ - Enumérer les différents moyens utilisés pour empêcher la multiplication des microorganismes dans les produits agroalimentaires

4/ - Donner la définition des trois termes suivants : a/ - Antiseptique b/ - Désinfectant c/ - Antibiotique

B/ - 2^{ème} partie : résultats d'analyse

	* SM	* 10-2	* 10-3
* G Aérobies Mésophiles	-	105	10
* <i>Staphylococcus</i>	-	29	03
* Coliformes Totaux	84	07	00

1/ - Quel est le nombre de chaque germe isolé dans 1 g d'aliment

2/ - Quelle est la « qualité microbiologique » de ces aliments en sachant que les autres germes recherchés sont absents

3/ - Quels sont les principaux conseils que vous pouvez transmettre à cette population

MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE

EXERCICE N° 9 : Analyse de deux denrées alimentaires

L'analyse de deux denrées alimentaires (produit N 1 et produit N2) prélevées dans deux grands restaurants de la place a fourni les résultats consignés dans les tableaux suivants :

MICROORGANISMES	PRODUIT N 1	PRODUIT N 2	CRITERES
Germes A. Mésophiles	3,7 10 ⁷	2,9 10 ⁵	3 10 ⁵
Coliformes Totaux	2,5 10 ⁵	2 10 ³	110 10 ³
Coliformes Thermotolérants	2,5 10 ³	25	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ⁵	0	100
A. S. R.	0	0	30
<i>Salmonella</i>	Absence	Présence	Absence

1/ - Interprétez les résultats du tableau en considérant chaque groupe de microorganismes pour chacune des denrées N 1 et N 2.

2/ - Quelles conclusions tirez-vous quant à la qualité microbiologique de ces denrées après analyse ?

EXERCICE N° 10 : Analyse d'un « sandwich »

L'analyse d'un «sandwich» vendu à proximité de l'Université de Cocody a donnée les résultats suivants :

	Solution mère	10 -1	10 - 2	10 - 3	10 - 4	10 - 5	Critères
GAM	(-)	Incomptable	573	203	37	9	5. 10 ⁵
Coliformes Totaux	Incomptable	315	35	13	1	0	100 / g
E. coli	(-)	179	63	7	0	0	100 / g
S. aureus	131	29	4	0	0	0	100 / g
Salmonella	Absence	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence / 25 g
Shigella	Présence	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence / 25 g
Bacillus cereus	134	18	0	0	0	0	100/g
ASR	152	32	1	0	0	0	10 /g

1/ - Interpréter ces résultats par rapport à chaque microorganisme ou groupe de microorganismes.

2/ - Donnez la qualité microbiologique de ce « sandwich »

ANALYSE CONTROLE DE QUALITE
DES PRODUITS DE 4^{ème} GAMME (Fruits tropicaux)

EXERCICE N° 1

Au cours de l'analyse microbiologique des aliments

- 1/ - Qu'appelle t'on altération de la qualité marchande d'un produit ?
- 2/ - Quels sont les germes qui permettent sa mise en évidence
- 3/ - Citer le nom des milieux de cultures spécifiques à l'étude de ces germes
- 4/ - En vous referant aux normes AFNOR et CODINORM, quand pourriez vous dire que ce produit est de « qualité microbiologie non satisfaisante »

EXERCICE N°2

Dans le souci de l'amélioration de la qualité des produits fruitiers d'une entreprise exportatrice, des résultats issus de l'analyse microbiologique de lots de fruits «d'ananas», de «papaye», et de «banane» vous sont présentés :

Lot Ananas : <i>Ananas comosus</i> : A X 2				
	SM	10-2	10-3	10-4
Levures	Indénombrable	520	48	05
Moisissures	Indénombrable	14	02	00
Leuconostocs	06	01	00	00

Lot Papaye : <i>Carica papaya</i> : P Y 2				
	SM	10-2	10-3	10-4
Levures	242	25	02	00
Moisissures	06	01	00	00
Leuconostocs	00	00	00	00

Lot Banane: B Z 3				
	SM	10-2	10-3	10-4
Levures	24	02	00	00
Moisissures	02	00	00	00
Leuconostocs	00	00	00	00

- 1/ - Effectuer le dénombrement des germes recherchés : Levures, Moisissures et Leuconostocs présents dans les fruits d'ananas, papaye et ceux de banane analysés.
- 2/ - Effectuer le commentaire des résultats obtenus sur ces deux fruits par rapport aux critères CODINORM liés aux produits de 4^{ème} gamme.
- 3/ - Déterminer la qualité microbiologique des trois lots de fruits analysés et indiquer lequel des fruits pourra être exportés

PETIT LEXIQUE D'HYGIENE ALIMENTAIRE

- **AEROBIE** : Germe dont le développement nécessite la présence d'oxygène
- **ANALYSES** : Examen de l'état ou des propriétés d'un produit
- **ANALYSES BACTERIOLOGIQUES** : Détermination du nombre de germes contenus dans une denrée, permettant de mettre en évidence en particulier certains germes caractéristiques d'une mauvaise hygiène ou de mauvaises conditions de travail.
- **ANTISEPTIQUE** : Substance chimique capable de détruire les germes microbiens ou d'en freiner le développement (*Ex : chlore, eau oxygénée*)
- **ASEPTIQUE** : Exempt de tout microbe
- **APPERTISATION** : Procédé de conservation de longue durée, développé par APPERT (1809) consistant en un traitement par la chaleur dans un récipient étanche, afin de détruire les germes
- **BACTERIE** : Organisme microscopique vivant, nombreuses espèces dont certaines sont pathogènes. Les bactéries sont universellement présentes
- **BACTERICIDE, ANTIBACTERIEN** : Agent chimique (*Ex chlore*) ou physique (*Ex : rayonnement ultra violet*) détruisant les bactéries
- **BACTERIOSTATIQUE** : Agent qui empêche la multiplication des germes
- **MALADIES D'ORIGINE BACTERIENNE** : Gastro-entérite, dysenterie, méningite, coqueluche, tétanos, diphtérie, typhoïde, pneumonie, choléra, tuberculose, syphilis ...
- **CHAMPIGNONS** : Microorganismes comprenant les levures et les moisissures et situés tout à fait en bas du régime végétal.
- **FONGICIDE, ANTIFONGIQUE** : Produit qui détruit les champignons
- **MYCOSE** : Affection cutanée causée par des champignons
- **CLOSTRIDIUM** : Bactéries anaérobies comprenant de nombreuses espèces dont *Clostridium perfringens* (agent de pollution fécale, responsable d'intoxications alimentaires) *Clostridium botulinum* (responsable du botulisme, intoxication rare mais très grave, causée le plus souvent par des conserves mal réalisées) et *Clostridium tetanii*, responsable du tétanos.
- **COLIFORMES** : Bactéries normalement présentes dans l'intestin humain et animal. Peu ou pas pathogènes mais témoins de « contamination fécale ».
- **ESCHERICHIA coli** : Bactéries de la famille des coliformes, très caractéristiques de la pollution fécale. Certaines sont pathogènes (gastro-entérite infantile)
- **COLONIE** : Population très importante de bactéries, issue d'une seule bactérie.
- **CONGELATION** : Refroidissement progressif des aliments jusqu'à 20 ° C
- **CONTAMINATION** : Transfert de microorganismes (ou de substances) d'un lieu à un autre, d'un produit à un autre, d'un porteur à un produit, etc ...
- **CONTAMINATION FECALE** : Transfert de germes originaires des matières fécales
- **DESINFECTANT** : Produit capable d'éliminer les microbes sur les matériaux
- **DETERGENT** : Produit qui dissout les souillures organiques en particulier les graisses
- **EPIDEMIE** : Atteinte simultanée d'un grand nombre d'individus par une maladie particulière
- **FERMENTATION** : Transformation de certaines substances par des enzymes microbiennes (*Ex : la fermentation acétique transforme le vin en vinaigre*)
- **FLORE MICROBIENNE** : Ensemble des microorganismes dans un lieu donnée
- **FROID** : Conditions de température qui freinent le développement microbien (jusqu'à 6 ° C) ou l'arrêtent complètement (à partir de - 15 ° C) mais qui ne tuent pas les germes
- **GASTRO-ENTERITE** : Affection de l'appareil digestif qui se traduit par des diarrhées et / ou des vomissements.
- **HYGIENE** : Ensemble des règles visant à l'amélioration de la santé
- **INSECTICIDES** : Substances naturelles ou synthétiques toxiques pour les insectes. Leur toxicité pour l'homme n'est jamais nulle.
- * **PESTICIDES** : Ensemble de produits destinés à lutter contre les parasites animaux ou végétaux

MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE

- **INTOXICATION ALIMENTAIRE** : Maladie provoquée par l'ingestion d'un aliment contaminé par des germes ou des substances toxiques. Intoxications provoquée par des toxines élaborées dans le produit, ou par un grand nombre de germes peu pathogènes, ou par un germe qui se développe à l'intérieur du tube digestif
- **LAVAGE** : Elimination des souillures par l'eau, additionnée ou non de produits (détergents, acides ...)
- * **NETTOYAGE** : Elimination de toute souillure, généralement associé à une désinfection
- **MARCHE EN AVANT** : Organisation du travail telle que les denrées élaborées et le matériel propre ne côtoient pas les denrées brutes (sales) ou le matériel souillé
- **MESOPHILE (GERME)** : Germe qui se développe aux températures moyennes de 30 ° C
- **MICROBES, MICROORGANISMES** : Organismes vivants de très petite taille, observables seulement au microscope. bactéries, champignons, protozoaires (*amibes*), virus
- * **MICROBICIDE, ANTIMICROBIEN** : Agent qui détruit les microbes
- **MULTIPLICATION BACTERIENNE** : Développement des bactéries par divisions successives : une bactérie en donne deux, qui en se divisant en donne quatre, ect ... Dans de bonnes conditions, une bactérie se divisant toutes les 20 mn. aura une descendance de un milliard d'individu en 10 heures
- **NORMES BACTERIOLOGIQUES**: Critères fixés par la législation, auxquels doivent satisfaire les denrées (Ex pour toutes les denrées, la norme relative aux Salmonelles est l'absence dans 25 g. de produit)
- **PARASITES**: Organismes vivant, indésirables, variés tels que les vers protozoaires (*amibes*), les hématozoaires du paludisme ou de la maladie du sommeil
- **PASTEURISATION** : Destruction par la chaleur de la plus grande partie de la flore microbienne, dont les germes pathogènes
- **PATHOGENE** : Capable de provoquer une maladie
- **PORTEUR DE GERMES** : Personne abritant des germes et susceptible de contaminer les produits manipulés. Ces porteurs sains n'ont pas les symptômes des germes dont ils sont porteurs
- **PSYCHROPHILES, CRYOPHILES (GERME)** : Qui se développe à basse température (0° C)
- **PUTREFACTION** : Décomposition des aliments par les microorganismes
- **REFRIGERATION, REFROIDISSEMENT** : Abaissement et maintien de la température des aliments entre 0° C et 3° C pour limiter le développement microbien.

- **SALMONELLES**: Bactéries très pathogènes responsables d'intoxications alimentaires et dont le principal réservoir est l'intestin humain et animal (Ex la fièvre typhoïde est due à *Salmonella typhi*)

- **SALUBRITE**: Pour un aliment, absence de microbes et de parasites pour un lieu, absence de toute source de contamination.
- **SERVICE DE CONTROLE**: Représentation des fraudes destinée à réprimer les tromperies et les falsifications et à promouvoir la qualité. Services vétérinaires chargés du contrôle des produits d'origine animale. Ils ont libre accès à toute heure, à tout lieu où sont manipulés des denrées alimentaires.
- **SPORE** : Forme que prennent des germes pour résister à des conditions défavorables à leur développement

- **STAPHYLOCOQUES** : Germes originaires de la région rhino-pharyngée, des plaies et infections (pus , panaris). Le Staphylocoque doré est pathogène, l'entérotoxine staphylococcique est très dangereuse.
- **STERILISATION** : Destruction de toute la flore microbienne, y compris les spores
- **STOCKAGE** : Entreposage des denrées dans des conditions optimales de températures , ventilation et humidité
- **THERMOPHILE (GERME)** : Qui se développe aux températures élevées (45-60° C)
- **TOXINE** : Poison élaborée par certaines bactéries, actif à très faible dose
- * **ENTEROTOXINE** : Toxine agressant l'intestin (entérotoxine staphylococcique)
- * **MYCOTOXINE** : Toxine élaborée par un champignon (Aflatoxine d'*Aspergillus*)
- * **NEUROTOXINE** : Toxine agressant le système nerveux (toxine botulinique)
- **VIRUS** : Microorganisme de taille très inférieure à celle des bactéries (observable au microscope électronique), vivant obligatoirement à l'intérieur d'une cellule ou d'une bactérie. (Ex : virus de l'hépatite présent dans certains coquillages)
- * **MALADIES VIRALES** : Grippe, oreillons, rougeoles, variole, poliomyélite, fièvre jaune, rage, herpes, encéphalite ...
- **VIRULENCE** : Degré de toxicité des germes, dépendant de leur nature et de l'état de l'hôte (Ex *Salmonella* a une virulence plus grande chez les nourrissons, les vieillards et les malades

Technique de dénombrement des principaux microorganismes

(GAM, Coliformes, ASR, Staphylocoques, Salmonelles).

On va prendre ou, prélever 10 g d'aliment mélangé dans 90 ml d'eau et broyé dans un broyeur stomacher. On obtient une solution homogène représentant la solution. Cela peut se réaliser avec 25 g d'aliment et 250 ml EPT

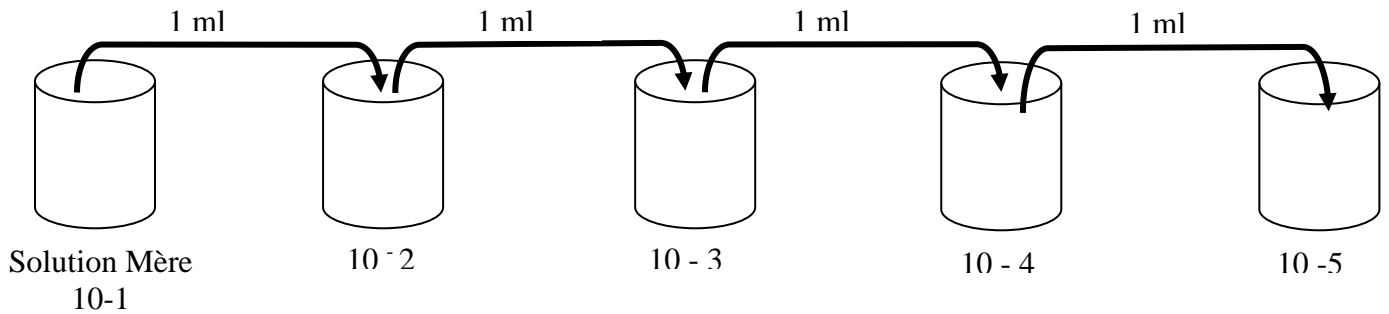
❖ **Dilution décimale**

On utilisera comme diluant l'eau peptonnée on prélève 1 ml du broyat (solution mère) dans 9ml de typhon sel. ce qui correspond à la dilution 10⁻²

❖ **A l'aide d'une pipette de 1ml**

Prélever 1 ml du tube marqué 10⁻² et l'introduire dans le tube d'eau peptone tamponnée marqué 10⁻¹ et homogénéiser. On obtient ainsi la dilution 10⁻³

- reprendre la même opération du 10⁻³ au tube 10⁻⁴ et aussi de suite jusqu'à la valeur de dilution souhaitée en changeant de pipette après chaque dilution.
- Jeter chaque fois la pipette utilisée dans la bac d'eau de javel

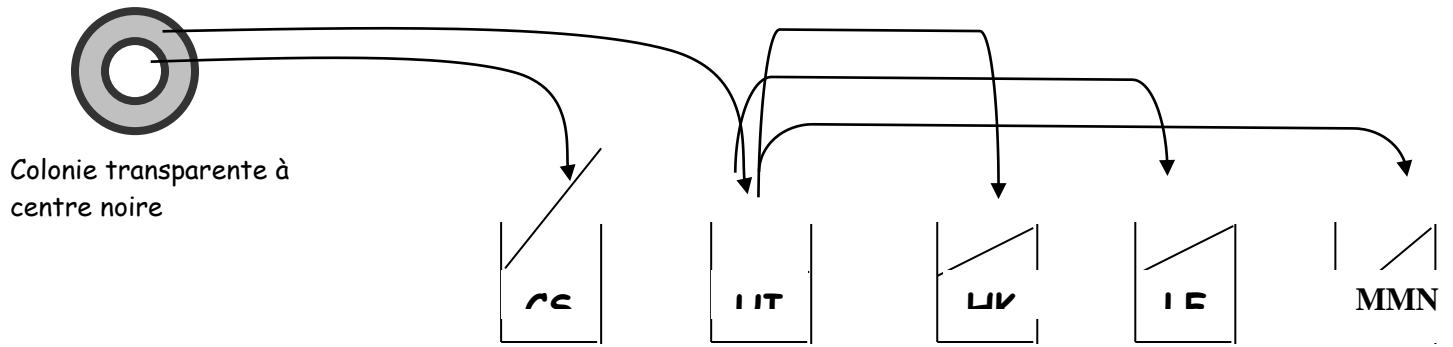


SCHEMA D'ENSEMBLE

GERMES	MILIEU	TEMPERATURE ET DUREE D'INCUBATION	ASPECT
GAM : Germes aérobies mesophile	PCA	30° C pendant 72h +/- 3 h	Toutes les colonies
Coliformes	VRBL	43,5°C +/- 0,5 pendant 24 h	Colonies rose rouge de diamètre >0,5
Staphylocoques	Boirol parker	37h pendant 24h et 48h	Colonies noires avec halo clair et zone opaque
ASR	TSR	46°C pendant 24h	Colonies noires

Nombre de colonies selon la dilution

MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE



NB

- CS : citrate de simmons
- UI : Urée Indole
- HK : Hajna kliger
- LF : lysine de fer
- MMN : mannitol mobilité nitraté