

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Université Thari Mohamed Bechar
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

Polycopié des Cours
Microbiologie Alimentaire

Auteur :

2021

Préface

Ce polycopié cours est la synthèse d'années d'enseignement de Microbiologie Alimentaire, Ecologie Microbienne et Agents d'altération de la qualité marchande et sanitaire des bioproduits. Faire acquérir des connaissances de microbiologie spécifiques au domaine alimentaire. Il est destiné à supporter l'apprentissage de Microbiologie par l'étudiant de Licence en troisième année de Spécialité Microbiologie. D'autre part, ce document pourrait aider les étudiants de Master en Biologie et de Sciences Agro-alimentaire à renforcer leurs connaissances dans le domaine de la Microbiologie.

Comme tout travail, il peut être sujet d'erreurs et de manques. De ce fait, il est toujours encourageant et motivant de recevoir des corrections, conseils et recommandations de la part des collègues enseignants et chercheurs activant sur terrain.

Liste des figures

Figure 1. Pyramide des groupes alimentaires	3
Figure 2. Modalités du pouvoir toxique	12
Figure 3. Types de fermentation lactique, homo-fermentation des bactéries lactiques (a)	15
Figure 4. Influence de la température sur le taux de croissance (Loi d'Arrhénius)	46
Figure 5. Taux de croissance de différents types de bactérie en fonction de la température	47
Figure 6. Action de la T° sur les MO et leur métabolisme	53

Liste des tableaux

Tableau 1. Principaux espèces de bactéries lactiques	19
Tableau 2. pH de croissance de quelques microorganismes	41
Tableau 3. pH de quelques produits alimentaires	42
Tableau 4. Activité d'eau et croissance des micro-organismes dans les produits alimentaires	44
Tableau 5. Barèmes de pasteurisation	49
Tableau 6. Actions des radiations sur les microorganismes	55
Tableau 7. Action de certains colorants	59

Sommaire

Préface	II
Liste des figures	III
Liste des tableaux	III
Sommaire	IV

Introduction générale	1
Chapitre I : Introduction succincte aux grands groupes d'aliments	3
1. les grands groupes d'aliments	3
1.1. Viandes-poissons-œufs	3
1.1.1. Viandes et produits carnés	3
1.1.2. Charcuteries	4
1.1.3. Poissons	4
1.1.4. Œufs	5
1.2. Lait et produits laitiers	5
1.3. Matières grasses	6
1.4. Fruits et légumes	7
1.5. Céréales et dérivés - Légumineuses	8
1.6. Sucres et produits sucrés	9
1.7. Eau et boissons	9
1.7.1. Eau	9
1.7.2. Boissons sucrées	10
Chapitre II : Les microorganismes intéressants la microbiologie alimentaire	
1. Les intoxications alimentaires	11
2. Les principaux microorganismes intervenants dans la microbiologie alimentaire	12
2.1. Les ferments lactiques	13
2.1.1. Définition	13
2.1.2. Caractères généraux	13
2.1.3. Voies métaboliques	13
2.1.4. Classification et taxonomique	16

2.1.4.1. <i>Streptococcus, Lactococcus et Enterococcus</i>	16
2.1.4.2. <i>Oenococcus, Leuconostoc et Weissella</i>	16
2.1.4.3. <i>Pediococcus</i>	17
2.1.4.4. <i>Lactobacillus</i>	17
2.1.4.5. <i>Bifidobacterium</i>	18
2.1.5. Rôle des bactéries lactiques	19
2.2. Les entérobactéries	22
2.2.1. Caractères généraux du groupe	22
2.2.2. Classification et identification	23
2.2.3. Coliformes et <i>E. coli</i>	23
2.2.4. Genre <i>Salmonella</i>	24
2.3. Les microcoques	25
2.3.1. Genre <i>Staphylococcus</i>	25
2.4. Les bactéries sporulées	26
2.4.1. Les bactéries sporulées aérobies : Genre <i>Bacillus</i>	26
2.4.2. Les bactéries sporulées anaérobies : Genre <i>Clostridium</i>	26
2.5. Les Vibrions	27
2.6. Les Brucelles	27
2.7. Les Actinobactéries	29
2.7.1. Définition et généralités	29
2.7.2. Classification	30
2.7.3. Importance et application des actinobactéries	31
2.8. Bactéries psychrotrophes	31
2.8.1. Genre <i>Pseudomonas</i>	32
2.9. Les levures	33
2.9.1. Caractères généraux et taxonomie	33
2.9.2. Rôle dans l'alimentation	36
2.9.3. Utilisation industrielle des levures	36
2.10. Les moisissures	37
2.10.1. Caractères généraux et taxonomie	37
2.10.2. Rôle dans l'alimentation	38
2.10.3. Rôle néfaste	38

Chapitre III : Les altérations microbiennes des aliments et les moyens de lutte

1. Les facteurs influençant la flore d'altération des aliments	39
1.1. Caractères propres à l'aliment	39
1.1.1. Structures biologiques	39
1.1.2. Agents antimicrobiens naturellement présents	39
1.1.3. Composition chimique de l'aliment	39
1.1.4. pH	40
1.1.5. Activité de l'eau	42
1.1.6. Potentiel d'oxydo-réduction	45
1.2. Paramètres externes à l'aliment	45
1.2.1. Température	45
1.2.2. Humidité relative	48
1.2.3. Présence et concentration de gaz	48
1.2.4. Antimicrobiens produits au cours de la fabrication de l'aliment	48
2. Les moyens de lutte	48
2.1. Moyens physiques	49
2.1.1. La température	49
2.1.1.1. La chaleur	49
2.1.1.1.1. La pasteurisation	49
2.1.1.1.2. La stérilisation	49
2.1.1.1.3. La tyndallisation	50
2.1.1.1.4. La Thermisation	50
2.1.1.1.5. Chaleur sèche	51
2.1.1.2. Froid (Congélation, Réfrigération, La lyophilisation)	51
2.1.2. Radiations	54
2.1.2.1. Radiations électromagnétiques (ionisants)	54
2.1.2.2. Radiations électroniques	55
2.1.2.3. Radiations soniques	55
2.1.3. La bactofugation et la filtration	55
2.1.3.1. Filtration stérilisante	55
2.1.3.2. La bactofugation	56
2.2. Moyens chimiques	56

2.2.1. Les antiseptiques, les désinfectants, les conservateurs alimentaires et les antibiotiques.	56
2.2.1.1. Agents oxydants	57
2.2.1.1.1. Le peroxyde d'hydrogène	57
2.2.1.1.2. Le chlore et ses dérivés	57
2.2.1.1.3. L'iode et ses dérivés	57
2.2.1.2. Les métaux lourds et leurs sels	58
2.2.1.3. Les alcools	58
2.2.1.4. Les phénols	58
2.2.1.5. Les savons et détergents	59
2.2.1.5.1. Les savons	59
2.2.1.5.2. Les détergents	59
2.2.1.6. Les colorants	59
2.2.1.7. Les conservateurs alimentaires	59
2.2.1.7.1. Conservateurs de nature minérale	60
2.2.1.7.2. Conservateurs de nature organique	60
2.2.1.7.2.1. Acides organiques	60
2.2.1.7.3. Condiments et épices	61
2.2.1.8. Les antibiotiques	61
Références	63

Introduction générale

Tout le monde sait ce que sont les microbes, des micro-organismes vivants de trop petite taille pour être vus à l'œil nu et qui nécessitent d'être examinés au microscope : virus, bactéries, algues, champignons et protozoaires. Chacun a appris à ses dépens que les microbes étaient sources de maladies. Mais peu de gens savent que de très nombreux microbes jouent un rôle bénéfique important dans la nature, chez les êtres vivants et jusque dans notre vie quotidienne. Ils sont des acteurs essentiels de notre environnement et des éléments indispensables à la vie. Ils se trouvent à l'origine de toutes les chaînes alimentaires (Dedet, 2007).

La connaissance de la microbiologie alimentaire et la maîtrise du contrôle microbiologique des aliments sont indispensables pour assurer la qualité des fabrications, respecter la santé des consommateurs et la législation en vigueur, qui devient de plus en plus contraignante (Guiraud, 1998).

Les flores microbiennes associées aux denrées alimentaires sont responsables de transformations parfois utiles. En effet, la fabrication d'un grand nombre de produits alimentaires s'appuie sur le métabolisme de micro-organismes, que l'on peut regrouper sous le terme de microflore positive. Celle-ci intervient dans l'élaboration de certains aliments par fermentation et/ou contribution au processus d'affinage (fromage ou charcuterie). Ces organismes « utiles » jouent un rôle important, d'une part, dans la conservation des produits, d'autre part, dans l'acquisition de leur typicité sensorielle. À l'utilisation directe des micro-organismes dans l'industrie agroalimentaire, certains d'entre eux sont utilisés en biotechnologie industrielle pour produire des molécules chimiques telles que des antibiotiques, des polysaccharides, ou de l'éthanol (Dorel et al., 2020).

Parallèlement à la flore microbienne positive, la microbiologie alimentaire s'intéresse aussi à la flore dite d'altération, qui correspond aux micro-organismes détériorant les produits alimentaires sans nécessairement avoir une incidence sur la santé du consommateur, ainsi chaque année, l'altération des aliments par les microorganismes entraîne des pertes économiques considérables. Enfin, il existe une microflore transmise à l'homme par les aliments qui est à l'origine de maladies infectieuses et provoque de nombreux cas d'intoxication alimentaire. Il est donc impératif, particulièrement dans les industries et les services alimentaires, de tout mettre en œuvre pour réduire les contaminations et maîtriser

l'évolution de la flore microbienne dans les denrées manipulées (Lacasse, 2002 ; Dorel et al., 2020).

Le présent cours est réparti en trois chapitres. La première partie de ce cours, aborde les grands groupes d'aliments les plus importants dans la consommation quotidienne humaine. La deuxième partie décrit les principaux groupes de microorganismes soit utiles ou contaminants les aliments, dans les rôles néfastes en insistant sur leur aspect d'altération de la qualité organoleptique et nutritionnel et leur aspect pathogène pour la santé humaine. Aussi, cette partie associe des exemples d'aliments à chaque catégorie de microorganismes par une approche taxonomique et une analyse des facteurs à risque de contamination.

Enfin, la troisième partie traite les principaux facteurs physico-chimiques et nutritionnels influençant l'implantation des microorganismes dans les aliments et les moyens mis en œuvre pour lutter contre ces contaminants.

Chapitre I

Introduction succincte aux grands groupes d'aliments

1. les grands groupes d'aliments

Au nombre de sept, les groupes d'aliments permettent une classification simplifiée des aliments. Ce classement se fait par leurs teneurs en nutriments (protéines, lipides, glucides), minéraux (fer, calcium, magnésium...) et vitamines (liposolubles : A, D, E, K et hydrosolubles : B, C...). Nous envisagerons donc sept catégories d'aliments : Viandes-poissons-œufs, lait et produits laitiers, matières grasses, légumes et fruits, céréales et dérivés - légumineuses, sucres et produits sucrés, eau et boissons (Desalme et al., 2004).



Figure 1. Pyramide des groupes alimentaires

1.1. Viandes-poissons-œufs

1.1.1. Viandes et produits carnés

Les viandes renferment en moyenne 20 % de protéines. Ces protéines sont composées essentiellement de myosine, myoalbumine et de collagène. Il s'agit, pour la myosine et la myoalbumine, de protéines d'excellente qualité comportant tous les acides aminés indispensables ce qui confère aux viandes un très bon coefficient d'efficacité protidique. Le

collagène, pauvre en tryptophane et en acides aminés soufrés, diminue la valeur biologique des viandes qui en sont riches. Les viandes apportent d'autre part une petite quantité de substances azotées non protéiques (purines entre autres).

Les viandes sont dépourvues de vitamines liposolubles. Elles sont riches en vitamines du groupe B. Les abats (principalement le foie) en sont les plus riches et représentent en outre un apport important de vitamines A et D (Fournaud, 1982 ; Favier et al., 1995).

Les lipides des viandes sont constitués principalement d'acides gras saturés et mono-insaturés. La teneur en matières grasses des viandes varie selon l'espèce, l'état d'engraissement de l'animal et le morceau considéré. Compte tenu de ces considérations une viande peut contenir 2 à 30% de graisses (Favier et al., 1995). Toutes les viandes, mêmes maigres sont sources de cholestérol, en particulier les abats. Selon la teneur en lipide, les viandes sont distinguées en trois types :

- Les viandes les plus maigres (< 10%)
- Les viandes plus grasses (10 à 30%)
- Les viandes maigres (~5%).

1.1.2. Charcuteries

A l'origine, la charcuterie est une méthode de conservation de la viande. Toute charcuterie fait l'objet d'une salaison avec un mélange de sel et de nitrate de potassium, ou de sel et de nitrite de sodium. Les charcuteries contiennent 10 à 20% de protéines (les jambons cuits ou secs en sont les plus riches). Elle est caractérisée par sa richesse en lipides : 20 à 35% (les saucisses, saucissons cuits) et 35 à 40% (les rillettes, saucissons secs et salamis). La teneur en cholestérol des charcuteries est variable : 100mg/100g dans les saucissons et saucisses, 150 à 260mg/100g dans les pâtés de foie et 60 à 70 mg/100g dans le jambon (Favier et al., 1995 ; Roberts, 1999).

1.1.3. Poissons

Le poisson et les crustacés représentent un apport en protéines d'aussi bonne qualité que la viande et peu de glucide. Il contient en outre une quantité plus importante de substances azotées non protéiques (ammoniaque, urée) qui lui donnent une odeur caractéristique. Les poissons sont une bonne source de vitamines du groupe B (en particulier

B12) et de vitamine E. Les vitamines A et D sont également abondantes dans les poissons gras (Dupin et al., 1992).

Le poisson contient en moyenne 18 à 19% de protéine. On a signalé des valeurs variables : le thon 25 à 35%, les huitres 7 à 10% (Dupin et al., 1992). La teneur en lipides des poissons est variable (0,5 à 15%). La teneur en cholestérol du poisson est de 50mg à 70mg pour 100g.

Les poissons sont classés généralement en 3 groupes (Favier et al., 1995) :

- Poissons maigres (0,5 à 5%) : merlan, sole, dorade, morue,
- Poissons demi-gras (5 à 10%) : maquereau, sardine, saumon, thon,
- Poissons gras (> 10%): anguille,

Il représente une source importante de phosphore, en sélénium et peu de calcium. Les coquillages et crustacés ont la particularité d'être plus riches en divers minéraux (calcium, zinc, fer, sodium) (50 à 400mg/ 100g) (Dupin et al., 1992).

1.1.4. Œufs

Les protéines de l'œuf (l'ovalbumine dans le blanc et ovovi-telline dans le jaune) ont une excellente valeur biologique. La teneur protéique de l'œuf entier est de 14% (8g) et de 12 à 16% en lipide (Dupin et al., 1992). Les lipides sont contenus uniquement dans le jaune (33,5g pour 100g de jaune d'œuf soit environ 7g de graisses dans 1 jaune) et comportent une forte proportion de phospholipides (Desalme et al., 2004). D'autre part le jaune d'œuf est une source importante de cholestérol (1 500mg environ pour 100g soit 300mg pour 1 jaune). Il est riche en phosphore et en fer. L'œuf est une bonne source de vitamines du groupe B et pour le jaune de vitamines A et D, pratiquement pas de glucide et 75% d'eau (Dupin et al., 1992 ; Favier et al., 1995).

1.2. Lait et produits laitiers

Le lait est une source complexe de nutriments, y compris les protéines, les hydrates de carbone, les lipides, les vitamines et les minéraux dont le rôle principal est de nourrir les nouveau-nés des espèces de mammifères dont ils ont été dérivés. Les produits laitiers sont nutritionnellement les aliments qui apportent la plus grande diversité d'éléments.

Les principales protéines trouvées dans le lait sont les caséines et les protéines de lactosérum comprenant des lactalbumines (3-lactoglobulines, albumine de sérum et les immunoglobulines) (Gueroui, 2018).

Les lipides, environ 98 % de la graisse du lait de vache est le triglycéride, le reste est composé de petites quantités de mono et diglycérides, phospholipides, acides gras libres, l'ester de cholestérol et le cholestérol (Gueroui, 2018). Les triglycérides du lait comportent essentiellement des acides gras saturés (60 à 65 %) et monoinsaturés (32 %). Le lait est pauvre en acides gras essentiels (environ 3 %) et comporte 11 à 15 % d'acides gras à chaîne courte ou moyenne (C4 à C12) (Favier et al., 1995).

Le lactose est le principal hydrate de carbone dans le lait, il favorise l'absorption du calcium contenu dans cet aliment, bien que les monosaccharides (principalement le glucose et le galactose), les oligosaccharides et les glucides liés aux peptides et aux protéines soient également présents, bien qu'à des concentrations très faibles (Gueroui, 2018).

Le lait fournit également une bonne source de minéraux, source importante de calcium (1200mg/L), il apporte du phosphore, du chlorure de sodium, du chlorure de potassium et de faibles quantités de soufre, magnésium et cuivre. Il ne contient pas de fer (Enjalbert, 1993). Ainsi, un approvisionnement en nutriments suffisant couplé à un pH presque neutre (6,5 à 6,8) et une activité élevée d'eau assure que le lait soutiendra la croissance d'une large gamme de microorganismes et, en tant que tel, est un produit hautement périssable (Gueroui, 2018).

Le lait entier est une source appréciable de vitamine A et D. Presque toutes les vitamines du groupe B sont présentes, en particulier la vitamine B12. Les vitamines liposolubles (A et D) sont absentes dans le lait écrémé (Favier et al., 1995 ; Martin, 2001 ; OMS, 2011).

1.3. Matières grasses

Les matières grasses regroupent le beurre, la crème fraîche, les huiles et les margarines.

La crème comporte environ 30 à 35% de lipides et le beurre 82 à 84%. Les acides gras saturés représentent plus de 60% des acides gras totaux. Le beurre apporte également des acides gras saturés à chaîne courte ou moyenne (environ 13%). Ces produits sont pauvres en acides gras polyinsaturés (2%) et apportent du cholestérol (250mg/100g de beurre). Ces

matières grasses sont une excellente source de vitamine A (teneur variable selon la provenance du beurre) et contiennent un peu de vitamine D et absence totale de calcium (Dupin et al., 1992 ; Martin, 2001).

Pour les matières grasses d'origine animale contiennent toutes 90 à 100% de lipides. Les proportions relatives d'acides gras varient en fonction de l'alimentation qu'a reçue l'animal. Les graisses de volaille (oie, canard) contiennent en moyenne moins d'acides gras saturés (30%) et nettement plus d'acides gras mono-insaturés (50 à 60%) et polyinsaturés (11 à 15%). Toutes ces graisses apportent en outre 100mg de cholestérol pour 100g (Dupin et al., 1992).

Les huiles sont généralement liquides à une température ambiante. Ces matières grasses ne contiennent pas de cholestérol et apportent toutes 100% de lipides. Les huiles se distinguent les unes des autres par leur composition en acides gras (Martin, 2001).

- L'huile d'olive est une source importante d'acides gras mono-insaturés (70 à 75%), et une teneur faible en acides gras saturés et polyinsaturés.
- L'huile de colza présente aussi une forte teneur en acides gras mono-insaturés (60 à 65%). Elle est un peu plus riche en acides gras essentiels (30%) et se distingue surtout par la présence de 8% d'acide linoléique. Les nouvelles variétés de colza ne contiennent pratiquement plus d'acide érucique.
- L'huile d'arachide comporte 30 à 35% d'acides gras polyinsaturés dont moins de 1% d'acide linoléique. C'est une bonne source d'acides gras mono-insaturés (45 à 50%). Les acides gras saturés représentent environ 20%.
- Les huiles de maïs, soja, tournesol, pépin de raisin, et noix représentent les meilleures sources d'acides gras polyinsaturés (60 à 70% des acides gras totaux). Les huiles de soja et de noix comportent en outre 7 à 15% d'acide linoléique. Ces huiles sont une source très importante de vitamine E (Dupin et al., 1992 ; Favier et al., 1995 ; Martin, 2001).

1.4. Fruits et légumes

La majorité des fruits contiennent entre 10 et 25 % des glucides (de fructose mais aussi de saccharose ou de glucose et plus rarement d'amidon), moins de 1 % de protéines et moins de 0,5% de matières grasses. La teneur en glucides des fruits comprend la cellulose, l'hémicellulose, la lignine et les substances pectiques, ce qui contribue à la fibre alimentaire dans l'alimentation humaine. La plupart des fruits sont relativement acides ;

les acides peuvent représenter jusqu'à 2 à 3 % du poids total des fruits comme les citrons. Les acides majeurs présents dans de nombreux fruits sont l'acide malique et l'acide citrique, mais l'acide tartrique est abondant dans la plupart des cultivars de raisins, et l'acide quinique est important dans certains fruits tels que la prune, la cerise et les kiwis (Gueroui, 2018).

La teneur moyenne en eau des légumes est d'environ 88 %, avec une teneur moyenne en glucides de 8,6 %, 1,9 % de protéines, 0,3 % de matières grasses et 0,84 % de cendres. La composition en pourcentage total des vitamines, des acides nucléiques et d'autres constituants est généralement inférieure à 1% (Gueroui, 2018).

Les légumes représentent un apport important de potassium et du calcium (surtout dans les choux), du magnésium, du fer et du cuivre (légumes à feuilles type épinard), du soufre (choux, oignons, ail, poireaux, navets, radis) et de nombreuses autres matières minérales. Les légumes sont riches en vitamines hydrosolubles : vitamine C (choux, légumes à feuilles, tomates), provitamine A ou bêta-carotène (partie colorée des plantes : légumes à feuilles vertes, carottes) et vitamines du groupe B (Favier et al., 1995).

Les fibres des plantes se composent surtout de cellulose, d'hémicellulose et de matières pectiques. La pomme de terre se distingue par un apport plus important en amidon (20%) et une teneur en vitamine C assez faible surtout après quelques mois de conservation (Favier et al., 1995).

1.5. Céréales et dérivés - Légumineuses

Les céréales, les fruits des graminées cultivées de la famille des monocotylédones Gramineae, sont probablement les cultures agricoles les plus importantes au monde. Les huit principales cultures céréalières sont : le blé, le riz, le maïs, l'orge, le sorgho, le millet, l'avoine et le seigle.

Les graines de céréales contiennent 10 à 15% d'eau, 70 à 76% de glucide en particulier en forme d'amidon, de 8 à 12% de protéine (14% blé dur). La teneur en lipides est faible, de 2 à 4% (présent dans le germe). Les céréales et farines complètes apportent en plus des fibres. Les céréales et leurs dérivés sont pauvres en calcium mais beaucoup de phosphore sous forme d'acide phytique dans les produits à base de farines complètes. Absence de vitamine A, C, et D et des teneurs plus élevées en vitamine B (B2 ou riboflavine et assez riche en B1 ou Thiamine) (Dupin et al., 1992 ; Favier et al., 1995).

Pour les légumineuses cette catégorie comprend les légumes secs (lentilles, haricots, pois, pois chiches, etc.), le soja et l'arachide.

- Les légumes secs : Ces aliments sont riches en protéines (24%), éléments minéraux (phosphore, fer 85% à 90%) et vitamines du groupe B. Ils sont riches en fibres (12 à 25% du poids sec) ce qui rend leur digestibilité parfois difficile et 45% des lipides.
- Le soja et l'arachide : Ces aliments sont comparables aux légumes secs du point de vue de leur teneur en protéines, vitamines et minéraux. Ils apportent en plus 18% des lipides (Favier et al., 1995; Martin, 2001).

1.6. Sucres et produits sucrés

Ils regroupent tous les aliments ayant un goût sucré prononcé : chocolat, miel, confiture, viennoiserie, pâte à tartiner... cependant ces aliments apportent également des matières grasses dites « cachées ».

L'apport nutritionnel de ce groupe est essentiellement les glucides (saccharose, glucose ou fructose) et aucun autre élément nutritif sauf dans le chocolat. La dénomination de sucre est réservée aux mono et disaccharides à l'exclusion des polyols, d'après la réglementation nationale et communautaire relative à l'étiquetage et à la présentation des denrées alimentaires.

- Les confiseries : c'est une préparation alimentaire dans laquelle le sucre constitue l'élément dominant à l'exclusion des confitures, gelées et marmelades.
- Le miel : le miel est constitué de 3 à 6% de saccharose, 35% de glucose et 35% de fructose. Les vitamines et les minéraux sont présents à l'état de traces.
- Le chocolat : il est obtenu par le mélange de sucre et de pâte de cacao. Le chocolat apporte en moyenne 50 à 65% de saccharose, 20 à 30% de lipides (beurre de cacao essentiellement), 6% de protéines, des minéraux et un peu de vitamines (Dupin et al., 1992 ; Martin, 2001).

1.7. Eau et boissons

1.7.1. Eau

Il s'agit des eaux pouvant être destinées à la boisson. Elles sont classées selon la législation en 4 catégories :

- **Les eaux de distribution (eaux potables) :** Elles proviennent du captage d'eaux superficielles ou de celui de nappes ou de sources souterraines ; ces eaux subissent plusieurs traitements épurateurs.
- **Eaux embouteillées :** Proviennent de nappes souterraines naturellement bien protégées et mises à l'abri de toute souillure. Ces eaux ne subissent pas de traitements désinfectants, et sont mises en bouteilles dans des conditions d'hygiène bien précises.
- **Les eaux de source :** doivent avoir une origine déterminée et être commercialisée telles qu'elles sortent du sol sans avoir subi de traitement.
- **Les eaux minérales :** L'eau minérale naturelle est une eau exclusivement d'origine souterraine, captée soit à une source, soit par forage. Elle est utilisée pour l'embouteillage et/ou le thermalisme. Pure, protégée géologiquement et présentant une composition minérale parfaitement stable, elle ne fait l'objet d'aucun traitement chimique ni désinfection avant son embouteillage ou son utilisation thermique (Gueroui, 2018).

1.7.2. Boissons sucrées

Les boissons sucrées sont des limonades, sodas, sirops, coca cola, boissons aux fruits.

- Les boissons aux fruits composées d'eau, de sucre et de 12% seulement d'extraits de fruits ne doivent pas être confondues avec les jus de fruits. Un litre de ces boissons apporte 90 à 120g de sucres.
- Le thé, le café : Ces boissons sont très utilisées pour leurs qualités stimulantes (caféine, théine). Elles ne contiennent aucun élément nutritif assimilable.
- Les jus de fruits : Les jus de fruits contiennent les éléments nutritifs des fruits dont ils sont issus : minéraux, vitamines et sucres. La teneur en sucres d'un jus de fruit est variable : le jus de raisin contient environ 200g de sucres/litre, le jus d'orange 90 à 100g/litre (Martin, 2001).

Chapitre II

Les microorganismes intéressants la microbiologie alimentaire

1. Les intoxications alimentaires

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

Dans les pays en voie de développement les intoxications alimentaires sont favorisées par :

- Le climat chaud de la plupart d'entre eux.
- Le manque de développement des services d'hygiène qui rend tout contrôle impossible.
- La pénurie de vivre qui fait accepter par le consommateur les vivres altérés (Ait Abdelouahab, 2001).

Le pouvoir pathogène des bactéries peut dépendre de plusieurs facteurs et on distingue :

- **Infection** : Des espèces à pouvoir infectieux qui agissent par envahissement de l'hôte, les plus fréquemment rencontrées résultent de l'ingestion des microorganismes appartenant aux genres *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria*, *Brucella*, *Mycobacterium*, *Escherichia*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *Yersinia*, *Vibrio* et de l'ingestion de virus. Ces microorganismes se comportent vis-à-vis de l'organisme comme des parasites et se multiplient en utilisant des composants de l'organisme comme nutriments (Cuq, 2007).
- **Intoxication** : Des espèces à pouvoir toxigène qui libèrent des toxines spécifiques *in vivo* (diphtérie, tétanos) ou dans l'aliment et tous les symptômes sont dus à la toxine sans qu'il y ait besoin d'un développement de l'agent pathogène dans l'organisme comme la toxine botulinique (*Clostridium botulinum*), entérotoxine staphylococcique (*S. aureus*), mycotoxines chez les moisissures (Cuq, 2007).
- **Toxi-infection alimentaire (TIA)** : Des espèces à caractères mixte qui peuvent provoquer des ou les endotoxines libérées après la lyse cellulaire comme réaction de défense et les exotoxines libérés lors de la multiplication de certaines bactéries, Exemples : *Vibrio cholerae* (Choléra), *Vibrio parahaemolyticus* (fruits de mer),

Salmonella typhimurium (Salmonellose), *Shigella sonnei* (Shigellose), *Campylobacter jejuni* (gastro-entérite) (volailles) (Meyer et al., 1984 ; Guiraud, 1998).

Une Toxi-infection alimentaire collective (TIAC) est définie par l'apparition d'au moins deux cas similaires d'une symptomatologie dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire.

➤ **Intoxications** : D'autres espèces qui agissent par la transformation du substrat qu'elles rendent toxique, produisant ainsi des intoxications. C'est généralement dû à une contamination par manque d'hygiène suivie d'un séjour prolongé à une température ambiante par exemple le cas d'intoxication histaminique par *Pseudomonas*, *Clostridium perfringens*, *Proteus morganii*, *Klebsiella pneumoniae* et même *Escherichia coli*. (Ait Abdelouahab, 2001).

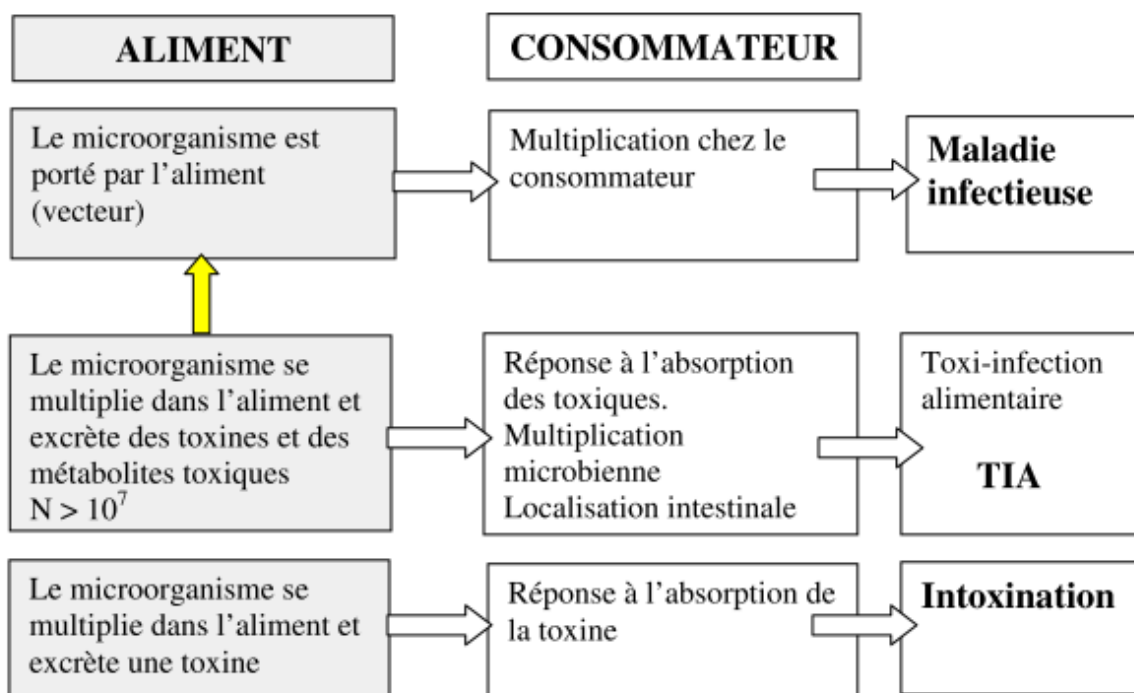


Figure 2. Modalités du pouvoir toxique (Cuq, 2007)

2. Les principaux microorganismes intervenants dans la microbiologie alimentaire

Les microorganismes contaminent de nombreux produits alimentaires et peuvent constituer un grave danger pour leurs qualités et leur conservation. Plusieurs espèces présentent un danger au point de vue sanitaire, alors que d'autres sont des agents de

fermentations très utiles et interviennent dans de nombreuses industries (Guiraud, 1998).

Les microorganismes intéressants la microbiologie alimentaire sont des hétérotrophes. Certaines espèces sont des saprophytes, vivant librement dans la nature ; d'autres sont des commensales de l'homme et des animaux ; d'autres enfin sont des parasites et possèdent un pouvoir pathogène.

2.1. Les ferments lactiques

2.1.1. Définition

Les bactéries lactiques ('ferments' lactiques ou 'levains' ou encore 'starters') occupent une place importante dans l'alimentation. Il s'agit de souches de bactéries non pathogènes ou non toxigènes qui sont responsables de la fermentation des produits alimentaires, qu'ils soient d'origine carnée (saucissons), laitier (yaourt, fromages) et ou végétale (choucroute) (Guiraud, 1998 ; Garry et Guern, 1999).

2.1.2. Caractères généraux

Les bactéries lactiques sont des cocci ou des bâtonnets Gram+, catalase-. Elles synthétisent l'acide lactique grâce à la fermentation lactique des glucides. non-sporulantes, immobiles, aéro-anaérobie facultatives ou micro-aérophiles, à métabolisme fermentaire strict, acido-tolérantes et capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C et à des pH allant de 4.0 à 4.5 (Madigan et Martinko, 2007). Elles sont dépourvues de cytochrome, ne participent pas à la phosphorylation oxydative et par conséquent tirent leur énergie uniquement par la phosphorylation des substrats énergétique. L'absence de catalase est caractéristique, mais certaines espèces acquièrent une pseudo catalase. Leur capacité de biosynthèse est très limitée et leurs exigences nutritionnelles complexes (auxotrophes) nécessitent des besoins en acides aminés, en vitamines, en purines et pyrimidines (Bourgeois et al., 1996 ; Luquet, 1990 ; Guiraud, 1998 ; Garry et Guern, 1999 ; Prescott et al., 2010).

2.1.3. Voies métaboliques

Selon l'espèce bactérienne et les conditions de culture, le catabolisme du glucose peut suivre une voie homofermentaire ou une voie hétérofermentaire.

- **Homofermentaire** (voie des hexoses-diphosphates encore appelée la glycolyse d'Embden Meyerhof Parnas) : l'acide lactique est le principal produit du métabolisme, très

majoritaire, excrété à partir du substrat glucidique. $1\text{Glucose} \rightarrow 2\text{acide lactique} + 2\text{ATP}$.

- **Hétérofermentaire** (voie des pentoses-phosphates encore appelée voie 6P-gluconate) : conduisant à l'acide lactique en mélange avec d'autres produits d'excrétion : CO_2 , éthanol ou l'acide acétique ainsi que de l'acide lactate selon les souches considérées (Leveau et al., 1991). $1\text{Glucose} \rightarrow 1\text{Acide lactique} + 1\text{éthanol (acétate)} + 1\text{CO}_2 + 1\text{ATP}$.

La voie hétérofermentaire qui permet d'en libérer deux ; de plus, du fait de la décarboxylation du 6-phosphogluconate par les bactéries hétérofermentaire, celles produisent du gaz carbonique ; au contraire, les bactéries homofermentaires n'en produisent pas, ou très peu. Par conséquent, une méthode simple pour détecter les bactéries hétérofermentaires et de mettre en évidence, en laboratoire, la production de gaz carbonique (Mensah et al., 1990 ; Kimmons et al., 1999).

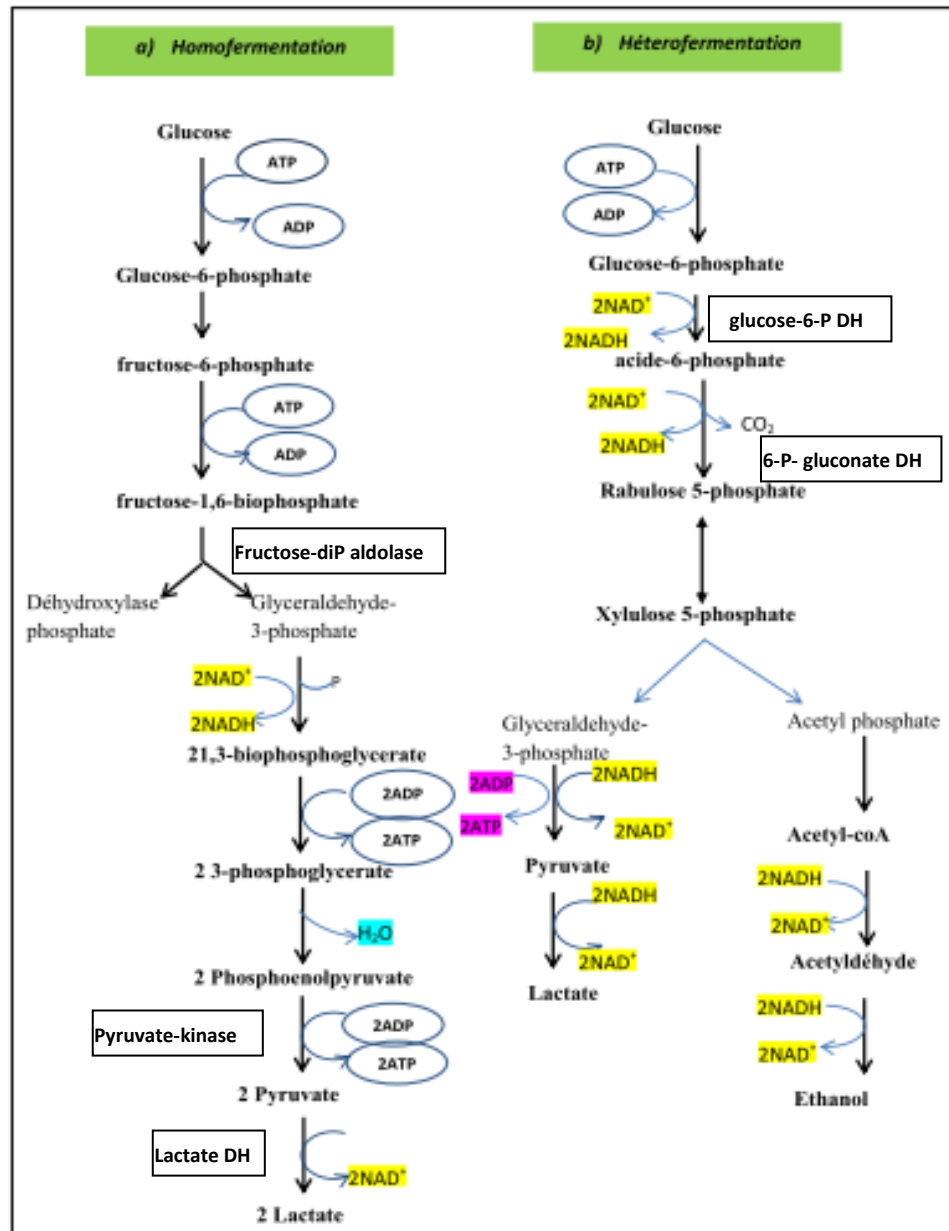


Figure 3. Types de fermentation lactique, homo-fermentation des bactéries lactiques (a) et hétéro-fermentation (b) (Prescotte et al., 2010).

Il y a une nouvelle division des bactéries lactiques en trois groupes sur la base de leur équipement enzymatique :

- **Les homofermentaires stricts** qui contiennent une fructose-diP aldolase mais pas de glucose-6-P DH ni de 6-P-gluconate DH et suivent la voie des hexoses-diphosphates, exemple : *Lb. delbrueckii* (Figure 2).
- **Les hétérofermentaires stricts** qui contiennent les 2 déshydrogénases mais pas de fructose-diP aldolase et suivent la voie des pentoses phosphates, exemple : *Lb. brevis* (Figure 2).

- **Les hétérofermentaires facultatifs** qui contiennent les 3 enzymes et sont capables de suivre l'une ou l'autre des voies métaboliques, exemple : *Lb. casei* (Figure 2) (De Roissart, 1994).

2.1.4. Classification et taxonomique

Le groupe des bactéries lactiques inclut les agents de fermentations produisant de l'acide lactique : bacilles (*Lactobacillaceae*) et coques (*Streptococcaceae*).

Les espèces bactériennes du groupe lactique répondant à ces propriétés générales appartiennent aux genres (*Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*).

Les espèces appartenant aux genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* ont des pourcentages en bases (% G+C) de leur ADN très proches. De plus, les variations entre souches sont également très faibles (Prescott et al., 2010).

2.1.4.1. *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Enterococcus*

Les genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* ont été anciennement regroupés en un genre unique *Streptococcus*.

Les genres *Streptococcus* et *Lactococcus* n'ont été séparés qu'en 1985 avec l'apparition du genre *Lactococcus* (Schleifer et Ludwig, 1995) et sont phylogénétiquement proches. *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris* sont des bactéries très utilisées en fermentation fromagère. Le premier génome de bactéries lactiques disponible a été celui d'une souche de *Lactococcus lactis ssp. lactis* en 2001 (Bolotin et al., 2001). Dans le genre *Streptococcus*, la seule espèce utilisée comme ferment dans l'industrie alimentaire est *Streptococcus thermophilus*, notamment pour la production de yaourt avec *Lactobacillus bulgaricus*.

Pour le genre *Enterococcus*, les germes les plus rencontrés en alimentation sont essentiellement *S. faecalis*, *S. durans* et *S. bovis*. Ce sont des germes test de contamination fécale, ce sont des pathogènes opportunistes avec des doses infectantes fortes (10^8 à 10^{10} cellules).

2.1.4.2. *Oenococcus*, *Leuconostoc* et *Weissella*

Le groupe qui comporte les genres *Oenococcus*, *Leuconostoc* et *Weissella* (Famille

des *Leuconostocaceae*). Dans ce groupe, on retrouve des bactéries très utilisées dans l'industrie agroalimentaire comme *Oenococcus oeni* (anciennement *Leuconostoc oenos*), bactérie importante dans la production de vin pour la fermentation malolactique ou *Leuconostoc citreum* utilisée pour la fermentation de certains légumes et *L. mesenteroides ssp. mesenteroides* utilisée dans la production de choucroute et de dextrane.

2.1.4.3. *Pediococcus*

Actuellement le genre *Pediococcus* comprend 11 espèces (Zhang et Cai, 2014). Avec la transposition de *P. urinae-equi* au genre *Aerococcus* et de *P. halophilus* au genre *Tetragenococcus*, les *Pediococcus* peuvent être décrits comme les seules coques lactiques acidophiles et homofermentaires. Ces dernières sont importantes dans l'agroalimentaire tant sous l'aspect négatif que positif. Les *P. damnosus* sont les microorganismes majeurs de l'altération de la bière à cause de la formation des diacétyl/acétoïne qui créent le goût du beurre. Les *P. acidilactici* et *P. pentosaceus* ont démontré leur utilité dans l'élaboration de plusieurs produits carnés fermentés naturels. Les pédiocoques sont également des bactéries lactiques autochtones qui permettent la maturation des fromages (Thu, 2008).

2.1.4.4. *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* est le genre principal de la famille des Lactobacillaceae. Il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrés comme contaminants.

Il se trouvent sur la végétation, dans la microflore naturelle de l'homme et dans divers produits alimentaires fermentés. Le pourcentage de G+C est d'environ 32 à 53. Habituellement catalase- (certains ont une pseudocatalase). Certains sont homofermentaire obligés (*Lactobacillus delbrueckii*), d'autres sont hétérofermentaires (*Lb. brevis*) et d'autres sont hétérofermentaires facultatifs (*Lb. casei*) (Guiraud, 1998 ; Singleton, 1999).

Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé par Orla Jensen (1919) en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel :

- **Groupe I ou “*Thermobacterium*”**

Il comprend les lactobacilles homofermentaires stricts, la plupart étant thermophiles, qui se développent à 45 °C mais pas à 15 °C. Les espèces les plus fréquentes

dans l'alimentation (lait, yaourts, fromages par exemple) sont *L. helveticus*, *L. jugurti*, *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. leichamnii*, *L. delbrueckii*, *L. kefirifaciens*, *L. mali*.

- **Groupe II ou “Streptobacterium”**

Il regroupe les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs mésophiles qui se développent à 15 °C. Ces bactéries fermentent les pentoses par la voie hétérofermentaire et les hexoses par la voie homofermentaire. Il comporte les *L. casei* qui sont les lactobacilles prédominants du lait, les *L. plantarum* rencontrés dans la choucroute, les *L. curvatus*, *L. sake*, *L. acetotolerans*, *L. graminis*, *L. rhamnosus*,...présents dans diverses matrices alimentaires végétales et animales.

- **Groupe III ou “Betabacterium”**

Il comprend les lactobacilles hétérofermentaires stricts. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *L. fermentum*, *L. buchneri*, *L. brevis*, *L. fructivorans*, *L. hilgardii*, *L. sanfrancisco* (Thu, 2008).

2.1.4.5. Bifidobacterium

Les *Bifidobacterium* (l'ancien nom étant *Lactobacillus bifidus*) sont des bacilles présents dans la flore intestinale des nouveaux-nés. Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme appartenant aux bactéries lactiques mais il est phylogénétiquement sans rapport avec ces derniers (Patrignani et al., 2006). Ils appartiennent au groupe des bactéries bâtonnets Gram positif riches en G+C (57,2-64,5 %), phylogéniquement sont proches des actinomycètes alors que les autres bactéries lactiques sont proches des clostridies. (Holzapfel et al., 2001 ; Thu, 2008). Chez l'homme, les *Bifidobacterium* sont des commensaux de la bouche, de l'œsophage, de l'estomac, de l'intestin, des branches et du vagin. Chez l'animal, ils sont surtout mis en évidence dans la flore intestinale. La présence d' α -galactosidase différencie rapidement les *Bifidobacterium* des *Lactobacillus*. La température optimale de croissance ne dépasse pas 39 °C pour les espèces d'origine humaine, alors que les espèces d'origine animale préfèrent 43-45°C. *Bifidobacterium bifidus* meurt à 60 °C. La croissance des *Bifidobacterium* n'est pas possible à pH 4,5-5 et pH 8-8,5. Ces bactéries sont glucidolytiques et donnent de l'acide acétique et lactique; elles produisent de petites quantités d'acide formique, d'éthanol et d'acide succinique (Bourgeois et al.,

1996). Les *Bifidobacterium* ainsi que les espèces de *Lactobacillus* peuvent avoir une fonction préventive contre la colonisation par les entéropathogènes. *Bifidobacterium* est utilisé dans certains yaourts «probiotiques». Sa présence entraînerait un effet anti-infectieux au niveau intestinal à cause de la présence d'un facteur bifidogène (Guiraud, 1998). Une application intéressante de ces bactéries est leur utilisation comme agent de bio-contrôle dans la fermentation de la viande. L'incorporation des *Bifidobacterium* dans le salami hongrois a été utilisée pour inhiber la croissance des *Listeria monocytogenes* et d'*E. coli* O111 (Thu, 2008).

Le tableau 1 comporte les principales espèces de bactéries lactiques avec ces caractéristiques.

Tableau 1. Principaux espèces de bactéries lactiques (Federighi, 2005).

Genres	Morphologie	Type de fermentation	Espèces	Température de croissance
<i>Streptococcus</i>	Cocci en tétrades	Homo-fermentaire	<i>S. thermophilus</i>	40-45°C
<i>Lactococcus</i>			<i>L. lactis</i> , <i>L. cremoris</i>	10- 40°C
<i>Leuconostoc</i>			<i>Ln. Mesenteroides</i>	10- 30°C
<i>Pediococcus</i>			<i>P. acidilactici</i>	25-35°C
<i>Lactobacillus</i>	Bâtonnet en chaînette	Homo/ héreto-fermentaire	<i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. bulgaricus</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> , <i>Lb. lactis</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. plantarum</i>	45-50°C

2.1.5. Rôle des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire, en tant que starters dans les procédés industriels de fermentations afin de répondre aux exigences de croissances des consommateurs en produits alimentaires.

- **Rôle sur la structure, la texture et les caractéristiques organoleptiques**

- La fermentation lactique est utilisée pour la fabrication de plusieurs produits fermentés (fromages, yaourts, de nombreux produits végétaux fermentés et la charcuterie) en y développant certaines caractéristiques organoleptiques, sans altérer le goût ni l'odeur, et en augmentant leur durée de conservation. Leur apports bénéfiques consistent à l'améliorer la qualité des produits fermentés.

- L'action des bactéries lactiques au cours de la fermentation a été associée tout d'abord à l'élaboration de l'arôme et de la texture du produit final mais aussi au maintien d'une bonne sécurité alimentaire grâce aux acides organiques produits sont souvent rapportées.
- Pour les laits fermentés, l'acidification provoque la coagulation du lait (en facilitant l'action de la présure) et l'augmentation de la formation du caillé. Selon les produits, la texture recherchées est ferme (yaourt ferme) ou onctueuse (yaourt brassé ; kéfir). (Satura et Federighi, 1998).
- La production en dehors de l'acide lactique, d'autres produits tels que l'acétone, le diacétyl et l'acétaldéhyde ou l'éthanol sont responsables des saveurs caractéristiques (Boudjemaa, 2016).
- Une lipolyse qui hydrolyse les acides gras libres avec formation d'acides cétoniques et de méthyle cétone, une protéolyse donnant : des peptides, des acides aminés jusqu'à l'ammoniac; cette succession d'opérations enzymatiques contribue à l'affinage des fromages (De Roissart, 1994 ; Bourgeois et al., 1996).
- La viscosité du lait peut être modifiée par les capsules mucilagineuses de quelques bactéries telles que *Leuconostoc spp.*
- Dans la technologie des fromages à pâtes persillées, notamment le Roquefort, le CO₂ produit est à l'origine de la formation des cavités dans le caillé, qui seront ensuite peuplées par *Penicillium roqueforti* (Bourel et al, 2001).
- Le CO₂ produit donne aussi l'aspect légèrement effervescent et onctueux du beurre (Kihal, 1996).

- **Rôle dans la conservation**

- Production d'acide lactique : Les bactéries lactiques ont un rôle important dans l'inhibition des flores non lactiques.
- Production de plusieurs métabolites ayant une activité antimicrobienne tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutéline, le diacétyl et les bactériocines (Bazinet et Castaigne, 2011).
- Production de bactériocines : Certaines bactériocines peuvent éventuellement être utiles pour limiter les contaminations alimentaires par des pathogènes comme *Listeria monocytogenes* ou *Clostridium botulinum* (Ross et al., 2002).

- **Domaine de santé**

- Les propriétés probiotiques des bactéries lactiques et l'inhibition des bactéries pathogènes sont particulièrement importantes, sont utilisées aussi dans le traitement de certaines affections telle que les diarrhées et les allergies alimentaires, l'intolérance au lactose et l'hypercholestérolémie. Les bactéries les plus fréquemment utilisées comme probiotiques sont des *Lactobacillus* et des *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium lactis* dans le yaourt) (Boudjemaa, 2016).

- **Dans l'industrie alimentaire**

- ***Streptococcus***

- Fabrication des ensilages agricoles.
- Productions laitières et autres aliments fermentés (*Streptococcus thermophilus* dans le yaourt).

- ***Lactobacillus***

- Produits fermentés (*L. delbrueckii* sp).
- Yogourt (*L. bulgaricus*),
- La production de laits fermentés associées à des productions telles que les ensilages de végétaux destinés à l'alimentation animale (*L. acidophilus*), les choucroutes et les produits saumurés.
- Acidification et arômes des produits carnés : Saucisson et saucisses (*L. sakei*, *L. curvatus*, *L. plantarum*).
- Levains de panification (*L. plantarum*, *L. brevis*).
- Acidification et arômes dans la choucroute et légumes fermentés (*L. brevis*, *L. plantarum*)
- Les lactobacilles sont responsables de dernières étapes des fermentations lactiques.

- ***Pediococcus***

- Dégradation en brasserie (*P. cerevisia*) la bière est rendue visqueuse par accumulation de matériel polysaccharidique extracellulaire. Ils sont parfois utilisés comme levains lactiques pour les charcuteries.
- Acidification lactique acétique (*P. damnosus*).
- Acidification et arômes dans la choucroute et légumes fermentés (*P. pentosaceus*).

➤ ***Leuconostoc***

- Fermentation malolactique des vins (*L. oenos* = *Oenococcus oeni*). Fabrication de certains fromages (bleu) avec production de CO₂.
- Les ensilages (*L. mesenteroides*) et les végétaux fermentés, olives, choucroute, aussi cacao et café (Prescott et al., 2010).

2.2. Les entérobactéries

2.2.1. Caractères généraux du groupe

Les entérobactéries sont une famille très hétérogène pour ce qui est de leur pathogénie et de leur écologie. Les espèces qui composent cette famille sont en effet soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* sp) chez l'homme et autres animaux, soit encore saprophytes (*Serratia* sp, *Enterobacter* sp) dans le sol et les eaux. Ils sont très répandus dans la nature en raison de la contamination de l'environnement par les matières fécales animales et des eaux d'égouts. Ce sont des contaminants alimentaires très fréquents. Certains sont dangereux et peuvent être à l'origine d'intoxications (Singleton, 1999 ; Guiraud, 1998).

La famille des entérobactéries se définit par les caractères suivants :

- Bacilles à Gram négatif (2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large) et non sporulants,
- Mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles,
- Poussant sur milieux de culture ordinaires,
- Aérobie - anaérobies facultatifs,
- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz,
- Réduisant les nitrates en nitrites,
- Oxydase – et catalase+, à l'exception de quelques souches.

La présence d'entérobactéries, de coliformes ou de coliformes thermotolérants témoigne d'une mauvaise qualité hygiénique du produit fini ou en cours de fabrication : une contamination fécale, environnementale, une insuffisance des procédés de traitements, un défaut d'hygiène du matériel et de l'équipement utilisés, ou une contamination croisée d'une autre origine (végétale par exemple). Pour les produits prêts à consommer et conservés sous réfrigération, les entérobactéries peuvent également signifier une conservation

à des températures trop élevées ou pendant une durée trop longue.

2.2.2. Classification et identification

La distinction entre les genres se fait par l'étude des caractères biochimiques dont les plus importants sont : tests IMViC (Indole, Rouge de Méthyle, Voges-Proskauer, Inositol et Citrate), par le test de l'uréase et les tests de décarboxylases. Habituellement, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et certaines souches de *Citrobacter* fermentent le lactose, mais ce n'est pas le cas de *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus* ou *Yersinia*. Parmi les genres de cette famille nous citons encore *Enterobacter*, *Erwinia* et *Serratia* (Singleton, 1999).

Au sein de chaque genre, on individualise des espèces, par l'étude des caractères biochimiques ou antigéniques. Les entérobactéries possèdent toutes des antigènes de paroi « somatiques » ou antigènes O. Les entérobactéries mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle « flagellaires » ou antigènes H. Enfin, certains possèdent un antigène d'enveloppe ou antigène K.

2.2.3. Coliformes et *E. coli*

Parmi les Entérobactéries, bactéries Gram -, vivant notamment dans l'intestin des humains et des animaux, les bactéries coliformes se caractérisent par leur aptitude à fermenter plus ou moins rapidement le lactose. Les coliformes fécaux présentent en plus deux caractéristiques liées à leur habitat, l'aptitude à se multiplier à 44 °C et à le faire en présence de sels biliaires. Enfin *E. coli* ajoute généralement à ces propriétés celle de produire de l'indole sur eau peptonée (Gueroui, 2018).

En microbiologie alimentaire les coliformes sont une flore indicatrice de contamination fécale et de bons marqueurs de la qualité hygiénique générale d'un aliment (Sutra et al., 1998 ; Singleton, 1999). La sensibilité qu'apporte *E. coli* à la détection des pollutions fécales est bonne car ils très nombreux dans le contenu intestinal. Les *Klebsiella* présentent également une bonne spécificité ; en revanche les *Citrobacter* et *Enterobacter* en sont presque totalement dénués (Gueroui, 2018).

Certains sérotypes d'*E. coli* peuvent être pathogènes et provoquent des troubles digestifs spécifiques, possédant une ou plusieurs toxines (hémolysine, cytotoxine, et entérotoxine). On trouve les *E. coli* GEI responsables de Gastro-Entérite-Infantile (céphalée, fièvre, vomissement, diarrhée), certains biotypes sont rencontrés dans les

infections urinaires: ECUP (*E. coli* Uro-Pathogène). Des produits d'origine animale (viandes et certains produits laitiers), parfois l'eau, sont incriminés dans la contamination par *E. coli*. Les infections sont le plus souvent causées par la consommation de viande de boeuf contaminée et insuffisamment cuite, mais peuvent également être dues à la consommation d'eau, de lait cru, de fruits, légumes, etc. (Guiraud, 1998 ; Sutra et al., 1998).

2.2.4. Genre *Salmonella*

Les *Salmonella* sont des entérobactéries dont les caractères essentiels sont de ne pas fermenter le lactose et de ne pas produire d'uréase. Cultivant bien sur les milieux ordinaires, elles sont capables de fermenter le glucose, de réduire les nitrates en nitrites et dépourvues d'oxydase. Leur identification différentielle repose sur leur capacité à produire du sulfure d'hydrogène H₂S (il y a des exceptions), la possession d'une lysine-décarboxylase, l'absence de tryptophane-désaminase (Gueroui, 2018).

Les *Salmonella* sont des parasites de l'homme, des mammifères (rongeurs), des oiseaux (volailles) et des animaux à sang froid (reptiles). Elles sont responsables, après pénétration par voie orale, de nombreuses infections (salmonelloses), notamment des fièvres typhoïde et paratyphoïdes, des gastro-entérites et des toxi-infections alimentaires collectives. Le principal mode de contamination chez l'homme est l'ingestion à partir de l'eau (*S. typhi* surtout), des aliments (ex. produits laitiers, œufs, viande, volailles, poissons et autres mollusques marins) ou d'animaux familiers porteurs (tortues).

Les travaux taxonomiques les plus récents ont permis de reconnaître deux espèces dans le genre *Salmonella*. La première est *Salmonella enterica* qui se divise en six sous-espèces : *S. enterica subsp. enterica* (sous-espèce I), *S. enterica subsp. salamae* (sous-espèce II), *S. enterica subsp. arizonae* (sous-espèce IIIa), *S. enterica subsp. diarizonae* (sous-espèce IIIb), *S. enterica subsp. houtenae* (sous-espèce IV) et *S. enterica subsp. Indica* (sous-espèce V). La deuxième espèce est *Salmonella bongori*. L'identification des espèces et sous-espèces se fait sur la base de caractères biochimiques. Au sein de ces espèces et sous-espèces, les souches peuvent être différenciées par la sérotypie (antigènes somatiques O, antigènes flagellaires H et antigènes Vi capsulaire) définissant des sérovars ou sérotypes. La sous-espèce I représente plus de 99,5 % des souches isolées en pathologie, elle-même divisée en plusieurs sérovars (à ce jour 2541 sérovars). Quelques sérovars se sont adaptés aux hôtes et sont spécifiques d'espèce animale. Les plus importants sont les suivants :

Salmonella typhi chez les humains, *Salmonella dublin* chez les bovins, *Salmonella gallinarum* et *pullorum* chez les volailles, *Salmonella abortusequi* chez les chevaux, *Salmonella abortusovis* chez les moutons et *Salmonella arizona* chez les reptiles. *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* prédominent dans le domaine alimentaire, mais leur importance relative varie avec le temps et les régions (pays). Tous les sérotypes doivent donc être considérés comme potentiellement pathogènes (Bergeron, 2009 ; Aubry et Gaüzère, 2020).

Les salmonelloses recouvrent deux principaux types d'infections : d'une part, la fièvre typhoïde (*S. enteritica* sérovar *S. typhi*) et les fièvres paratyphoïdes (*S. paratyphi* A, B et C) au cours desquelles deux mécanismes d'invasion se superposent : un processus entéro-invasif et l'action de l'endotoxine (LPS), d'autre part les salmonelloses non typhiques ou non typhoïdiques (les bactéries le plus souvent en cause dans les toxi-infections d'origine alimentaire dues à *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*) et ces gastroentérites relèvent soit d'un processus entéro-invasif, soit d'un mécanisme endotoxinique (Pennec et Garré, 2003 ; Aubry et Gaüzère, 2020).

2.3. Les microcoques

2.3.1. Genre *Staphylococcus*

Les membres de ce genre sont des coques Gram+, souvent en amas. Certaines espèces contiennent des pigments caroténoïdes orange ou jaune. Non mobiles, anaérobies facultatifs, chimioorgano-hétérotrophes. Leurs sources de carbone incluent divers sucres, communément halotolérants et catalase+. Les staphylocoques sont répartis en souches coagulase+ et souches coagulase-. Parmi les premières, figurent *S. aureus* et *S. intermedius*; parmi les dernières, *S. epidermidis*. Ils sont commensaux et pathogènes chez l'homme et chez d'autres animaux. Le pourcentage de G+C est d'environ 30 à 39. Les milieux habituellement utilisées pour leur culture sont: le milieu Chapman et le milieu Baird-Parker (Catteau, 1996 ; Singleton, 1999).

S. aureus coagulase+ est pathogène, il produit des *entérotoxines thermostables* libérées dans l'aliment lors de la croissance, il s'agit d'une protéine (PM 26000 à 35000) qui agit sur les récepteurs intestinaux et gastriques (nerf pneumogastrique, hypothalamus). L'intoxication est caractérisée par une incubation de courte durée (1 à 6 heures en moyenne 3 heures), puis par des symptômes variés: nausée, vomissement, douleurs abdominales, diarrhée, céphalée,

chute de la tension artérielle, hypermobilité intestinale, quelque fois fièvre. La DMI (Dose Minimale Infectieuse) est de l'ordre de 10^5 à 10^6 germe/g, la quantité de toxine dangereuse pour l'homme est de 0,1 à 10 µg/Kg. Les aliments dangereux sont nombreux: viandes, plats cuisinés, produits à base de lait ou d'œufs, pâtisserie, crèmes glacées, etc. Les entérotoxines ne sont pas hydrolysables par les protéases digestives (pepsine, trypsine), très résistantes aux traitements thermiques, résistent à la pasteurisation (60°C/30 min), elles résistent jusqu'à 30 min/100°C. L'empoisonnement alimentaire se fait usuellement par l'aliment contaminé par des blessures infectées des mains, par la flore normale de la peau ou de l'appareil respiratoire des manipulateurs. Les aliments à haute concentration en sels et en sucres constituent un bon milieu de croissance pour *S. aureus* (Catteau, 1996 ; Guiraud, 1998).

2.4. Les bactéries sporulées

2.4.1. Les bactéries sporulées aérobies : Genre *Bacillus*

Ce sont des bâtonnets Gram+, habituellement mobiles à endospores, la morphologie de la spore est un critère important pour la classification. Aérobie ou anaérobie facultatif selon les espèces, catalase+. Leur métabolisme est respiratoire ou facultativement fermentatif. La plupart des espèces sont chimioorgano-hétérotrophes. Beaucoup peuvent croître sur la gélose nutritive. Se trouve comme saprophytes dans le sol et les eaux. Certaines espèces peuvent être pathogènes pour l'homme et d'autres animaux (y compris les insectes), le pourcentage de G+C est de 30 à 70. Ils contaminent de nombreux produits alimentaires et sont souvent protéolytiques. En raison de leur aptitude à la sporulation, ils résistent à des conditions défavorables et peuvent être des agents de dégradation des conserves alimentaires. *B. stearothermophilus*, *B. coagulans* et *B. cereus* sont des espèces fréquentes dans le sol, sur les végétaux, et en particulier les céréales, la peau des animaux. Elles sont souvent impliquées dans des toxi-infections (ufc 10^4 à 10^7 germe/g) (Catteau, 1996 ; Guiraud, 1998 ; Singleton, 1999).

B. cereus produit cinq toxines : l'hémolysine, la phospholipase C, la murine, la cytolyse, une toxine émétisante), les aliments incriminés sont les viandes, les plats cuisinés, le lait, les pâtisseries, certains produits végétaux.

2.4.2. Les bactéries sporulées anaérobies : Genre *Clostridium*

Ces bactéries appartiennent à la famille des *Bacillaceae*. Il s'agit de

bactéries communément rencontrées dans le sol, les eaux d'égout et l'intestin. Elles peuvent contaminer et dégrader les produits alimentaires dans des conditions anaérobies (conserves). Les *Clostridium* sont des bacilles Gram+, souvent de grande taille, isolés ou en chaînettes. La forme et la position de la spore est importante en taxinomie (la spore résiste plusieurs minutes à 100 °C), ils sont généralement immobiles. Catalase- et anaérobies strict, l'oxygène est létal pour ces espèces. Ils se multiplient facilement sur les milieux ordinaires. En anaérobiose ils sont protéolytiques ou saccharolytiques selon les espèces et fréquemment gazogènes. Ils contaminent de nombreux produits : L'eau, le lait, le poisson, les aliments fermentés ou congelés et surtout les conserves alimentaires. Ils dégradent les sucres et les protéines en libérant de l'acide butyrique ou de l'H₂S. Quelques espèces sont responsables d'intoxication ou gastroentérite (*Cl. perfringens*) ou de graves intoxications souvent mortelles (*Cl. botulinum*). Les *Clostridium* sont classés en fonction de leur métabolisme et de leur action sur les substrats, on distingue :

- Les ***Clostridium* saccharolytiques** sont gazogènes (CO₂+, H₂+, H₂S-), ils produisent souvent de l'acide butyrique, acidifient et coagulent le lait, ne liquéfient pas la gélatine, il s'agit d'espèces mésophiles : *Cl. butyricum*, *Cl. tyrobutyricum*.
- Les ***Clostridium* protéolytiques** ou putréfiants sont des agents très actifs de dégradation des protéines, peut fermentatifs et peut gazogènes (H₂S+), liquéfient la gélatine, digèrent la caséine du lait avec ou sans coagulation : *Cl. botulinum*, *Cl. putrefaciens*.
- Les ***Clostridium* à la fois protéolytiques et saccharolytiques** liquéfient la gélatine, mais possèdent également une intense activité fermentaire (H₂S+), ils sont souvent appelés des *Clostridium* «sulfitoréducteurs» (Guiraud, 1998 ; Singleton, 1999).

2.5. Les Vibrions

Le choléra se manifeste par des vomissements et une diarrhée abondante qui finit par devenir quasiment de l'eau. L'agent pathogène (certaines souches de *Vibrio cholerae*) se multiplie dans l'intestin et fabrique un type d'exotoxine: une entérotoxine (toxine cholérique) (Singleton, 1999 ; Ait Abdelouahab, 2001).

2.6. Les Brucelles

Brucella est un coccobacille à Gram négatif intracellulaire facultatif, de 0,5 à 0,7 µm de diamètre et 0,5 à 1,5 µm de longueur. Les cellules sont immobiles et ne forment ni flagelle

conventionnel, ni capsule, ni spore. Les bactéries du genre *Brucella* sont aérobies strictes, mais certaines souches nécessitent une atmosphère enrichie en CO₂ 5 à 10 % (certains biovar de *B. abortus* et *B. ovis*) pour leur croissance. Les bactéries du genre *Brucella* sont capables de produire la catalase, la cytochrome oxydase et la nitrite réductase. La plupart des espèces sont capables d'hydrolyser l'urée. Le pH optimal de croissance varie entre 6,6 à 7,4. La température optimale de croissance est de 37°C, la plupart des souches se développant entre 20 et 40°C sur milieu adéquat (Kooh et Lailler, 2006 ; Scholz et al. 2018).

Le genre *Brucella* comprend actuellement 12 espèces classées selon leur pouvoir pathogène et les hôtes préférentiels (réservoir) :

- Sept espèces pouvant être isolées de mammifères terrestres : *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. neotomae*, *B. microti*, dont les trois premières se subdivisent également en biovars.
- Les espèces découvertes plus récemment : *B. ceti*, *B. pinnipedialis* (sont également identifiées chez des mammifères marins), *B. Inopinata* (chez l'homme), *B. vulpis* et *B. papionis*.

Brucella est l'agent responsable de la brucellose (fièvre de Malte), maladie infectieuse et contagieuse chez l'animal, transmissible à l'homme et de répartition mondiale. Des cas de brucellose humaine ont été attribués à 4 des 7 espèces de *Brucella* rencontrées chez les mammifères terrestres. *B. melitensis* et *B. suis* (sauf le biovar 2) sont les espèces les plus virulentes suivies de *B. abortus* et *B. canis*. *Brucella ovis*, *B. neotomae* et *B. microti* ne sont pas rapportées comme pathogènes pour l'homme. Quelques cas probables d'infection humaine liés à une souche de *Brucella* de mammifère marin ont en revanche été décrits (Kooh et Lailler, 2006).

Les principaux réservoirs animaux des *Brucella* sont les bovins (*B. abortus*), les ovins et caprins (*B. melitensis*) et les porcins (*B. suis*) domestiques. Des souches de *Brucella* ont également été isolées dans d'autres espèces domestiques et dans de nombreuses espèces de ruminants et autres mammifères sauvages terrestres et des mammifères marins (Kooh et Lailler, 2006). *Brucella spp.* peut survivre plusieurs semaines voire quelques mois dans la poussière, l'eau, les tissus d'avortons, la viande et les produits laitiers (Corbel et al. 2006).

La brucellose est une zoonose. La contamination de l'homme peut se produire :

- Par consommation d'aliments contaminés (essentiellement lait et produits laitiers crus).

- Par contact de la peau (même apparemment saine) ou des muqueuses (digestives, conjonctivales et naso-pharyngées) avec des animaux infectés et leurs produits (Kooh et Lailler, 2006).

2.7. Les Actinobactéries

2.7.1. Définition et généralités

L'ancien nom des actinobactéries était actinomycètes. Le terme «actinomycètes» provient du Grec « aktino - mycètes » ou «champignons à rayons » ou encore « champignons rayonnants ». Les actinomycètes sont des bactéries à coloration Gram-positif. Ils se caractérisent par la formation d'hyphes filamenteux qui ne subissent généralement pas de fragmentation et qui produisent des spores asexuées. Leur développement donnait lieu à des colonies circulaires constituées de filaments qui irradient par croissance centrifuge tout autour du germe qui leur a donné naissance (Gottlieb, 1973).

Par leur morphologie générale, ils ressemblent fortement aux mycètes. Cette ressemblance résulte en partie d'une adaptation aux mêmes habitats. La plupart des espèces vivent dans le sol ou moins fréquemment dans les eaux douces. Un petit nombre est pathogène. Plusieurs produisent des antibiotiques.

Certains représentants de ces microorganismes, surtout les aérobies, ont longtemps été rejetés de l'ensemble des bactéries et confondus avec les champignons du fait de leur morphologie fongoïdes (filaments ramifiés, organes de sporulation etc.) et de l'allure mycosique des maladies qu'ils provoquent. Ce problème est résolu et ce groupe de microorganismes est définitivement classé parmi les bactéries (procaryote) et ont un pourcentage de guanine-cytosine (G+C%) supérieur à 55% (Harir, 2018).

Les principales différences entre les champignons et les actinomycètes peuvent être résumées dans les points suivants :

- Leurs parois qui ne renferment ni cellulose ni chitine, se retrouvent respectivement chez les plantes et les champignons.
- La morphogenèse peut-être complexe (corémie, zonation).
- Le diamètre de leurs mycéliums est approximativement le un dixième de celui de la plupart des hyphes fongiques (généralement 0,7 à 0,8 μm),
- Leurs sensibilités aux attaques des bactériophages et lysozymes.

- Leurs sensibilités aux antibiotiques antibactériens.

Les propriétés bactériennes des actinomycètes sont les suivantes : la cytologie est procaryotique, physiologiquement, elles sont en général, des bactéries aérobies (sol surtout) mais certaines formes sont aérobies facultatives ou même anaérobies. Elles sont sensibles aux phages et aux antibiotiques antibactériens (Lechevalier, 1988). Ils ont une croissance lente par rapport aux autres bactéries, le temps de génération moyen est environ de 2 à 3 heures. La morphologie des différents groupes d'actinomycètes est très variable, elle va de forme peu évoluées comme *Mycobacterium*, à des formes très évoluées comme le genre *Streptomyces* qui forme un véritable mycélium non fragmenté et sporulant.

Les actinomycètes sont généralement mésophiles, d'autres sont thermophiles tolérant des températures avoisinant 50°C et peuvent aller jusqu'à 60°C ou plus, ils préfèrent un pH neutre ou peu alcalin avec un taux d'humidité faible à modérés (Prescott et al., 2010).

2.7.2. Classification

Les actinobactéries sont classées dans le Domaine des *Bacteria* ou *Eubacteria*, le Phylum des *Actinobacteria*, la Classe des *Actinobacteria* et la Sous-Classe des *Actinobacteridae*. Le phylum des actinobactéries comprend maintenant cinq classes, 21 ordres et de nombreuses familles. Les genres sont caractérisés par une diversité morphologique importante, allant de la simple cocci (ex: *Micrococcus*) à des formes mycéliennes qui peuvent être fragmentées ou non. Ainsi, la position taxonomique des actinobactéries, en prenant comme exemple l'espèce *Actinopolyspora algeriensis* décrite par Meklat et al., (2012), s'établit comme suit:

- Classe : *Actinobacteria*
- Ordre: *Pseudonocardiales*
- Sous-Ordre: *Actinopolysporineae*
- Famille: *Actinopolysporaceae*
- Genre: *Actinopolyspora*
- Espèce: *Actinopolyspora algeriensis*

Le genre *Streptomyces* est celui qui prédomine généralement dans les sols et divers autres substrats. Ils représentent 80 à 95% du total des actinomycètes, suivie par *Nocardia* et

Micromonospora. Les autres genres ne constituent qu'une fraction minime et sont parfois peu fréquents ou même assez rares.

2.7.3. Importance et application des actinobactéries

Les actinobactéries possèdent une fonction écologique au sein des écosystèmes qui est la décomposition des substances organiques. Ils représentent une grande proportion de la biomasse microbienne du sol. Ils ont la capacité de produire une large variété de molécules bioactifs entre autre les antibiotiques et des enzymes extracellulaires.

En biotechnologie microbienne, les actinobactéries jouent un rôle primordial dans les domaines, agronomique, alimentaire et environnemental (Nouioui, 2014), ainsi que le domaine pharmacologique. La recherche de nouveaux actinomycètes constitue une composante essentielle à la découverte de médicaments à base de produits naturels et à large spectre d'activité biologique, tels que les antibiotiques antibactériens et antifongiques (les aminoglycosides, les anthracyclines, les glycopeptides, les bêta-lactamines, les tétracyclines, les macrolides, les nucléosides,...etc) plus précisément par le genre *Streptomyces*, ainsi les vitamines (B₁₂ par exemple), les substances toxiques, cytotoxiques, neurotoxiques, antimitotiques, antivirales et anticancéreuses (Williams, 2009). Récemment, de nouveaux objectifs ont été ajoutés au dépistage général : la recherche de nouvelles molécules actives contre le sida, l'immunosuppression, la maladie d'Alzheimer, le processus de vieillissement et certaines maladies tropicales ; ces objectifs visent à la découverte de nouveaux médicaments (Parthasarathi et al., 2011). Parmi les antibiotiques synthétisés par les actinobactéries : la streptomycine (*Streptomyces* ou *Actinomyces griseus*), chloromycétine (*S. venezuelae*), chlortétracycline (*S. aureofaciens*), terramycine (*S. rimosus*), oxytétracycline (*S. rimosus*), érythromycine (*S. erythraeus*), chloramphénicol (*S. venezuelae*), rifamycine (*S. mediterranei*), vancomycine (*S. orientalis*), daunomycine (*S. coerulescens*) et l'acide clavulonique (*S. clavuligerus*) (Bycroft, 1988 ; Chater, 2006).

2.8. Bactéries psychrotrophes

Les bactéries psychrotrophes constituent les espèces bactériennes capables de croître à 4 °C et moins, mais de multiplier très rapidement à 10 à 25 °C et même à des températures plus élevées. Les bactéries psychrotrophes (il existe aussi de nombreuses levures et des moisissures psychrotrophes) peuvent causer une altération des aliments.

Si les aliments sont stockés dans des conditions aérobies, les psychrotrophes aérobies sont les bactéries prédominantes. Parmi ces bactéries on trouve : *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi* et autres espèces du genre *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella* et *Flavobacterium*.

Dans les aliments stockés dans des conditions anaérobies, des bactéries anaérobies et anaérobies facultatives prédominent. Parmi ces bactéries on trouve : *Brochothrix thermosphacta*, *Lactobacillus viridescens*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus*, *Leuconostoc carnosum*, *Leuconostoc gelidum*, *Leuconostoc mesenteroides*, certaines *Enterococcus*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Serratia liquifaciens*, certaines *Hafnia* et *Proteus* et *Shewanella putrefaciens* (précédemment *Alteromonas*).

2.8.1. Genre *Pseudomonas*

Le genre bactérien *Pseudomonas* comprend un groupe Bacilles à Gram négatif, aérobies, mobiles par une ciliature polaire (monotriche – pérititriche), rarement immobiles et non sporulés. Ce sont oxydase +, caractérisés par la pluralité des substrats hydrocarbonés utilisés comme source de carbone et d'énergie. De nombreuses espèces de *Pseudomonas* ne cultivent pas à 37°C alors que la température de 30°C convient à tous, pathogènes et saprophytes. Ces bactéries ont une longévité faible en culture même à 4°C. Elles sont ubiquitaires très répandues dans la nature, caractérisées par leur résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques.

➤ Classification

La famille des Pseudomonadaceae regroupe actuellement 5 genres : *Pseudomonas*, *Comamonas*, *Frateuria*, *Xanthomonas* et *Zoogloea*. Deux cent soixante-cinq espèces étaient répertoriées, mais l'édition 1974 du Manual Bergey retenait 29 espèces dont 13 d'intérêt médical. Dans la 3ème édition de ce manuel de Bactériologie Systématique, plus de 40 espèces ont été répertoriées. Un certain nombre d'études génétiques ont été réalisées et ont permis de diviser le genre *Pseudomonas* en 5 groupes d'affinité génétique différents d'après les hybridations ADN-rARN et ADN-ADN :

- Groupe génomique I : groupe *fluorescens* + groupe *stutzeri* + groupe *alcaligenes*
- Groupe génomique II : groupe *pseudomallei* + *cepacia*
- Groupe génomique III : groupe *acidovorans*

- Groupe génomique IV : groupe *diminuta-vesicularis*
- Groupe génomique V : groupe *maltophilia* (*Xanthomonas*)

➤ **Pigments élaborés par les *Pseudomonas***

Les deux pigments les plus fréquents et caractéristiques sont la pyocyanine (Pigment bleu) et la pyoverdine (Pigment jaune-vert fluorescent), sont solubles dans les milieux de culture, et peuvent les colorer. Les espèces pigmentées sont par exemple :

- *P. aeruginosa* : pyocyanine + pyoverdine, il possède l'un ou l'autre ou les deux, mais pouvant être perdus par mutation. Il existe des variétés mélanogènes ou érythrogènes produisant un pigment noir ou un pigment rouge.
- *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. syringae*, et *P. cichorii* produisent de la pyoverdine mais certaines souches sont parfois apigmentées.
- *P. aureofaciens* : pigment jaune orange ou pourpre.

2.9. Les levures

2.9.1. Caractères généraux et taxonomie

Les levures sont des eucaryotes hétérotrophes faisant partie du groupe des champignons dont on les distingue pour leurs caractères unicellulaires et l'absence d'un vrai mycélium (au moins dans la plus grande partie de leur cycle biologique) (Guiraud, 1998). La cellule ou thalle a une taille très variable selon les espèces : de 1 à 10 µm de large pour 2-3 ou 20-50 µm de longueur. Les termes de sphérique, globuleux, ovoïde, allongé, cylindrique sont souvent employés pour décrire les formes végétatives des levures. La cellule est limitée par une paroi rigide représente près de 20% de son poids sec avec une membrane cytoplasmique et un très petit noyau. Elles sont haploïdes ou diploïdes ; la température optimale de croissance est entre 20 et 28 °C avec un maximum entre 35 et 47 °C. Les levures se multiplient bien dans un milieu acide : pH = 4 à 4,5 avec un pH optimal de 4,5 à 6,5 et peuvent s'adapter à des pH plus extrêmes ou alcalins (Gueroui, 2018).

Les levures sont chimiotrophes, c'est à dire qu'elles sont capables de tirer leur énergie à partir des réactions chimiques d'oxydo-réduction ou de fermentation de composés chimique tels que les sucres. Les levures sont bien réparties dans la nature, on les rencontre

fréquemment dans les eaux, les sels, sur les feuilles de végétaux, les moûts de fruits..... etc.

La classification des levures est naturellement une partie intégrante de celle des champignons. Elle est fondée, au moins au départ, sur des caractères morphologiques. Les levures appartiennent à trois classes : *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* et *Deuteromycetes* (Fungi imperfecti) (Kurtzman et Fell, 2006 ; Suh et al., 2006).

Les *Ascomycetes* elles forment la famille de *Saccharomycetaceae* divisée en quatre sous familles :

- *Schizosaccharomycetoideae* où le genre *Schizosaccharomyces* est alcooligène rencontré dans les brasseries ;
- *Saccharomycetoideae*, cette sous famille regroupe de nombreuses espèces intéressant l'industrie alimentaire : *Saccharomyces* (Panification production vinicole), *Kluyveromyces* (production fromagère), *Zygosaccharomyces*, *Hansenula*, *Debaryomyces* et *Pichia* (altération) ;
- *Nadsonioideae* contient quelques espèces intéressantes appartenant au genre *Hanseniospora* ;
- *Lipomycetoideae* avec un intérêt moindre sauf quelques espèces du genre *Lipomyces*.

Les *Basidiomycetes*, cette classe comporte peu de levures d'intérêt industriel (trois familles : *Filobasidiaceae*, *Sirobasidiaceae*, *Tremellaceae*).

Les *Deuteromycetes* ou Fungi imperfecti, elles constituent la famille des *Cryptococcaceae* qui est divisée en quatre sous familles :

- *Cryptococcoideae*, cette sous famille contient des genres importants : *Brettanomyces*, *Candida*, *Torulopsis*, *Loeckera* dont les espèces sont des agents de fermentation, contaminants ou sources de protéines ;
- *Rhodotoruloideae* (*Rhodotorula*) sont pigmentés ;
- *Trichospororoideae* (*Trichosporon*), ce sont des contaminants fréquent ;
- *Sporobolomycetoideae*, quelques espèces appartenant au genre *Sporobolomyces* sont parfois des contaminants des aliments.

Selon leurs utilisations ils ont regroupés en sept catégories (Reed, 1981) :

- Levures de boulangerie et produits de panification

Sont des souches issues de *Saccharomyces cerevisiae* et continuellement améliorés

par hybridation somatique, fusion cellulaire et screenings divers (Larpent, 1990).

- Levures de brasserie et de bières

Il s'agit principalement du *Saccharomyces cerevisiae* ou du *Candida utilis*.

- Levures de vinification et vins

La levure retrouvée le plus couramment en vinification est *Saccharomyces cerevisiae* notamment d'autres souches peuvent être utilisés : *Saccharomyces ellipsoideus* et *Saccharomyces fragilis* (champagne), et d'autres genres, comme les *Kloeckera apiculata* et *Candida vini*, *Pichia*, *Brettanomyces*.

- Levures de distillerie

Les levures de distillerie d'alcool de céréales remplacent les levures de bière. Deux souches de *Saccharomyces cerevisiae* produisant de l'éthanol, l'une rapidement et l'autre lentement, aussi *Hansenula polymorpha* peut être utilisée.

- Levures des aliments

Fabrication de cidre (*S. apiculatus*) ; vinaigre (*Mycoderma aceti* « acétobacter » après une fermentation alcoolique par levures, cacao (*Candida krusei*, *Candida famata*, *Pichia membranefasciens*, ...etc) ; café (*Saccharomyces*) ; soja (*Zygosaccharomyces rouxii*).

- Produits dérivés des levures (autolysats, etc.)

Une fraction obtenue lors de la dégradation de la levure par plasmolyse, hydrolyse ou autolyse de la levure. Cette dégradation peut être plus ou moins poussée et permet d'obtenir différents types de dérivés de levure : levures inactivées, écorces de levure, autolysats de levure, mannoprotéines, extraits protéiques de levure...etc.

- Ethanol industriel et carburant

Le bioéthanol est un biocarburant produit, à partir de céréales (blé, maïs...) ou de betteraves à sucre, et destiné aux moteurs à essence. Le bioéthanol est obtenu par un procédé de fermentation industrielle permettant la transformation du sucre contenu dans ces végétaux en alcool. Cet alcool brut (éthanol) est ensuite distillé puis déshydraté pour obtenir du bioéthanol. Le bioéthanol est ensuite incorporé à l'essence par les pétroliers (Bourgeois et al., 1996).

Les levures des produits alimentaires n'étant pas pathogènes, elles ne causeront pas d'intoxication alimentaire mais peuvent produire par leur développement des altérations de la

qualité marchande de ces aliments . Enfin un petit nombre de levures pathogènes sont à signaler, tout spécialement *Candida albicans* responsable du muguet des jeunes enfants, des vaginites, etc. et *Cryptococcus neoformans* disséminé par les pigeons et qui peut provoquer des méningites fatales (Rambaud, 2004).

2.9.2. Rôle dans l'alimentation

Le rôle historique des levures dans le domaine de l'agroalimentaire ne s'est pas démenti et elles interviennent de nos jours dans la fabrication de nombreux produits alimentaires (brasserie, vinification, fromagerie, etc.). Elles participent aussi à la revalorisation des déchets agricoles et industriels et à la production de protéines, d'enzymes, de lipides, de vitamines et de biocarburants.

Actuellement, les levures sont largement utilisées dans les secteurs de la recherche biomédicale et des biotechnologies en raison de leur double état de microorganismes et d'eucaryotes. En effet, contrairement aux bactéries, les levures ont la capacité de produire des protéines glycosylées. Des levures, modifiées génétiquement, produisent l'antigène de surface du virus de l'hépatite B utilisé dans le vaccin anti-hépatite. D'autres produisent le sérum albumine humaine, des hormones, des facteurs de croissance et d'autres protéines thérapeutiques (Walker, 2009 ; Reski-Bekki, 2014).

3.9.3. Utilisation industrielle des levures

- Boissons alcoolisées : Vin, bière, cidre, saké, etc.
- Protéines recombinantes : Hormones (l'insuline), vaccins antiviraux (le vaccin contre l'hépatite B), facteurs de croissance (facteur de nécrose tumorale), protéines sanguines (sérum albumine bovine), interférons (interférons leucocytaires) anticorps (récepteurs aux IgE), enzymes (lipase gastrique et chymosine).
- Alcools industriels : Cosmétique, industrie chimique, industrie pharmaceutique, bioéthanol, glycérol.
- Enzymes : Alpha-amylase, glucoamylase, protéase, invertase, pectinase, lipase, inulinase.
- Biomasse.
- Levure de boulangerie, levure-aliment, extrait de levure, pigments alimentaires.
- Vitamines.

2.10. Les moisissures

2.10.1. Caractères généraux et taxonomie

Les moisissures sont des champignons microscopiques ; comme les levures, elles mènent une vie saprophytique, se développant aux dépens de substrats inertes ou en voie de décomposition, mais elles se distinguent des levures par leur appareil végétatif constitué de filaments mycéliens. Ils sont non photosynthétiques et immobiles. Leur corps ou thalle est composé de deux parties : le mycélium (ensemble de plusieurs filaments appelés hyphes) et les spores. Elles sont acidophiles (pH compris entre 3 et 7), mésophiles (20 à 30 °C) et d'autres sont psychrotrophes (< 15 °C) (Gueroui, 2018).

La classification des moisissures est fondée sur des caractères purement morphologiques et sur le cloisonnement des hyphes, ils sont divisés en quatre subdivisions principales :

- *Zygomycetes* : reproduction asexuée est le plus souvent assurée par des sporocystospores ou parfois par des conidies exogènes, alors la reproduction sexuée par des zygospores, comme les *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia* ;
- *Ascomycetes* : reproduction asexuée (conidies) et sexuée par spores contenues dans l'asque (ascospore) comme *Aspergillus fumigatus* et *A. nidulans* ;
- *Basidiomycetes* : reproduction asexuée (conidies) et sexuée par des spores portées par les basides (basidiospores) comme *Clitocybe nebularis*.
- *Deuteromycetes* (Fungi imperfecti) un groupe très vaste qui rassemblent des champignons dont la sexualité est inconnue ou des variétés asexuées d'*Ascomycetes*. Ils sont classés en fonction des caractéristiques des organes conidiens et du mode de groupement des hyphes. Les *Aspergillus* et *Penicillium*, par exemple, ont une sexualité rare et sont fréquemment classés dans ce groupe comme *Aspergillus flavus*, *A. niger* ..etc.

Munies de puissants et complexes systèmes enzymatiques, elles sont capables d'altérer nos denrées alimentaires, aboutissant à d'irréversibles détériorations. C'est encore grâce à leurs activités biochimiques qu'elles se comportent en agents de biodégradations, biosynthèse ou bioconversions transformant, à notre bénéfice, des substrats de faible valeur alimentaire, peu attrayants, en une nourriture riche en éléments assimilables, à saveur agréable ou en condiment savoureux (Bourgeois et al., 1996).

2.10.2. Rôle dans l'alimentation

La moisissure utilisée pour la préparation des fromages à pâtes molles et croûte fleurie (camemberts, brie, etc.) est le *Penicillium camemberti*. Le rôle essentiel du *Penicillium*, au cours de l'affinage des pâtes, réside dans son aptitude à consommer l'acide lactique et, de ce fait, à désacidifier les caillés, mais en outre, il libère des enzymes, ce qui modifie l'évolution des saveurs et des arômes des différents fromages. La moisissure verte, *Penicillium roqueforti* est utilisée depuis longtemps pour la préparation du fromage de Roquefort et d'autres fromages à pâte dite «persillée» (Gueroui, 2018).

Les moisissures sont utilisées aussi dans la fabrication d'additifs alimentaire. Thom et Curie (1916) ont fabriqués de l'acide citrique grâce à *Aspergillus niger*. Elles sont aussi utilisées pour la production des enzymes (α amylase, catalase, cellulase, lactase, pectinase etc.), de pigments et vitamines (β carotène, riboflavine), des huiles essentielles, des arômes et des parfums, etc. (Bourgeois et al., 1996).

2.10.3. Rôle néfaste

Cependant l'intervention néfaste des champignons filamenteux dans l'industrie alimentaire se situe à plusieurs niveaux. Il y'a les champignons à activité phytopathogène qui sont très gênants pour la production des matières alimentaires brutes qui sont les fruits et les légumes par exemple *Penicillium expansum* provoque un moule bleu sur les pommes, les moisissures vertes et bleues des agrumes sont généralement *Penicillium digitatum* et *P. italicum*. Les moisissures saprophytes contaminent les aliments et les dégradent au point de vue qualitatif. Certains d'entre eux sont *toxinogènes* et libèrent dans l'aliment des *mycotoxines* qui représentent un grand danger d'un point de vue sanitaire :

- *Aspergillus flavus* produit les *aflatoxines*, l'aflatoxine B1 est un cancérigène puissant.
- *Aspergillus clavatus* produit la *patuline* agent congestif provoquant des hémorragies pulmonaires et cérébrales.
- *Fusarium sporotrichoides* et les espèces voisines produisent diverses toxines comme les *trichothécènes*, la *zéaralénone*, les *fumonisines*, etc. Certaines de ces toxines sont très thermostables (30 min à 200°C) (Guiraud, 1998).

Chapitre III

Les altérations microbiennes des aliments et les moyens de lutte

1. Les facteurs influençant la flore d'altération des aliments

Les bactéries ne croissent que si leur environnement est adéquat. Si celui-ci n'est pas optimal, il peut y avoir croissance à faible vitesse ou pas de croissance du tout ou encore les bactéries peuvent mourir, c'est selon les espèces et les conditions.

De nombreuses caractéristiques physicochimiques de l'aliment et de son environnement conditionnent le développement des microorganismes (Cuq, 2007).

1.1. Caractères propres à l'aliment

1.1.1. Structures biologiques

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

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

1.1.2. Agents antimicrobiens naturellement présents

Le lait frais contient des lacténines et des facteurs anti-coliformes à activité limitée dans le temps. L'oeuf contient du lysozyme actif sur des germes à Gram positif. Les aïelles contiennent de l'acide benzoïque actif sur les levures et moisissures ; des composés comme le thymol (thym), l'eugénol (clou de girofle) ou l'aldéhyde cinnamique (cannelle) ont des activités antimicrobiennes.

1.1.3. Composition chimique de l'aliment

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

- A partir des glucides de l'aliment (et dérivés)
 - Polymères (amidon, cellulose) : hydrolyse : texture modifiée.
 - Dimères et monomères (saccharose, lactose, glucose, fructose, etc) fermentations :

formation d'acides et de composés carbonylés : incidence sur le goût et l'arôme.

- A partir des protides de l'aliment (et dérivés)
 - Polymères (protéines) : hydrolyse : texture modifiée.
 - Acides aminés : décarboxylation , désamination, désulfuration etc. : modifications du goût, de l'odeur, formation de catabolites toxiques.
- A partir des lipides de l'aliment (et dérivés) : oxydation et lipolyse (goût) (Cuq, 2007).

1.1.4. pH

Le pH a une grande incidence sur l'équilibre ionique d'un milieu, donc sur la perméabilité cellulaire et la disponibilité des substrats, sur les activités enzymatiques extracellulaires et à moindre degré sur les activités intracellulaires (De Roissart et Luquet, 1994).

Pour un microorganisme donné, la vitesse de croissance en fonction du pH passe par un optimum. Ce sont souvent des activités enzymatiques sensibles au pH qui sont les facteurs limitant de la croissance microbienne (Cuq, 2007).

On appelle *acidophiles* les microorganismes dont le pH optimum se situe au-dessous de 5,5 ou qui sont capables de se développer à pH bas parmi eux les levures et les moisissures et chez certaines bactéries qui sont classées en fonction de la nature de l'acide qu'elles produisent (bactéries acétiques, lactiques, propioniques, ...) (Tableau 2). Le pH de l'aliment favorisera d'autant mieux la prolifération qu'il sera voisin du pH optimum de croissance. La plupart des bactéries pathogènes sont incapables de se développer à un pH de inférieur à 4,5 ; ce qui fait que les aliments acides sont peu dangereux. En effet à pH 4,5 il y'a un arrêt de la toxinogénèse de *Cl. botulinum*. Les bacilles gram négatif sont *acidosensibles* et ne peuvent se développées à pH bas (Guiraud, 1998).

Tableau 2. pH de croissance de quelques microorganismes (Bourgeois et al., 1996).

MICROORGANISMES	MINIMUM	OPTIMUM	MAXIMUM
Moisissures	1,5 - 3,5	4,5 - 6,8	8,0 – 11,0
Levures	1,5 - 3,5	4,0 – 6,5	8,0 – 8,5
Bactéries	4,5	6,5 - 7,5	11
Bactéries acétiques	2,0	5,4 - 6,3	9,2
Bactéries lactiques	3,2	5,5 - 6,5	10,5
<i>Lb. plantorum</i>	3,5	5,5 - 6,5	8
<i>Le. cremoris</i>	5,0	5,5 - 6,0	6,5
<i>Le. lactis</i>	4,1 - 4,8	6,4	9,2
<i>Lb. acidophilus</i>	4,0 - 4,6	5,5 - 6,0	6,5
<i>Pseudomonas</i>	5,6	6,6 - 7,0	8,0
<i>P. aeruginosa</i>	4,4 - 4,5	6,6 - 7,0	8,0 - 9,0
Entérobactéries	5,6	6,5 - 7,5	9,0
<i>S. typhi</i>	04/04/05	6,5 - 7,2	8-9,6
<i>t. coli</i>	4,3	6,0 - 8,0	9,0
<i>Staphylococcus</i>	4,2	6,8 - 7,5	9,3
<i>Clostridium</i>	4,6 - 5,0		9,0
<i>C botulinum</i>	4,8		8,2
<i>G perfrigens</i>	5,5	6,0 - 7,6	8,5
<i>C. sporogenes</i>	5,0 – 5,8	6,0 – 7,6	8,5 – 9,0
<i>Bacillus</i>	5,0 – 6,0	6,8 - 7,5	9,4 – 10,0
<i>L. monocytogenes</i>	04/03/05	6,5 - 7,5	

Tableau 3. pH de quelques produits alimentaires (Cuq, 2007).

aliment	pH	aliment	pH	aliment	pH
boeuf	5,1-6,2	asperges	5,0-6,1	orange	3,0-4,3
jambon	5,9-6,1	haricots	4,8-5,5	pêche	3,4-4,2
veau	6,0-6,2	haricots verts	4,9-5,5	poire	3,8-4,6
poulet	6,2-6,4	betterave	4,2-5,8	ananas	3,5-4,1
canard	6,0-6,1	choux de Bruxelles	6,3	prune	2,8-3,0
saucisse (Francfort)	6,2	choux	5,4-6,0	melon	5,2-5,6
poissons (général)	6,6-6,8	carottes	4,9-5,6	airelle	2,3-2,5
morue	6,0-6,2	céleri	5,7-6,0	cassis	3,0-3,4
maquereau	5,9-6,2	maïs	6,1-7,0	dattes	6,2-6,4
saumon	6,1-6,5	laitue	6,0-6,2	raisin	3,5-4,5
sardine	5,7-6,6	olives	3,6-3,8	citron	2,2-2,6
crevettes	6,8-7,0	olives mûres	5,9-7,3	pomme	2,9-3,5
crabes	7,0-7,1	oignons	5,3-5,8	banane	4,5-4,7
huîtres	4,8-6,3	champignons	6,0-6,5	figue	4,6-5,0
poissons blancs	5,5	persil	5,7-6,0	mûre	3,0-4,2
hachis	5,5-6,2	pois	5,6-6,5	myrtille	3,2-3,6
lait de vache	6,5-6,8	concombre	2,6-3,8	cerise	3,4-3
beurre	6,1-6,4	piment	4,3-4,9	pamplemousse	3,2-3,4
crème	6,5	pomme de terre	5,4-5,9	porc + haricots	5,1-5,8
fromages	4,5-5,9	épinard	4,8-6,0	soupe de viande	6,0-6,2
parmesan	5,2	tomate	4,2-4,5	soupe de haricot	5,7-5,9
Roquefort	4,7	navets	5,2-5,5	soupe de poulet	5,5-6,5
		pomme	2,9-3,5	soupe de champignon	6,3-6,7

1.1.5. Activité de l'eau

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

$$a_{\text{eau}} = P_{\text{eau aliment}} / P_{\text{eau pure}}$$

- L'activité de l'eau varie entre 0 et 1.
- L'humidité relative H.R. est égale à l' $a_{\text{eau}} \cdot 100$.

Les microorganismes capables de se développer dans des produits à faible a_{eau} sont qualifiés de xérophiles, ceux en milieux fortement sucrés ou salés respectivement

d'osmophiles et de halophiles.

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

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

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

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

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

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

Il existe des corrélations entre a_w et température ou composition. A une température donnée, la vitesse de croissance d'un microorganisme donné est diminuée si l' a_w est abaissé. La présence de substances nutritives en "abondance" augmente les limites d' a_w compatibles avec la survie du microorganisme (Cuq, 2007).

Tableau 4. Activité d'eau et croissance des micro-organismes dans les produits alimentaires selon FDA (Food and Drug Administration) (Nsren, 2010).

Valeur Aw	Limites maximales pour les micro-organismes	Produits alimentaires compris dans ces valeurs
1.00 - 0,95	<i>Psoudomonas</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Proteus</i> , <i>Shigella</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , certaines levures	Produits rapidement altérables (frais) aliments et fruits en boites, légumes, viande, poisson et laitage, saucisse cuite pain cuit; produits alimentaires contenant jusqu'à 40% de sucre ou 7% de sel
0.95 - 0,91	<i>Salmonella</i> <i>Vibrio parahaemoliticus</i> , <i>C. botulinum</i> , <i>Serratia</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , certaines moisissures, levures (<i>Rhodotoruia</i> , <i>Pichia</i>)	Certains fromages (cheddar, suisse, munster, provolone), viande fumée (jambon), quelques concentrés de jus de fruits, les produits alimentaires contenant jusqu'à 55% de sucre (saturés) ou 12% de sel
0,91- 0,87	Beaucoup de levures (<i>Candida</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Hansenula</i>), <i>Micrococcus</i>	Saucisse sèche (salami), flans, fromages secs, margarine, les produits alimentaires contenant jusqu'à 65% de sucre (saturés) ou 15% de sel
0,87- 0,80	La plupart des types de moisissure (<i>Penicillia micotoxique</i>), <i>Staphylococcus aureus</i> , la plupart des <i>Saccharomyces (bailii) spp.</i> , <i>Deboryamyces</i>	La plupart des concentrés de jus de fruits, le lait concentré sucré, les sirops de chocolat, d'érable et de fruits, les farines, riz et légumes secs avec 15-17% d'eau; les gâteaux aux fruits; saucisses fumées, fondants
0,80 - 0,75	La plupart des bactéries halophiles, <i>aspergilli micotoxique</i>	Marmelades, gelées de fruits, pâte d'amande, fruits confits, certains marshmallows
0,75 - 0,65	Moisissure xérophile (<i>Aspergillus chevaliers</i> , <i>A. Candidus</i> , <i>Wallemia sebi</i>), <i>Saccharomyces bisporus</i>	Flocons d'avoine avec 10% d'eau, nougats, fondants, marshmallows, bouillies, mélasses, sucre brut, certains fruits secs, noix
0,65 - 0,60	Levures osmophile (<i>Saccharomyces rouxi</i>), certaines moisissures (<i>Apergillus echinulatus</i> , <i>Monascus bisporus</i>)	Fruits secs avec 15-20% d'eau; certains toffees et caramels; miel
0,5	Pas de croissance microbiologique élevée	Pâtes alimentaires avec 12 % d'eau; épices avec 10% d'eau
0,4	Pas de croissance microbiologique élevée	Œufs en poudre avec 5% d'eau environ
0,3	Pas de croissance microbiologique élevée	Cakes, biscuits secs, croûte de pain, etc. avec 3-5% d'eau environ
0,2	Pas de croissance microbiologique élevée	Poudre de lait avec 2-3% d'eau environ; fruits secs avec 5% d'eau environ, flocons de céréales avec 5% d'eau environ, gâteaux aux fruits, cakes rustiques, biscuits secs

1.1.6. Potentiel d'oxydo-réduction

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

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

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

Dans les aliments , on peut considérer la présence ou l'absence d'oxygène comme un paramètre fondamental vis à vis des microorganismes (Cuq, 2007).

1.2. Paramètres externes à l'aliment

Ces paramètres sont intimement liés aux caractéristiques de l'environnement de l'aliment et influencent à la fois la stabilité du produit et le comportement des microorganismes qu'il contient.

1.2.1. Température

Généralement un type de bactérie donné croît plus rapidement à une certaine température : *température optimale de croissance*. La vitesse de croissance se réduit lorsque la température s'écarte de cet optimum. Pour toutes bactéries, il y a une température maximum et une température minimum au-delà desquelles la croissance s'arrête (Bourgeois et al., 1996).

Dans les microorganismes, la température augmente la vitesse de l'ensemble des réactions dont il est le siège (anabolisme et catabolisme) ; on observe donc une augmentation de la vitesse de croissance avec l'augmentation de la température qui suit la loi d'Arrhénius. Cependant, quand la température augmente, la vitesse de dénaturation des protéines bactériennes (enzymes en particulier) augmente. Quand toutes les molécules protéiques à activité métabolique sont dénaturées, le germe a une vitesse de croissance nulle et souvent, si des enzymes participant à l'expression de son génome sont inactivées, il meurt car ces phénomènes sont très souvent

irréversibles.

Pour des températures inférieures à la température optimale de croissance, la vitesse des réactions impliquées dans le métabolisme et donc le taux de croissance diminuent. Cependant le “froid” ne conduit pas à une dénaturation significative des composants microbiens, ce qui conduit à une reprise des activités métaboliques dès que la température atteint des valeurs qui se rapprochent de la température optimale de croissance. Sauf la congélation lorsqu'elle est lente peut entraîner une forte mortalité.

Les variations de la vitesse de croissance en fonction de la température correspondent donc à la somme de deux phénomènes (Cuq, 2007).

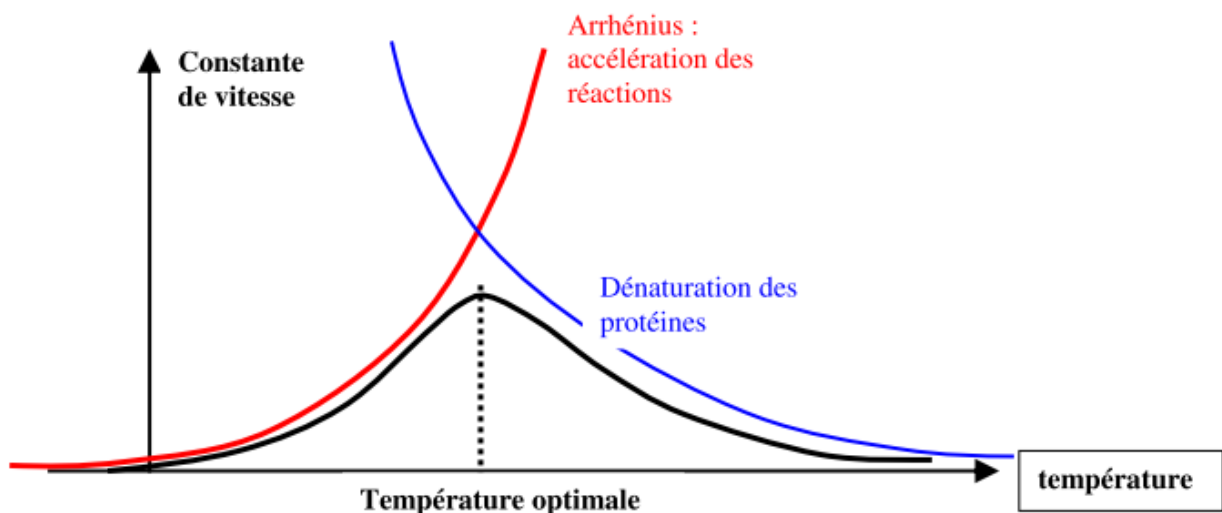


Figure 4. Influence de la température sur le taux de croissance (Loi d'Arrhénius) (Cuq, 2007).

On distingue différent cas. Les **microorganismes psychrophiles (ou psychrotrophes)** sont capables de se développer en dessous de 15-20 °C, y compris pour certains jusqu'à des températures négatives. Il existe des *psychrophiles facultatifs* et d'autres obligatoires (*psychrophiles strict*) : ces derniers ne sont en général pas capables de se développer à 20°C. On trouve parmi les psychrophiles facultatifs de nombreuses bactéries de la flore Gram- saprophyte (*Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, etc.) et des germes pathogènes capables de cultiver entre 0 et 10°C il faut citer: *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolytica*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloïdes* et même *E.*

coli entéropathogène et pour les moisissures (*Cladosporium*, *Sporotrichum*, etc). **Les cryophiles** peuvent se développer à des températures négatives, température optimale de croissance (- 5 °C). **Les mésophiles** comprennent la majorité des micro-organismes qui se développent entre 15 et 45 °C (La plupart des germes pathogènes font partie de cette catégorie). **Les thermophiles** sont capables de se développer au-dessus de 45 °C et les *thermophiles extrêmes* jusqu'à 75-80 °C et même au-dessus. Parmi les micro-organismes thermophile obligatoires : des bactéries lactique (*Lactobacillus thermobacterium*, *Streptococcus thermophilus*), et des sporulées (*Clostridium thermosaccharolyticum*, *Bacillus stearothermophilus*). Il ne faut pas confondre thermophilie et thermorésistance qui est l'aptitude à résister à un traitement thermique donné (Bourgeois et al., 1996 ; Guiraud, 1998 ; Cuq, 2007 ; Djidel, 2017).

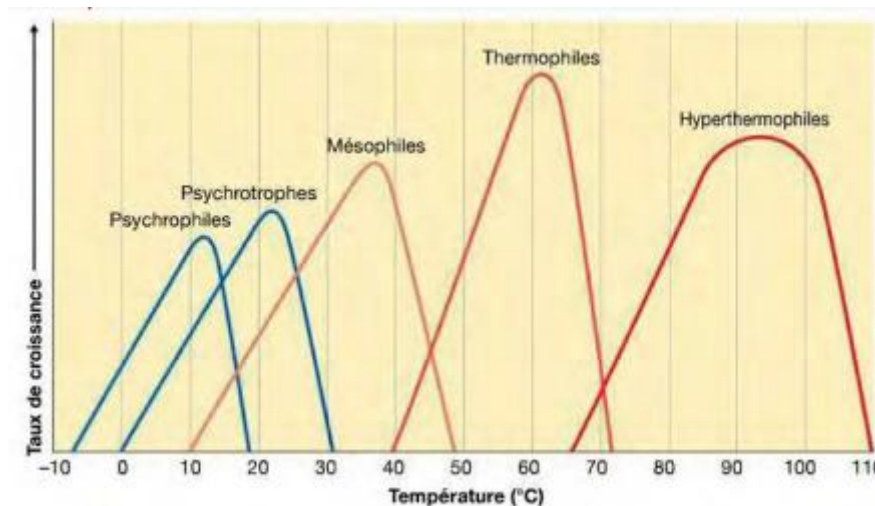


Figure 5. Taux de croissance de différents types de bactérie en fonction de la température (Djidel, 2017).

Le froid est un moyen largement utilisé de nos jours pour contrôler la vitesse de croissance des microorganismes. Au réfrigérateur, la durée de conservation est voisine de 3 à 5 jours, délai correspondant à une prolifération défavorable des germes cryophiles. La congélation à -18°C stabilise totalement l'aliment au sein duquel aucune croissance de microorganisme ne peut intervenir. Pour les **viandes** aucun germe dangereux ne se développe en dessous de 5°C et quand la température augmente de 5°C, le "temps de vie du produit" est divisé par deux (Cuq, 2007).

1.2.2. Humidité relative

L'humidité relative du lieu d'entreposage influe à la fois sur l'activité de l'eau de l'aliment (équilibre dynamique) et sur la croissance des microorganismes à la surface de cet aliment. Par exemple quand un aliment a une activité d'eau de 0,6 il faut éviter que les conditions d'humidité relative de l'atmosphère environnante ne conduisent à une augmentation de l'activité d'eau en surface jusqu'à une valeur compatible avec une croissance microbienne (Cuq, 2007).

1.2.3. Présence et concentration de gaz

La notion d'atmosphère contrôlée est déjà ancienne. Une augmentation de la teneur en anhydride carbonique (jusqu'à 10 %) et une diminution de la teneur en oxygène permettent une meilleure conservation des fruits et légumes (4ème gamme) en retardant le développement de certains microorganismes et plus particulièrement des moisissures. Une atmosphère d'azote ou un conditionnement sous vide permet d'éviter des contaminations par des microorganismes aérobies (Cuq, 2007).

1.2.4. Antimicrobiens produits au cours de la fabrication de l'aliment

Il s'agit de substances qui sont soit bactériostatiques soit bactéricides (éthanol, acides organiques comme les acides lactique, acétique, citrique, tartrique, malique, etc.). L'addition de composés antimicrobiens aux produits alimentaires (additifs) ou l'utilisation d'agents antimicrobiens divers dans l'environnement de production des aliments (agents de désinfection, de nettoyage, etc.) est réglementée et fait l'objet du cours suivant (Cuq, 2007).

2. Les moyens de lutte

L'utilisation d'agents antimicrobiens permet de contrôler le développement des microorganismes, et plus particulièrement des microorganismes pathogènes et (ou) des microorganismes responsables des phénomènes de dégradation des produits alimentaires.

Les moyens de lutte contre les microorganismes sont très nombreux et peuvent être schématiquement classés en :

2.1. Moyens physiques

2.1.1. La température

2.1.1.1. La chaleur

L'utilisation de la chaleur est un procédé de destruction des microorganismes très répandu. La cuisson, l'ébullition et le blanchiment sont des procédés très anciens, auxquels il faut rajouter les processus industriels de pasteurisation et stérilisation, tyndallisation, etc (Bourgeois et al., 1996).

2.1.1.1.1. La pasteurisation

La pasteurisation consiste à tuer tous les germes pathogènes non sporulés. La pasteurisation donne des semi-conserves (à conserver au froid, sauf quand elles sont acides), et elle respecte mieux les aliments que la stérilisation (lait, œufs, jus de fruits). Elle se pratique entre 60 et 75°C généralement, et sera "vue" dans le cours sur les traitements technologiques. Vous y apprendrez que la valeur pasteurisatrice est le temps en minutes à 70°C pour détruire 13 log de *Streptococcus faecalis* (Corpet^a, 2014).

Tableau 5. Barèmes de pasteurisation (Leyral et Vierling, 2007).

Denrée	Température et temps nécessaires
Lait	30 min à 62 °C ou 15 s à 72 °C
Crèmes/Crèmes dessert	30 min à 71 °C ou 16 s à 20 s à 82 °C
Jus de pommes en bouteilles	30 min à 77 °C
Boissons gazeuses à base de jus de fruits	30 min à 66 °C
Bière	1 à 2 min à 82-88 °C

2.1.1.1.2. La stérilisation

La stérilisation par la chaleur consiste à exposer les aliments à une température, généralement supérieure à 100 °C, pendant une durée suffisante pour inhiber les enzymes et toute forme de microorganismes, même les bactéries sporulées (destruction des microorganismes d'une denrée de manière à éviter la dégradation de ses qualités sanitaires avec le temps).

La stérilisation de l'aliment et de son contenant peut être réalisée de deux façons :

- **Appertisation : Stérilisation simultanée du contenant et du contenu**

- Appelée aussi Pasteurisation dans l'emballage, L'appertisation est un procédé de conservation qui consiste à stériliser par la chaleur des denrées périssables dans des contenants (boîtes métalliques, bocaux, etc.) hermétiquement fermés.

- **Stérilisation séparée du contenant et du contenu**

- Appelée aussi Pasteurisation en vrac, Dans ce cas, le produit alimentaire (le contenu) est stérilisé, par traitement thermique, avant d'être renfermé dans son contenant. Ce dernier est aussi stérilisé, soit par la chaleur, soit par d'autres procédés (par ultra-violet par exemple), mais avant de contenir le produit. Ensuite, le contenu stérilisé est fermé hermétiquement dans son emballage (contenant), aussi stérilisé. L'opération de conditionnement se déroule dans une enceinte qui empêche la contamination du produit par les microorganismes de l'environnement : C'est le conditionnement aseptique. Cette technique est utilisée généralement pour la conservation des produits liquides (lait, jus, etc.) dans des emballages qui ne peuvent supporter l'appertisation comme les sachets en plastique et les cartons.

Lorsque la stérilisation du produit est réalisée à haute température (135 °C à 150 °C) pendant une courte durée (15 sec. à 1 sec.), on parle de **stérilisation UHT** (Ultra Haute Température). Cette technique a l'avantage de préserver la qualité organoleptique et nutritionnelle du produit stérilisé. Cependant, elle ne peut être utilisée que dans le cas des produits liquides comme le lait (Piar et Lanoisellé, 2000).

2.1.1.1.3. La tyndallisation

Est un traitement thermique équivalent à des pasteurisations répétées, séparées par des intervalles de 12 à 24h à des températures de 30 à 40°C. Au cours de la pasteurisation, seules les formes végétatives sont inactivées tandis que dans les intervalles, la plus part des spores thermorésistantes germent et sont sensibles à la pasteurisation suivante. Ce procédé est utilisé pour les milieux de culture fragiles. Cette opération, consiste à chauffer le milieu 60°C ou 70°C durant 30 minutes ou 1 heure, trois fois consécutives, en ménageant un intervalle de 24 heures entre chaque chauffage (Prescotte et al., 2010).

2.1.1.1.4. La Thermisation

C'est une forme amoindrie de pasteurisation. Son objectif principal est la destruction des bactéries pathogènes qui pourraient se trouver dans le produit, sans modifier autant ses caractéristiques technologiques. La thermisation est un traitement thermique appliqué au lait cru.

Ce dernier devra être porté à une température d'au moins 63°C pendant 16 secondes (Cuq, 2007).

2.1.1.1.5. Chaleur sèche

Le matériel à stériliser est placé dans un four électrique ou à gaz (fours Pasteur, Poupinel) à 180°C pendant 1 heure ou de 160°C durant 2 à 3 heures. Il y a oxydation des constituants cellulaires et dénaturation des protéines. Elle ne corrode pas les verreries, les instruments métaux chirurgicaux et permet la stérilisation des poudres et huiles (Meyer et al., 1984).

2.1.1.2. Froid (Congélation, Réfrigération, La lyophilisation)

- **Réfrigération** : Abaissement de la température à une valeur inférieure à la température ambiante mais supérieure au point de congélation du produit (l'eau reste liquide). Elle :
 - diminue la vitesse de croissance (augmente le temps de doublement).
 - diminue la vitesse de démarrage (augmente la phase de latence).
 - augmente donc fortement la conservation des aliments (en gros la viande se garde 1 jour à 22°C mais 10 j à 0°C).
 - sélectionne les bactéries psychrophiles (ex.: bien que "lentes", *Pseudomonas* & *Listeria* sont avantagées au frigo).
 - pousse bactéries à s'adapter (mais c'est long) (plus d'AGPI dans membranes, pigments, lipases *Pseudomonas* du lait).
- **Congélation** : Abaissement de la température à une valeur inférieure au point de congélation (zéro degré dans l'eau pure, mais pour la viande : <-1,4°C). Elle :
 - arrête la croissance bactérienne (eau libre disparaît, lipides membranes solides).
 - tue certaines bactéries (9 cellules Gram- sur 10): effet létal partiel et sélectif (coques et gram+ résistent mieux) (Corpet^a, 2014).
- **La lyophilisation** : Sublimation de l'eau à froid ; c'est une méthode de dessiccation sous vide, à basse température, de produits liquides préalablement congelés (phase solide) par passage à la phase vapeur, sans passer par la phase liquide. Ce changement d'état s'appelle la sublimation (Ait Abdelouahab, 2001).
- **Comment la congélation tue-t-elle certaines bactéries ?**
 - les spores résistent très bien, les coques gram+ bien aussi, les bacilles gram- plutôt mal.
 - les cellules en phase de croissance sont plus sensibles que les cellules en latence.

- la destruction se produit au moment où l'eau gèle. Ensuite, le nombre reste stable.
- une congélation lente tue plus de bactérie qu'une congélation très rapide (on fait une congélation "flash" dans l'azote liquide pour conserver des souches).
- certaines substances protègent les bactéries = cryoprotecteurs (amidon, sucre, lait, glycérol).
- ce qui tue (1): Perturbation de la perméabilité par solidification des lipides membranaires.
- ce qui tue (2): Modification de la concentration saline du milieu car les cristaux de glace sont en eau pure. L'eau non gelée contient donc tous les sels et sa pression osmotique monte.
- ce qui tue (3): Action mécanique des cristaux de glace qui écrasent ou percent les cellules (Corpet^a, 2014).

La congélation à -18°C et la surgélation (-40°C et même -80°C) permettent une stabilisation totale vis-à-vis des micro-organismes et entraîne une mortalité plus au moins importante selon la nature des germes et la vitesse de refroidissement.

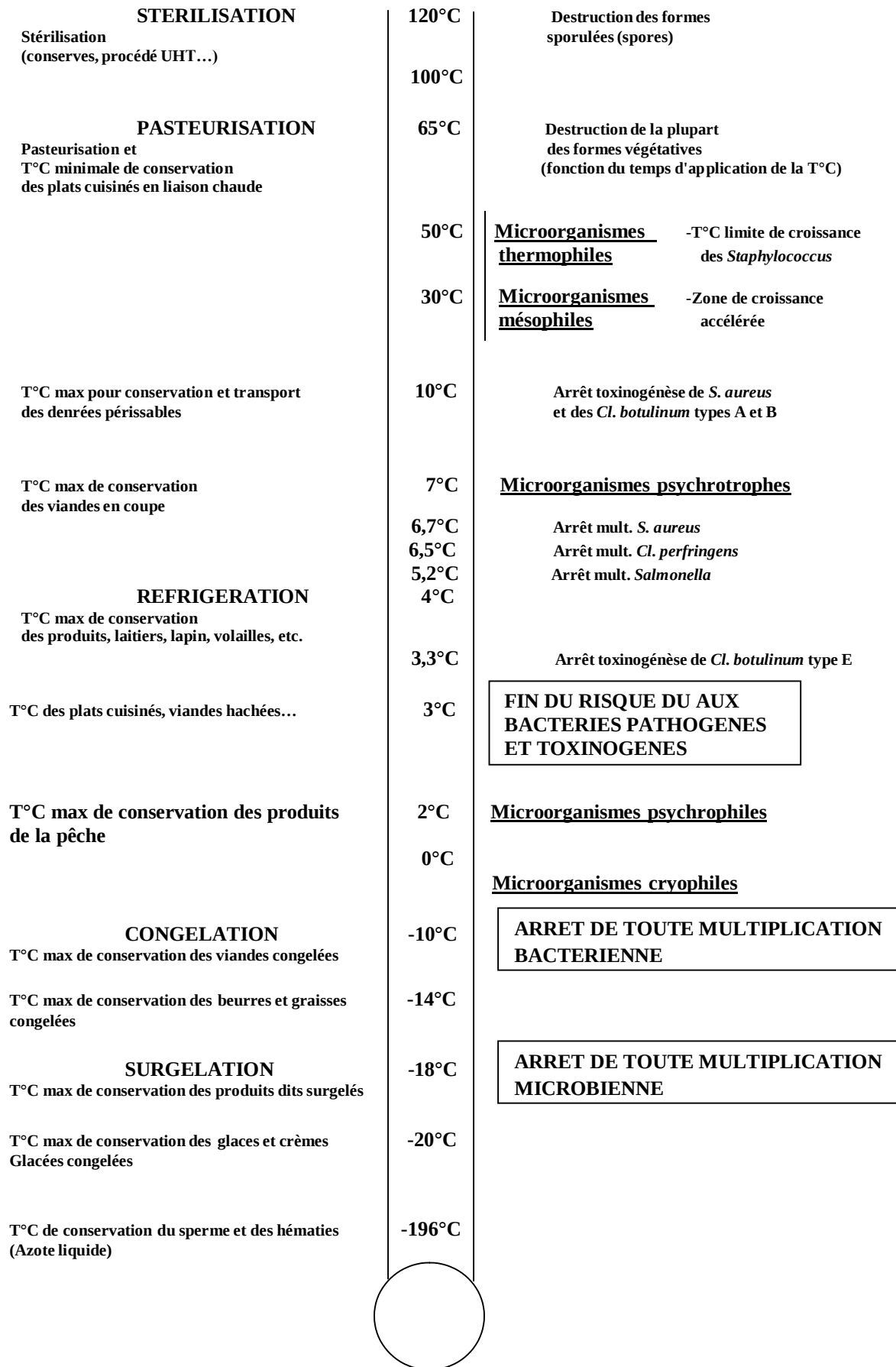


Figure 6. Action de la T° sur les MO et leur métabolisme (Ait Abdelouahab, 2001).

2.1.2. Radiations

Le rayonnement solaire ou, plus précisément les radiations ultraviolettes sont de précieux agents naturels de stérilisation. Les principaux types de radiations sont électromagnétiques, électroniques et soniques (Gueroui, 2018).

2.1.2.1. Radiations électromagnétiques (ionisants)

Elles sont caractérisées par leur longueur d'onde. Leur action sur les microorganismes revêt un double intérêt : la conservation des aliments (stérilisation) et la connaissance de leur mode d'action sur les bactéries peut être transposée à celui qu'on observe sur les cellules humaines. **L'irradiation** est un terme générique très vague qui couvre la gamme des longueurs d'onde allant de l'infra-rouge aux rayons cosmiques. L'irradiation ionisante résulte donc de l'utilisation de rayonnements UV mais surtout X et γ et n'a rien de commun avec **la radioactivité** (Cuq, 2007). Les longueurs d'onde de radiations électromagnétiques sont indiquées ci-après :

- **Infrarouge (> 800 nm), visible (400 à 800 nm), Ultraviolets (≤ 400 nm) :** sont aussi les moins efficaces puisque leur longueur d'onde est grande. Les rayons UV sont les plus utilisés malgré leur faible rendement. La région la plus active de leur spectre d'émission est située entre 260 et 270 nm. Leur pénétration est arrêtée par la moindre particule de matière en suspension.

- **Rayons X et γ** qui libèrent une énergie plus importante et qui pénètrent aussi plus profondément dans la matière. Ces rayonnements agissent essentiellement au niveau de L'ADN. Industriellement, on distingue (Gueroui, 2018) :

- **Radappertisation** : dose d'irradiation comprise entre 20 et 50 kGy (kilo Gray). Correspond à la stérilisation.
- **Radicidation** : dose appliquée suffisante pour éliminer les bactéries pathogènes et la flore d'altération à l'exception des bactéries sporulées. Les doses employées sont inférieures à 10 kGy.
- **Radurisation** : doses en général comprises entre 1 et 5 kGy. Ce traitement peut s'appliquer aux denrées emballées.

Les doses de réduction en KGy permettant de réduire de 90% le nombre de germes vivants sont indiquées, pour certains microorganismes, dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6. Actions des radiations sur les microorganismes (Cuq, 2007).

Microorganisme	dose (KGy)	Microorganisme	dose (KGy)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,1	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,8 - 1,9
<i>Lactobacillus</i>	0,1 - 0,2	<i>Clostridium botulinum</i> type E	1,2 - 3
<i>Escherichia coli</i>	0,15 - 0,3	<i>Spores de Cl. botulinum</i>	3,5 - 5
<i>Shigella</i> sp	0,25 - 0,4	<i>Micrococcus radiodurans</i>	5 - 8
<i>Salmonella</i> sp	0,5 - 1	<i>Levures</i>	0,8 - 1,2
<i>Streptococcus faecalis</i>	0,75 - 1	<i>Moisissures</i>	0,4 - 1,3
<i>Moraxella</i>	0,8 - 1,3	<i>Poliovirus</i>	14

2.1.2.2. Radiations électroniques

Une émission continue d'électrons lancés à grande vitesse à un pouvoir de stérilisation identique à celui des rayons. Les électrons peuvent être dirigés à volonté sur le point que l'on désire atteindre mais leur pouvoir de pénétration est nettement plus faible que celui des rayons γ . Leur principal défaut est surtout l'altération des substances organiques soumises à leur action (Gueroui, 2018).

2.1.2.3. Radiations soniques

Les ultrasons ont le pouvoir de tuer les microorganismes en suspension dans un liquide en libérant leur contenu endocellulaire par un effet "mécanique" de vibration.

Le domaine d'application comprend un vaste champ :

- Conservation des grains, des fruits et légumes secs (0,4 à 1 kGy) ;
- Allongement de la durée de conservation des fruits et légumes frais (faibles doses) ;
- Conservation et meilleure hygiène des viandes et poissons ;
- Le traitement par les rayonnements ionisants peut être couplé avec d'autres procédés de conservation (exp. Dans le cas des produits de charcuterie, il permet de diminuer la quantité de nitrates ajoutée à l'aliment) (Gueroui, 2018).

2.1.3. La bactofugation et la filtration

2.1.3.1. Filtration stérilisante

Elle est appelée stérilisation à froid. Il est possible de réaliser des filtrations stérilisantes en utilisant des supports poreux organiques (dérivés de la cellulose, polyamide, téflon, etc.) ou minéraux (filtres d'amiantes, d'alumine, de porcelaine, de verre fritté, amiante,

etc.) au niveau desquels la taille des “pores” est parfaitement contrôlée et de dimension inférieure à celle de la plupart des microorganismes à retenir (diamètre $\leq 0,5 \mu\text{m}$). Le plus ancien filtre est le filtre Chamberland ou la bougie filtrante qui utilise les propriétés de la porcelaine non vernissée. Actuellement, on a recours soit aux filtres de verre fritté, soit aux filtres de diatomées (filtres Berkefeld), soit enfin aux membranes filtrantes d’acétate de cellulose.

Ces méthodes restent néanmoins limitées aux liquides peu chargés en matières organiques en suspension (boissons type bière, vin et certains jus de fruits). Elles présentent l’avantage de ne pas modifier les qualités organoleptiques sauf dans quelques cas où des rétentions de composés d’arômes sur le support se produisent (Gueroui, 2018).

2.1.3.2. La bactofugation

La centrifugation au-dessus de 5000 g permet de diminuer la charge microbienne. En industrie laitière, on parle d’une bactofugation qui est une épuration centrifuge le lait, à grande vitesse, à la température de pasteurisation, ce qui permet d’éliminer les bactéries sporulées. Pour les laits non stérilisables :

- à 60°C, 95 % des spores sont éliminés par réaction avec des agglutinines associées au globule gras et se retrouvent donc dans la phase légère.
- à 80°C, les agglutinines sont rapidement dénaturées et perdent leur activité en une dizaine de minutes ; 98 à 99 % des spores sont alors éliminées dans le culot (Meyer et al., 1984 ; Cuq, 2007).

2.2. Moyens chimiques

Tous les composés chimiques possédant un effet antimicrobien ne sont pas utilisables comme antiseptiques ou désinfectants. Certains, comme les fluorures ou les cyanures sont de puissants poisons cellulaires dont la toxicité interdit l’emploi. D’autres, tels que les antibiotiques et les sulfamides sont traités à part en raison de leur rôle thérapeutique (Cuq, 2007).

2.2.1. Les antiseptiques, les désinfectants, les conservateurs alimentaires et les antibiotiques.

Le choix d’un antimicrobien dépend de l’usage auquel il est destiné, de son activité, de sa toxicité, de sa stabilité, de son pouvoir corrosif ou colorant, de son odeur... etc.

2.2.1.1. Agents oxydants

2.2.1.1.1. Le peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène (ou eau oxygénée, H_2O_2) est un antiseptique efficace. A 3 % (10 volumes) en solution aqueuse, il s'agit d'un bon désinfectant. Son utilisation est limitée en raison de sa décomposition rapide. Il s'agit d'un composé inodore, incolore. Il conduit à l'oxydation des résidus de cystéine et de méthionine des protéines, celles-ci perdant alors leur fonction biologique. D'autres substances sont aussi oxydées dans ces conditions : des peroxydes apparaissent dans les lipides insaturés ; certaines vitamines (surtout A, D, C, B1) sont oxydées au cours de ce traitement (Cuq, 2007).

2.2.1.1.2. Le chlore et ses dérivés

Le chlore et surtout ses dérivés chimiques constituent les antiseptiques ou désinfectants les plus communs. Ils sont utilisés pour le traitement des eaux de boisson, de piscine, pour la désinfection des locaux, d'objets contaminés, etc.

L'hypochlorite de sodium, ou eau de Javel ($NaClO$), est d'usage universel et correspond à une solution de chlore dans l'hydroxyde de sodium : $Cl_2 + 2 NaOH \rightarrow NaCl + NaClO + H_2O$.

Pour la désinfection des surfaces et matériels dans les industries, l'hypochlorite de sodium est généralement utilisé à des doses de 100 à 300 ppm de chlore actif. Les préparations antiseptiques de dérivés du chlore comme les liqueurs de Labarraque ou de Dakin sont préparées en partie avec une dilution d'hypochlorite.

Les **chloramines** (chloramine T) permettent d'obtenir des actions plus durables que celles produites par les hypochlorites, mais leur efficacité est moindre. Elles sont surtout utilisées pour la désinfection d'eau de piscines (Cuq, 2007).

2.2.1.1.3. L'iode et ses dérivés

Il s'agit de l'un des désinfectants les plus anciens. Bactéricide et fongicide, il est peu soluble dans l'eau, mais facilement soluble dans l'alcool ou des solutions aqueuses d'iodures de potassium ou de sodium. Les solutions iodo-iodurées (iode et iodure) ou teintures d'iode ou Lugol sont utilisées pour désinfecter les plaies superficielles.

Certains détergents peuvent solubiliser l'iode et lui servir de support : **iodophores**. Les iodophores sont actifs avec 150 ppm d'iode. La solution alcoolique (50%) d'iode à 1500 ppm a une activité sporicide très nette (Cuq, 2007).

2.2.1.2. Les métaux lourds et leurs sels

Certains métaux possèdent un effet microbicide important.

Les sels de métaux lourds les plus utilisés sont les sels d'argent, de mercure, de cuivre, de zinc et d'or. Leur efficacité est plus grande que celle des métaux correspondants. Ils inactivent la cellule en précipitant les molécules protéiques et plus particulièrement celles dotées d'activité enzymatique ou en se combinant avec les groupements SH.

L'argent et certains de ses dérivés permettent la stérilisation des eaux de piscine, et la préparation de pansements antiseptiques (Cuq, 2007).

2.2.1.3. Les alcools

Effet bactéricide et fongicide mais non sporicide.

L'éthanol présente un effet antiseptique maximum pour des dilutions voisines de 50%.

Le méthanol est moins actif et plus nocif. Inhibiteur de la monoamine-oxydase cérébrale avec des lésions irréversibles.

Les alcools supérieurs (propylique, butylique, amylique) ont un pouvoir bactéricide qui augmente avec leur masse molaire, mais leur solubilité dans l'eau diminue parallèlement, ce qui limite leur usage. L'efficacité des alcools est augmentée par association avec du formol (10% final) ou avec de l'hypochlorite de sodium (2000 ppm).

Les alcools (éthanol et propanol) sont efficaces à des concentrations voisines de 70 %. Ils ne sont pas efficaces contre les spores fongiques et sont rapidement inactivés par les protéines (Cuq, 2007).

2.2.1.4. Les phénols

Bactéricide et fongicide, le phénol est peu actif sur les formes sporulées. Son action augmente en présence de sels de sodium ou de potassium. Son action diminue en présence de soude et de matières organiques.

Les solutions de phénols clairs sont utilisées à la concentration de 1 à 5 %, leur stabilité est d'environ une semaine (Cuq, 2007).

2.2.1.5. Les savons et détergents

2.2.1.5.1. Les savons

Leur pouvoir antiseptique varie en fonction des espèces microbiennes. Leur action est essentiellement mécanique. Ils abaissent la tension superficielle et augmentent le pouvoir mouillant de l'eau. Les germes sont éliminés par rinçage.

2.2.1.5.2. Les détergents

- Détergents anioniques comme le laurylsulfate de sodium ou SDS (activité antimicrobienne généralement faible).
- Détergents cationiques. Il s'agit essentiellement d'ammoniums quaternaires (effet le plus net, ils sont bactériostatiques à faibles concentrations) (Cuq, 2007).

2.2.1.6. Les colorants

Il s'agit de substances à pouvoir antiseptique très variable. Ils ne sont utilisés que pour des usages locaux et permettent en microbiologie analytique de fabriquer des milieux de culture sélectifs.

Tableau 7. Action de certains colorants (Cuq, 2007).

Famille	Colorant	Utilisation
Thiazines	Bleu de méthylène	Antiseptique faible
Triphénylméthane	Vert mamachite	Désinfection des plaies
	Vert brillant	
	Violet de méthyle	
Acridine	Violet de gentiane	Antiseptique urinaire
	Trypaflavine	Désinfectants locaux
	Gonacrine	

2.2.1.7. Les conservateurs alimentaires

Un conservateur est un additif incorporé à un aliment dans le but de ralentir l'évolution de sa flore microbienne. Il s'agit, en général, de composés utilisés à faibles doses afin d'éviter tout risque d'ordre toxicologique. La plupart ne sont, dans ces conditions que des bactériostatiques.

2.2.1.7.1. Conservateurs de nature minérale

- **Chlorure de sodium (NaCl)**

Son effet majeur sur les bactéries est d'inhiber la croissance en diminuant l'activité de l'eau A_w , en particulier sur les *Bacilles* Gram-. Seuls les microorganismes halophiles peuvent se développer dans un aliment salé. La salaison est un des procédés de conservation des produits de charcuterie. Ceux-ci sont immergés dans la saumure (Gueroui, 2018 ; Corpet^b, 2014).

- **Nitrates et nitrites**

Nitrates (NO_3) et nitrites (NO_2) de Na ou K (E250 et suiv.). Utilisés en salaison (max 150 ppm) pour inhiber *Clostridium botulinum* (germination et croissance) et pour donner avec la myoglobine une belle couleur rouge et bon gout. Les cas de botulisme sont devenus rares depuis que l'on a recourt à cet additif. L'action inhibitrice est due aux nitrites. Les nitrates sont actifs du fait de leur réduction en nitrites par des bactéries possédant une nitrate-réductase. L'emploi de nitrite; est donc généralement couplé à celui du sel dans les salaisons. Utilisé aussi sur certains fromages (Hollande) pour inhiber la germination des clostridies gazogènes qui les font exploser. Mode d'action antibactérien mal connu (Corpet^b, 2014).

- **Anhydride sulfureux (SO_2) et les sulfites (SO_3)**

Leur emploi est très répandu en œnologie. Ces composés comme le sulfite de sodium (E220) inhibe de nombreuses bactéries et moisissures, les levures sont plus résistantes (Corpet^b, 2014). Ils sont employés pour la conservation de diverses préparations à base de jus de fruits, pêches, tomates pelées, concentrés de fruits, noix, fruits secs...etc (Gueroui, 2018).

2.2.1.7.2. Conservateurs de nature organique

2.2.1.7.2.1. Acides organiques

- **Acides organiques saturés**

- Par acidification de l'aliment qui résulte de leur addition et qui est préjudiciable à de nombreux germes. C'est ainsi que **l'acide acétique et acétates** (E260) : conserve les oignons, les cornichons, les marinades (poisson) dans le vinaigre;

- Du fait de l'action inhibitrice de leur forme ionisée, c'est le cas de **l'acide propionique de calcium** (E280) : antifongique / pâtisseries sous plastique, sans effet sur levure boulanger (Gueroui, 2018 ; Corpet^b, 2014).

- **Acides organiques insaturés**

La présence d'une double liaison accroît l'activité antimicrobienne des acides organiques. Le principal représentant de ce groupe est **l'acide sorbique** (E200) et ses sels de potassium, de sodium ou de calcium. Son action s'étend à un degré moindre aux levures et aux bactéries sporulées dont *C. botulinum*. Il est utilisé pour conserver les corps gras (beurre, margarine, mayonnaise), des jus de fruits, des produits de boulangerie, des pâtisseries (Gueroui, 2018).

- **Acide benzoïque et ses dérivés**

Contrairement aux précédents, **l'acide benzoïque** (E210) sous sa forme ionisée (donc en milieu acide) est surtout actif contre les bactéries et les levures, son action inhibitrice sur les moisissures est moins prononcée.

- **Autres acides organiques**

Les propriétés bactériostatiques de **l'acide citrique** (E330), de **l'acide ascorbique** (E300), de **l'acide tartrique** (E334) sont utilisées dans de nombreux produits pour abaisser le pH, à côté de **l'acide lactique** (E270) pour les produits fermentés (Gueroui, 2018 ; Corpet^b, 2014).

2.2.1.7.3. Condiments et épices

Thym, menthe, poivre, clou de girofle, ail, oignon, citron, huile d'olive contiennent des molécules antimicrobiennes. Leur effet n'est pas très fort, mais s'ajoute aux autres facteurs. Ce sont souvent des anti-oxydants puissants, empêchant le rancissement (Corpet^b, 2014).

2.2.1.8. Les antibiotiques

Certains antibiotiques sont utilisés comme des conservateurs alimentaires : la nisine, la subtiline, la tylosine, la pimarcine, certaines tétracyclines et la polymyxine. Ceux qui sont efficaces sur les spores sont particulièrement intéressants pour les produits non stérilisables (Cuq, 2007).

- **La nisine** : Produite par *Lactococcus lactis*, est ajoutée dans des fromages aux USA pour lutter contre *C. perfringens* et *listeria* (Corpet^a, 2014).
- **La subtiline** : Elle est produite par *Bacillus subtilis*. Elle est active sur les bactéries à Gram positif et sur quelques bactéries à Gram négatif. Son activité sporostatique la fait utiliser dans l'industrie des conserves.
- **La tylosine** : Produite par *Streptomyces fradiae*. est active sur les bactéries à Gram positif sur quelques bactéries à Gram négatif et sur les bacilles alcool-acido-résistants. Son pouvoir sporicide permet son utilisation en conserverie (Cuq, 2007).

La tétracycline : Produite par une bactérie du genre *Streptomyces*. est active contre nombre d'infections bactériennes à Gram positif, Gram négatif et anaérobies, mais aussi contre autres microorganismes : *Chlamydia*, *Mycoplasma* et *Rickettsia*. En Israël on ajoutait de la tétracycline aux fraises (Corpet^b, 2014).

Références

Ait Abdelouahab N. (2001) Microbiologie alimentaire. Alger. Office des Publications Universitaires. Algérie.

Aubry P., Gaüzère B.A. (2020). Les salmonellosis. Cours médecine tropicale, Centre René Labusquière, Institut de Médecine Tropicale, Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux, France, 9 p.

Bazinet L., Castaigne F. (2011). Concepts de génie alimentaire. Procédé associés et applications à la conservation des aliments. Université LAVAL. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. ISBN, pp 571.

Bergeron N. (2009). Caractérisation phénotypique et génotypique d'isolats de *Salmonella Typhimurium* provenant de porcs sains ou septicémiques. Thèse Philosophiae Doctor (Ph.D.) en sciences vétérinaires option microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, 263 p.

Bolotin A., Wincker P., Mauger S., Jaillon O., Malarne K., Weissenbach J., Ehrlich S.D., Sorokin A. (2001). The complete genome sequence of the lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* IL1403. Genome Res 11, 731-753.

Boudjemaa N. (2016). Microbiologie alimentaire, Polycopie du cours Licence-Master, Département de Biologie et Physiologie Cellulaire, Université de Blida 1. 63 p.

Bourel G., Henni S., Krantar K., Oraby M., Divies C., Garmyn D. (2001). Métabolisme sucre-citrate chez *Lenconostoc mesenteroides*. Le lait 81 : 75-82.

Bourgeois C.M., Mescle J.L., Zucca J. (1996). Microbiologie Alimentaire. Tome 1. 2ème édition. Lavoisier, Paris, 672 p.

Bycroft B.W. (1988). Dictionary of antibiotics and related substances. London : Chapman and Hall, 944 p.

Catteau M. (1996). Microbiologie alimentaire Tome 1, aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, Edité par: Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J., TEC & DOC, Paris, 672 p.

Chater K.F. (2006). *Streptomyces* inside out: a new perspective on the bacteria that provide us with antibiotics. Phil. Trans. R. Soc. B, 361, 761-768 p.

Corbel M.J. (2006). Food and Agriculture Organization of the United Nations, W. H. Organization and W. O. f. A. Health. Brucellosis in humans and animals.

Dedet J.P. (2007). La Microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes. Dunod, Paris, 289 p.

Corpet^a D. (2014). Ecologie Microbienne, ENVT Cours HIDAOA poly, France. 27 p.

Corpet^b D. (2014). Bases scientifiques et techniques de la conservation des DAOA : autres procédés de conservation, Autres moyens d'inhiber & détruire les bactéries des aliments. ENVT Cours HIDAOA poly - A3 - Bases scient. & tech. conserv. DAOA, France. 14 p.

De Roissart H., Luquet F.M. (1994). Bactéries lactiques. Aspects fondamentaux et appliqués, Vol 1. Lorica (ed). Uriage/ France.

Desalme A., Quilliot D., Ziegler O. (2004). Les catégories d'aliments. Cah. Nutr. Diét., 39, 3, 217-228.

Djidel Saliha (2017). Production des métabolites, Polycopie du cours Biochimie appliquée, Université Ferhat Abbas de Sétif, 72 p.

Dorel C., Lejeune P., Panoff J.M. (2020). Microbiologie, Encyclopædia Universalis [en ligne], consulté le 19 juin 2020. URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/microbiologie>.

Dupin H., Cuq J.L., Malewiak M.I., Leynaud R.C., Berthier A.M. (1992). Alimentation et nutrition humaines. Paris : ESF éditeur. pp 1533.

Enjalbert F. (1993). Alimentation et composition du lait de vache. Point vet, 25 (156): 769-778.

Favier J.C., Ireland R.J., Toque C., Feinberg M. (1995). Répertoire général des aliments. Table de composition des aliments. CIQUAL INRA, 2e éd, Éditions Lavoisier- Tec & Doc, Paris, 897 p.

Federighi M. (2005). Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène des aliments. 2ed. Economica. Paris, pp 224-233.

Fournaud J. (1982). Type de germes rencontrés aux différents stades de la filière. In : Hygiène et technologie de la viande fraîche. Centre national de la recherche scientifique Editeur, Paris, pp 353.

Garry P. et Le guern L. (1999). Les bactéries lactiques. Bull. Liaison. CTSCCV, 9, (6): 423-429.

Gottlieb D. (1973). General consideration and implication of actinomycétales in actinomycétale characteristics and practical importance edited by G syks and F.A skinner. academic press, London newyork.

Gueroui Y. (2018). Aspect Microbiologique de la Sécurité et de la Qualité, Polycopie du cours Qualité des produits et sécurité alimentaire, Université 8 mai 1945-Guelma, 105 p.

Guiraud J.P. (1998). Microbiologie alimentaire, DUNOD, Paris. 652 p.

Harir M., Bellahcen M., Baratto M.C., Pollini S., Rossolini G. M., Trabalzini L., Fatarella E., Pogni R. (2018). Isolation and characterization of a novel tyrosinase produced by sahara soil actinobacteria and immobilization on nylon nanofiber membranes. Journal of Biotechnol. 10; 265:54-64.

Holzapfel W.H., Haberer P., Geisen R., Bjorkroth J., Chillinger U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am J Clin Nutr (73): 365S-373S.

Jean-Louis Cuq (2007). Microbiologie alimentaire. Université Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc, Polytech'Montpellier, France. 134 p.

Kihal M. (1996). Etude de la production du dioxyde de carbone par *Leuconostoc mesenteroides*, éléments d'application en technologie fromagère type fromage bleu. Thèse de Doctorat. Université d'Oran.

Kimmons J.E., Brown K.H., Lartey A., Collison E., Mensah P.P., Dewey K.G. (1999). The effects of fermentation and/or vacuum flask storage on the presence of coliforms in complementary foods prepared in Ghana. Int. J. Food Sci. Nutr., 50, 195-201.

Kooh et Lailier R. (2006). Fiche de description de danger transmissible par les aliments: *Brucella spp.* Afssa : Agence Française de sécurité des produits alimentaires, pp 1-4.

Kurtzman C.P., Fell J.W. (2006). Yeast systematics and phylogeny - Implications of molecular identification methods for studies in ecology. In : C. Rosa., G. Péter (Eds), Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts. Springer-Verlag, Berlin, pp. 11-30.

Lacasse D. (2002). Introduction à la microbiologie alimentaire. Éditeur Saint-Martin, 792 p.

Larpent J.P. (1990). Biotechnologie des levures masson, Paris. P 132-315.

Lechevalier M.P. (1988). Actinomycètes in agriculture and forestry. In : Actinomycetes in

Biotechnology. Goodfellow, M.G., Williams, S.T. and Modarski, M. Ed., Academic Press London, New-York, 327 – 358 pp.

Leveau J.Y., Bouixmriell E et De-roissart H. (1991). La flore lactique In Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire. Bourgeois C.M., Leveau JY. Tec & Doc, Lavoisier, 52-186.

Leyral, G., Vierling, E. (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: Hygiène et sécurité alimentaires. Wolters Kluwer, France. 287p.

Luquet F.M. (1990). Lait et produits laitiers: vache, brebis, chèvre. volumes2, transformation et technologie (2ed)., technique et documentation, Lavoisier. Paris, pp 664.

Madigan M, Martinko J. (2007). Biologie des microorganismes. Person Education France.11 edition, Paris, pp 1047.

Martin A. (2001). Apports nutritionnels conseillés pour la population française, 3e éd., Tec & Doc, Lavoisier, Paris, pp 660.

Meklat A., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Sproer C., Klenk H.P, Sabaou N. (2012). *Actinopolyspora algeriensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a Saharan soil. Extremophiles, 16:771–776.

Mensah P., Tomkins A.M., Drasar B.S., Harrison T.J., (1990). Fermentation of cereals for reduction of bacterial contamination of weaning foods in Ghana. Lancet, 336, 140-143.

Meyer A., J. Deiana et H. Leclerc. (1984). Cours de microbiologie alimentaire. Doin éditeur. Paris, pp 307.

Nouioui I. (2014). Phylogénie et évolution de genre *Frankia*. Thèse de Doctorat, Biologie végétale. Université Claude Bernard, Lyon I, 102 p.

Nsren A. (2010). Etude comparative des procédés de séchage couplés à la texturation par Détente Instantanée Contrôlée DIC, en termes de cinétique et de qualité nutritionnelle. Applications à la valorisation des déchets agro-industriels. Thèse de Docteur de L'Université de La Rochelle. Discipline: Génie des Procédés Industriels, pp 52.

OMS. (2011). Lait et produits laitiers, codex alimentaire, 2ed FAO et OMS, Rome, pp 226.

Parthasarathi S., Kim C.J., Lee J.C., Sathya S., Manikandan M., Manikandan T., Balakrishnan K. (2011). Taxonomic characterization and UV/VIS analysis of antagonistic marine actinomycete

isolated from South Pacific Coast of Philippines. Int. J. Med. Res., 1, 99-105 p.

Patrignani F., Lanciotti R., Mathara J.M., Guerzoni M.E., Holzapfel W.H. (2006). Potential of functional strains, isolated from traditional Maasai milk, as starters for the fermented food. Dairy Products, 32-45-01.

Pennec Y.L., Garré M. (2003). Salmonelloses de l'adulte. EMC – Maladies Infectieuses, 8-018-A-15, 9 p.

Piar, G., Lanoisellé, J.L. (2000). Appertisation des denrées alimentaires. In Colloque annuel-SFT (pp. 3-33).

Prescott L.M., J.P. Harley, D. Klein, J.M.Wiley, L.M. Sherwood et C.J. Woolverton. (2010). Microbiologie. 3^{ème} édition, Groupe de Boeck s.a. Bruxelles.

Rambaud J.C. (2004). Flore microbienne intestinale: Physiologie et pathologie digestives. Edit John Libbey Eurotext, Paris, 247 p.

Reed G. (1981). Use of microbial cultures: Yeast products. Food Technol. 35: 89–94.

Reski-Bekki M.A. (2014). Production de metabolites par les levures: caractérisation et identification des arômes et des alcools. Thèse de doctorat, Université d'Oran. Algérie.

Roberts T.A. (1999). Predictive microbiology applied to chilled food preservation. In: La microbiologie prévisionnelle appliquée à la conservation des aliments réfrigérés, Office des publications officielles des Communautés européennes Editeur, Luxembourg, pp 333.

Ross R.P., Morgan S., Hill C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. Int J Food Microbiol, 79 : 3-16.

Schleifer K.H., Ludwig W. (1995). Phylogeny of the genus *Lactobacillus* and related genera. System Appl Microbiol 18, 461-467.

Scholz H.C., Banai M., Cloeckert A., Kämpfer P., Whatmore A. M. (2018). Brucella. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria: 1-38 p.

Singleton P. (1999). Bactériologie. 4^{ème} Edition, Dunod, Paris. 415 p.

Suh S.O., Kurtzman, C. P., Lachane, M. (2006). Phylogenetics of Saccharomycetales, the Ascomycete yeasts. Mycologia, 98: 1006-1017.

Sutra L., Federighi M., Jouve J. (1998). Manuel de bactériologie alimentaire, polytechnica.

570 p.

Thu H.T.N. (2008). Étude de la flore lactique du nem chua, produit carné fermenté cru traditionnel du sud Vietnam et maîtrise du processus de fermentation par ajout de souches lactiques sélectionnées spécifiques du produit, Thèse de Doctorat, Spécialité : Sciences des Aliments et Nutrition, l'Université Bordeaux 1, France, 201 p.

Walker G.M. (2009). Yeasts. University of Abertay Dundee, Dundee, Scotland. Elsevier Inc. 1174-1187.

Williams P.G. (2009). Panning for chemical gold: marine bacteria as a source of new therapeutics. Trends Biotechnol., 27, 45-52 p.

Zhang H., Cai Y. (2014). Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. Springer Dordrecht Heidelberg New York London, P: 535.