

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique**

**Centre Universitaire de Mila**

**Institut des Sciences et de la Technologie**

**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Polycopié Cours de  
Microbiologie Alimentaire**

**Auteur : Dr. Abdelhafid BOUBENDIR**

**2014**

## **Préface**

Ce cours est la synthèse d'années d'enseignement de Microbiologie Générale, Microbiologie Alimentaire, Biochimie Microbienne et Génétique Microbienne. Il est destiné à supporter l'apprentissage de Microbiologie par l'étudiant de Licence en Tronc commun de Biologie en générale et de troisième année de Spécialité Microbiologie ou Biochimie en particulier, ainsi qu'aux étudiants de Master en Biologie. D'autre part, ce document pourrait aider les étudiants des Sciences Médicales, d'agro-alimentaire et de nutrition 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.

Abdelhafid BOUBENDIR

Docteur Microbiologiste

Email : [a.hafid.bio@gmail.com](mailto:a.hafid.bio@gmail.com)

<b>Introduction générale</b>	5
<b>Chapitre I : Rappel sur la classification des microorganismes</b>	7
Les proportions de GC (% de GC)	8
L'hybridation ADN-ADN	8
<b>Chapitre II : Les intoxications alimentaires</b>	10
<b>Chapitre III : Les grands groupes microbiens intéressants la microbiologie alimentaire</b>	13
<b>1. Les bactéries lactiques</b>	13
1.1. Métabolisme général des bactéries lactiques	13
1.1.1. Définition du métabolisme	13
1.1.2. Enzymes et métabolisme	14
1.1.3. Voies du catabolisme des sucres	14
1.2. Les exigences nutritionnelles des bactéries lactiques	16
1.3. Taxonomie	17
1.3.1. Les cocci	17
1.3.2. Les bacilli	20
1.4. Rôle des bactéries lactiques dans l'alimentation	22
1.5. Culture	23
<b>2. Les Entérobactéries</b>	24
2.1. Caractères généraux du groupe	24
2.2. Classification et identification	24
3. Culture	27
<b>3. Les microcoques</b>	28
<b>4. Les bactéries sporulées</b>	29
4.1. Les bactéries sporulées aérobies: Genre <i>Bacillus</i>	29
4.2. Les bactéries sporulées anaérobies: Genre <i>Clostridium</i>	29
<b>5. Les levures</b>	31
5.1. Caractères généraux et taxonomie	31
5.2. Rôle dans l'alimentation	32
<b>6. Les moisissures</b>	33
6.1. Caractères généraux et taxonomie	33

6.2. Rôle dans l'alimentation	33
<b>Chapitre IV : Les altérations microbiennes des aliments et les moyens de lutte</b>	<b>35</b>
<b>1. Les facteurs influençant la flore d'altération des aliments</b>	<b>35</b>
1.1. Les conditions nutritives	35
1.2. Les conditions physico-chimiques	36
1.2.1. La température	36
1.2.2. Le pH	37
1.2.3. L'activité de l'eau	38
<b>2. Les moyens de lutte</b>	<b>40</b>
2.1. Moyens physiques	40
2.1.1. La température	40
2.1.2. La déshydratation	42
2.2. Moyens chimiques	42
<b>Chapitre V : Exemples d'aliments</b>	<b>43</b>
1. Les olives fermentées	43
2. L'ensilage	44
<b>Références</b>	<b>45</b>

## **Introduction générale**

L'existence des microorganismes date de la création de l'univers mais leur révélation est relativement récente (Van Leeuwenhoek, 1632-1723). Le développement récent de la biologie moléculaire a montré que le monde des microorganismes est de plus en plus immense et sans limite, que ce soit du point de vue biodiversité ou complexité et multitude des voies métaboliques empruntées par ces organismes.

Dans le langage commun le terme microbe désigne souvent cet être qui fait du mal à l'homme. Cependant, c'est un élément indispensable à la vie sur terre et aussi un allier utile. Les microorganismes sont des êtres ubiquistes, présents dans l'eau, le sol, l'air et même nos aliments. L'aliment qui est un être vivant ou une partie de lui est un écosystème favorable au développement d'une multitude de germes : bactéries, champignons, protozoaires, virus et agents subviraux, assurant ainsi leurs sources d'énergie et de carbone et trouvant les conditions idéales pour leur survie. Habitants commensaux ou pathogènes des hôtes animales et végétales, saprophytes des eaux et du sol, les microorganismes arrivent par tous les chemins à l'alimentation de l'homme, des animaux et même des insectes.

En effet, l'aliment est contaminé par les microorganismes depuis l'environnement de production : ferme d'élevage animal, champ d'agriculture ou eaux de pêche, etc. ; l'environnement industriel : matériel, manipulateur, chaîne de froid, etc. ; pour finir dans les étagères de vente commerciale au niveau du consommateur. La discipline de la microbiologie alimentaire est d'autant importante et nécessaire vue le développement des industries agro-alimentaires, le grand échange commerciale alimentaire régionale et mondiale.

La première partie de ce cours, décrit les principaux groupes de microorganismes contaminants les aliments, 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.

La deuxième 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. Enfin, une dernière partie, aborde quelques exemples d'aliments fermentés les plus importants dans la consommation quotidienne humaine et animale.

## Chapitre I :

### Rappel sur la classification des microorganismes

La taxinomie ou science de la classification est à la base de toute démarche d'identification. Traditionnellement, les types biologiques sont classés en espèces, genre, famille, ordre, classe, phylum, domaine. En pratique ce sont les notions de genre et d'espèce qui sont surtout utilisées en microbiologie ainsi que les subdivisions au sein d'une espèce: sous-espèce (subsp), sérotype, lysotype, pathotype, biotype, souche, etc. La répartition en espèces et leur classification peuvent être réalisées en fonction de divers critères : phénotypiques, génotypiques et chimiotaxinomiques [8].

Les bactéries peuvent se différenciées par leur caractères *phénotypique*, par exemple leur forme, leur taille ou leur structure, par leurs activités chimiques, par les éléments nutritifs qui leur sont nécessaires, par la forme de l'énergie qu'elles utilisent, par les conditions physiques dans lesquelles elles peuvent croître, par leur réactions à certains colorants. La classification moderne, *phylogénétique* des procaryotes se base sur des critères moléculaires : les organismes sont classés principalement selon les différences (ou les similitudes) de leurs acides nucléiques [1].

La phylogénétique est l'étude des relations évolutionnaire entre les organismes, les caractères phénotypiques des microbes ont fournis peu d'informations sur la phylogénie microbienne. Récemment, la comparaison des séquences entre macromolécules à fonctions homologues entre différentes espèces a permis une analyse de la distance évolutionnaire. L'étude de l'ARN 16S ribosomal a été exceptionnellement bénéfique à cet égard [6]. Parmi les techniques génotypiques nous citons :

## 1. Les proportions de GC (% de GC)

Dans l'ADN, la proportion de GC (% GC) est la quantité de guanine et de cytosine exprimée en pourcents du total des bases azotées :

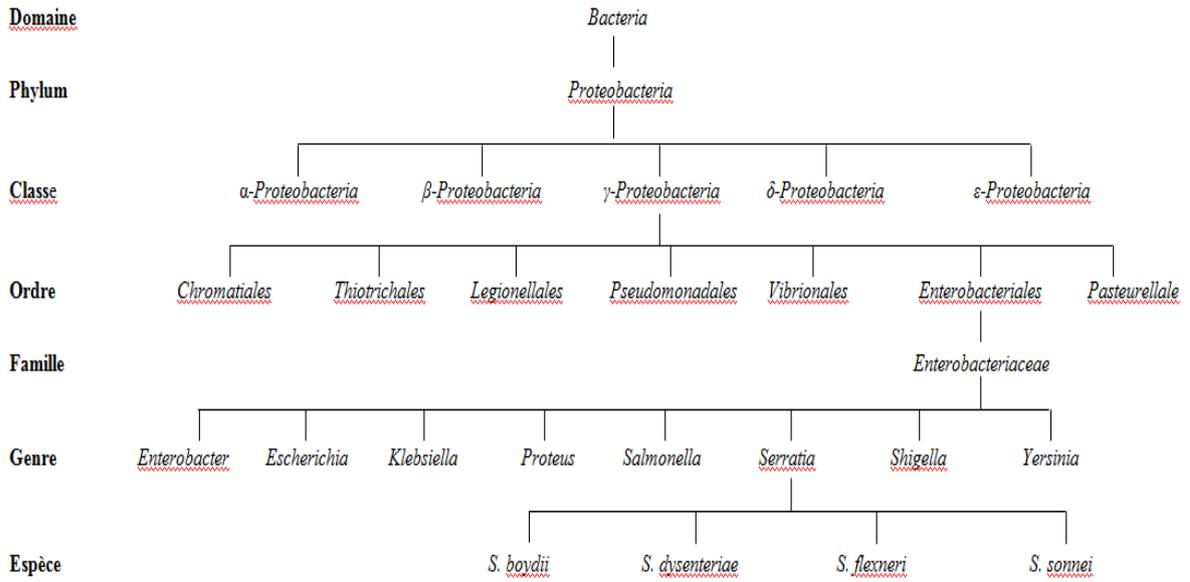
$$(\text{guanine} + \text{cytosine}) / (\text{guanine} + \text{cytosine} + \text{adénine} + \text{thymine}) \times 100 \%$$

Des valeurs similaires de % de GC ne sont pas nécessairement le signe d'une relation taxinomique étroite, tandis que des valeurs fortement différentes suggèrent l'absence d'une telle relation. Parmi les bactéries, le % de GC varie de 24 à 76 [1, 6].

## 2. L'hybridation ADN-ADN

Dans cette méthode, l'ADN de deux organismes différents sont comparés en déterminant dans quelle mesure les deux échantillons peuvent s'hybrider (par *hybridation*, on entend l'appariement des bases, entre brins issus d'organismes différents). Plus grand est le degré d'hybridation, plus étroite est la relation entre les organismes. La méthode convient pour étudier les parentés au niveau de l'espèce. Des organismes dont les ADN montrent >70 % d'hybridation stable, pourraient être placés dans la même espèce [1, 6].

Les microbiologistes utilisent la *taxonomie microbienne* (Figure 1). La taxonomie microbienne communément appelée *taxonomie procaryotique*, la plus largement acceptée est celle du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, publiée la première fois en 1923 par l'*American Society for Microbiology* [9].



**Figure 1 :**  
La taxinomie microbienne [9].

## Chapitre II : Les intoxications alimentaires

Les termes empoisonnement alimentaire ou intoxication s'appliquent aux *gastro-entérites* aiguës provoquées par l'ingestion d'aliments contaminés par certains pathogènes et/ou par des toxines (Tableau 1) [1].

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 [10].

Le pouvoir pathogène des bactéries peut dépendre de plusieurs facteurs. Il existe des espèces à pouvoir infectieux qui agissent par envahissement de l'hôte (*infection*) ; des espèces à pouvoir toxigène qui libèrent des toxines dans l'aliment (*intoxication*); des espèces à caractère mixte qui peuvent provoquer des *toxi-infections*; enfin d'autres espèces qui agissent par la transformation du substrat qu'elles rendent toxique, produisant ainsi des intoxications. Les intoxications alimentaires les plus répandues sont les suivantes (pour plus de détail se référer au chapitre: Classification des microorganismes intéressant la microbiologie alimentaire) [8]:

### Le choléra

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) [1, 10].

### Le botulisme

Le botulisme consiste en une paralysie musculaire et la mort peut survenir suite à une défaillance mécanique (musculaire) du système respiratoire. L'agent pathogène (des souches de *Clostridium botulinum*) synthétise un type d'exotoxine -une *neurotoxine*- qui agit sur les jonctions neuromusculaires, inhibant la libération d'acétylcholine et par conséquent, la stimulation nerveuse du muscle. La maladie peut provenir de l'ingestion de

toxine préformée, habituellement dans une nourriture contaminée, comme des viandes cuites, de la saucisse et des légumes mal conservés. Il n'est pas donc nécessaire d'ingérer l'agent pathogène lui même pour contracter le botulisme [1, 10].

### **L'intoxication staphylococcique**

L'intoxication alimentaire staphylococcique est due à des *entérotoxines* produites par plusieurs espèces de *Staphylococcus* (principalement *S. aureus*). Il y a cinq types de toxines (les types A à E) qui, de façon caractéristique, provoquent des vomissements, et souvent de la diarrhée, peu de temps après l'ingestion de la nourriture contaminée.

Les toxines sont thermostables et ne sont pas inactivées par le chauffage ou la cuisson de l'aliment. Les toxines sont stables aussi aux pH extrêmes, à l'action des protéases et des radiations. De ce fait une fois formées dans l'aliment, elles sont impossibles à enlevées [10].

### **La typhoïde**

La typhoïde, provoquée par *Salmonella typhi*, se manifeste par des symptômes intestinaux et une septicémie. Une fois ingéré, l'agent pathogène pénètre la muqueuse intestinale, envahi le flux sanguin (via le système lymphatique) et se multiplie, par exemple, dans le foie, la vésicule biliaire et la rate. L'inflammation intestinale peut être tellement forte qu'elle provoque perforation et hémorragie. L'absence de traitement aboutit à la mort dans 30% des cas, le temps d'incubation est usuellement entre 5-25 jours, et il est plus court si l'inoculum est important [1].

Tableau 1 : Quelques uns des principaux types d'empoisonnement alimentaire [1].

Agent causale	Aliments communément impliqués	Période d'incubation ; principaux symptômes ; commentaires
<i>Bacillus cereus</i>	Plats de viande non réfrigérés ; épices contaminées Riz cuit, stocké sans réfrigération	8-16 heures ; diarrhée, douleur abdominale, nausée 1-7 heures ; vomissement, douleur abdominale, nausées
<i>Clostridium botulinum</i>	Viande, poisson ; champignons mis en conserve à la maison	
Sérotypes de <i>Salmonella</i>	Volaille (incluant la contamination croisée venant de volaille crue) ; œufs	12-48 heures ; douleur abdominale, vomissements, fièvre
<i>Staphylococcus aureus</i>	Divers (jambon, crèmes, desserts, sandwiches, volaille, etc.)	< 1-6 heures ; nausée, vomissements, douleur abdominale, souvent diarrhée ; les entérotoxines staphylococciques peuvent supportées 100°C pendant un certains temps ; la source de contamination est souvent une personne qui a manipulée la nourriture
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Viande, lait	Fièvre, diarrhée, douleur abdominale, vomissements, le pathogène peut croître à 4°C et moins.

## **Chapitre III**

### **Les grands groupes microbiens intéressants la microbiologie alimentaire**

#### **1. Les bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques sont des cocci ou des bâtonnets Gram+, catalase-. Elles synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides. Les bactéries lactiques sont en général aérotolérantes. Cependant certaines espèces, habitants le tube digestif des animaux sont anaérobies strictes. Même en présence d'O<sub>2</sub> elles sont incapables de réaliser la phosphorylation oxydative. L'absence de catalase est caractéristique, mais certaines espèces acquièrent une pseudo catalase [2].

#### **1.1. Métabolisme général des bactéries lactiques**

##### **1.1.1. Définition du métabolisme**

Le métabolisme d'une cellule vivante est l'ensemble des réactions de dégradation (catabolisme) et de synthèse (anabolisme) permettant d'établir un cycle d'échanges avec le milieu environnant pour assurer sa survie, sa croissance et sa reproduction. Les réactions cataboliques sont exergoniques, c'est-à-dire qu'elles libèrent de l'énergie, alors que les réactions anaboliques sont endergoniques c'est-à-dire qu'elles consomment de l'énergie [11].

Le métabolisme énergétique des bactéries lactiques s'effectue donc par un enchaînement de réactions couplées de déshydrogénation et d'hydrogénation, faisant intervenir un donneur initial qui est généralement un sucre, un accepteur final qui est le plus souvent le pyruvate, est des intermédiaires de transport d'électrons qui sont des coenzymes associés à des déshydrogénases. La biosynthèse (ou anabolisme) est une suite de réactions de polymérisation donnant naissance à de longues chaînes moléculaires linéaires et ramifiées (polynucléotides, polysaccharides, polypeptides, etc.) qu'on appelle macromolécules et qui entrent dans la composition des structures essentielles des cellules bactériennes (appareil nucléaire, paroi, membrane, cytoplasme) [11].

### 1.1.2 Enzymes et métabolisme

Les bactéries lactiques sont équipées d'un grand nombre d'enzymes différentes qui peuvent être classées selon les critères suivants :

- Leur localisation dans la bactérie : certaines enzymes sont disposées à la surface des cellules, elles y restent fixées ou diffusent dans le milieu pour y dégrader les grosses molécules incapables de traverser la membrane bactérienne ; tandis que d'autres restent dans le cytoplasme ou elles participent à de nombreuses réactions métaboliques.

-Le type de réaction qu'elles catalysent : 1. oxydoréductases; 2. Transférases; 3. Hydrolases; 4. Lyases ; 5. Isomérases ; 6. ligases.

-Le substrat qu'elles dégradent: lactase, citratase, protéinases, peptidases, etc. qui fractionnent spécifiquement le lactose, les citrates, les protéines, les peptides, etc. [4].

### 1.1.3. Voies du catabolisme des sucres

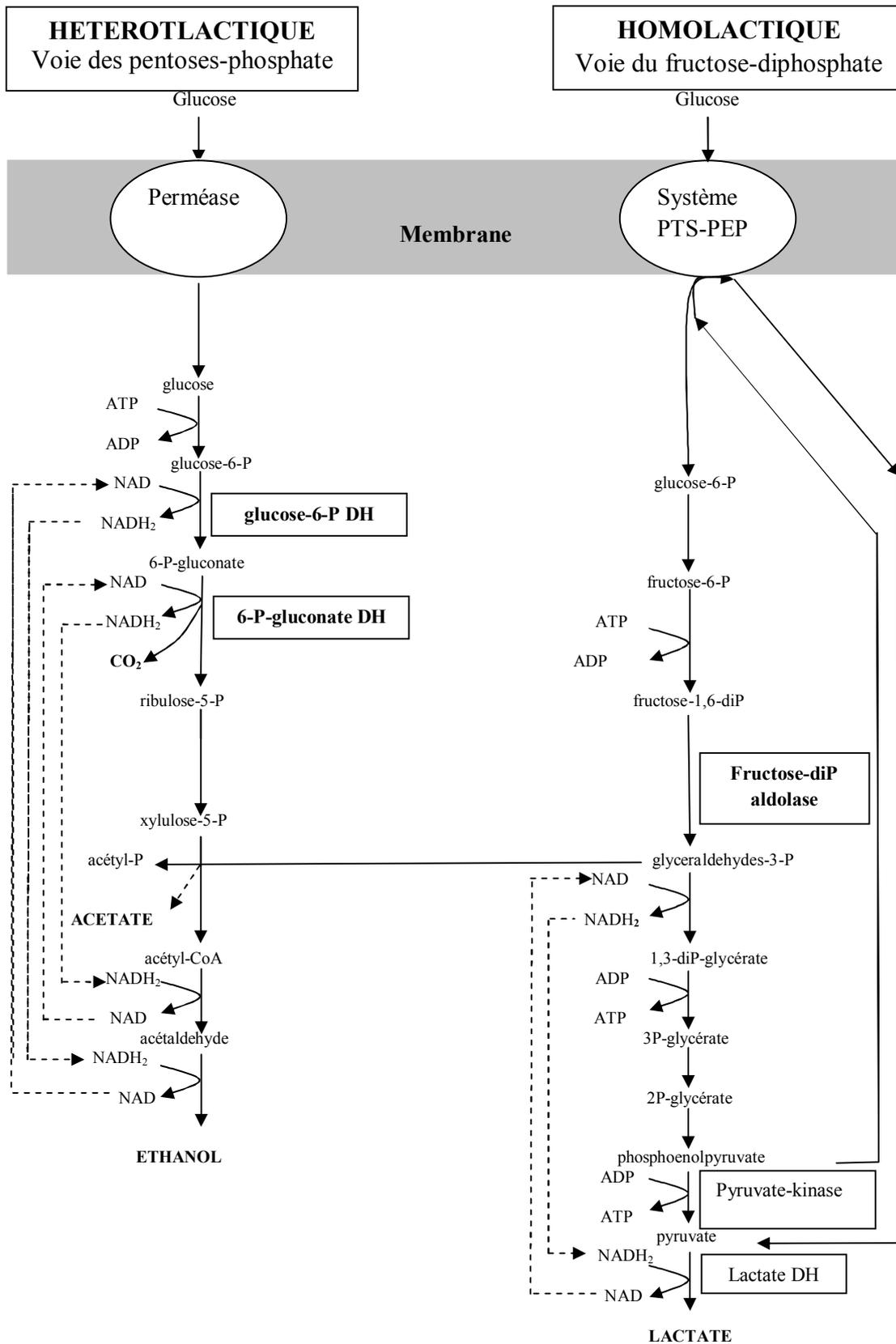
Selon l'espèce bactérienne et les conditions de culture, le catabolisme du glucose peut suivre une voie homofermentaire ou une voie hétérofermentaire (Figure 2).

- Les bactéries lactiques homofermentaires transforment une molécule de glucose en deux molécules de lactate par la voie des hexoses-diphosphates (encore appelée la glycolyse d'EMBDEN-MEYERHOFF-PARNAS) et génèrent parallèlement deux molécules d'ATP et du NADH<sub>2</sub> qui est réoxydé en NAD pour assurer la poursuite du processus fermentaire (Figure 2) [4].



- Les bactéries lactiques hétérofermentaires transforment une molécule de glucose par la voie des pentoses-phosphates (encore appelée voie 6P-gluconate) en une molécule de CO<sub>2</sub> et une molécule d'éthanol ou d'acétate et génèrent parallèlement deux molécules d'ATP et du NADH<sub>2</sub> qui est réoxydé en NAD pour assurer la poursuite du processus fermentaire (Figure 2).





**Figure 2 : Transport et catabolisme du glucose par les bactéries lactiques [4].**

**(A droite)** La voie homolactique produit 2 moles d'ATP et de lactate par mole de glucose dégradé.

**(A gauche)** La voie hétérolactique produit 1 mole d'ATP et de lactate et 1 mole de CO<sub>2</sub> et d'éthanol ou d'acétate par mole de glucose dégradé.

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) [4].

### **1.2. Les exigences nutritionnelles des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques ont une faible aptitude biosynthétique et sont en principe, incapables d'assimiler directement les principaux précurseurs de l'environnement terrestre. Elles ont besoin de molécules intermédiaires provenant de la biosynthèse végétale, à savoir : des sucres simples, des acides aminés, des nucléotides, et des acides gras. Elles peuvent toute fois tirer profit de molécules plus complexes provenant de la biosynthèse végétale ou animale telles que des polysaccharides, des polypeptides et des lipides, à condition de pouvoir les fractionner en molécules intermédiaires assimilables. Si les bactéries lactiques sont considérées comme un des groupes bactériens les plus exigeants du point de vue nutritionnel, c'est parce qu'elles requièrent non seulement des substrats complexes carbonés, azotés, phosphatés et soufrés, mais aussi des facteurs de croissance comme les vitamines et les cations qui ont un rôle de coenzyme [2, 8].

### 1.3. Taxonomie

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

#### 1.3.1. Les cocci

Les *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc* sont des cocci sphériques ou ovoïdes, en paires, en chaînettes ou en tétrades, en général immobiles (sauf *Ec. casseliflavus*). Le métabolisme est fermentaire et peut donner à partir des glucides, de l'acide lactique ou un mélange d'acide lactique, acétique, formique de l'éthanol et du CO<sub>2</sub> (*Leuconostoc*). Les besoins nutritionnels sont souvent complexes, la catalase est absente (parfois variable chez *Pediococcus*) [2, 8].

Les genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* (Tableau 2) ont été anciennement regroupés en un genre unique *Streptococcus*. Ce sont des germes anaérobies facultatifs, généralement microaérophiles. Ils se développent bien à 37 C°. La plus part des espèces ne sont pas capsulées. Ils ont fréquemment un pouvoir hémolytique et peuvent être regroupés par des tests sérologiques. Certaines espèces sont pathogènes en dehors du cadre alimentaire ; elles peuvent cependant se trouver dans les aliments (Streptocoques des mammites dans le lait) et provoquer des infections. De nombreuses espèces sont saprophytes, en particulier dans les produits laitiers. Certaines espèces sont abondamment utilisées dans les industries de fermentation lactique (laiterie, beurrerie, fromagerie, mais aussi saumures et salaisons. Ce sont les agents d'acidification et de coagulation lactiques en fromagerie. Les Streptocoques ont été classés au départ en quatre groupes d'espèces de *Streptococcus* selon les critères de Shermann [2, 8]:

- **Le groupe pyogenes** contient des streptocoques pathogènes, hémolytiques (hémolyse  $\beta$ ) et appartenant aux groupes sérologiques de Lancfield A B C E F G H. L'espèce type est *S. pyogenes* (groupe A). Après 1 à 3 jours d'incubation, les troubles se manifestent par des maux de gorge, céphalées, vomissement et fièvre. Les aliments incriminés sont le lait, les œufs et crèmes glacées, les pâtisseries. L'espèce *S. agalactiae* (groupe B), agent de mammites, est parfois rencontrée dans l'alimentation.

- **Le groupe viridans** comprend les streptocoques à hémolyse  $\alpha$  ou  $\gamma$  (groupe K). L'espèce *S. thermophilus* est un agent d'acidification fréquent dans certains fromages et surtout les yaourts.

- **Le groupe lactique** comprend les streptocoques non hémolytique ( $\gamma$ ), appartenant au groupe sérologique N et contient des espèces très importantes en fromagerie, *S. lactis* et *S. cremoris* désormais appelé *Lactococcus lactis*, *Lc. cremoris*.

- **Le groupe des entérocoques** est le groupe des streptocoques fécaux appartenant au groupe sérologique D. Ce sont des commensaux de l'intestin à hémolyse  $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ . Les germes les plus rencontrés en alimentation sont essentiellement *S. faecalis*, *S. durans* et *S. bovis*, ils sont maintenant classés comme *Enterococcus*. Ce sont des germes test de contamination fécale, ils ne sont qu'exceptionnellement pathogènes, ce sont alors des pathogènes opportunistes avec des doses infectantes fortes ( $10^8$  à  $10^{10}$  cellules). *Enterococcus faecalis* résiste à 6.5 % de NaCl et 30 minutes à 60 C° [2, 8].

### **Le genre *Leuconostoc***

Les *Leuconostoc* sont des cellules Gram-positives : coccoïdes, par paires ou par chaînettes. Non mobiles, asporulées, anaérobies facultatives. Leurs métabolisme est fermentatif et respiratoire. En anaérobiose, elles fermentent le glucose principalement en acide lactique, éthanol et CO<sub>2</sub> (fermentation hétérolactique). Elles sont généralement capsulées ce qui entraîne l'apparition d'une viscosité dans le milieu. Elles ne sont pas hémolytiques ni pathogènes. Elles produisent des accidents de fabrication dans les produits acides et sucrés (piqûre lactique gazogène, viscosité), dans certains fromages (bleus) elles facilitent l'ouverture par la production de CO<sub>2</sub>. Elles interviennent aussi dans les ensilages (*L. mesenteroides*) et les végétaux fermentés : les olives, la choucroute, etc., mais aussi le cacao et le café. Elles se trouvent notamment sur divers produits laitiers et boissons fermentées. Le pourcentage G+C est environ 38 à 44. L'espèce type est : *L. mesenteroides* [1, 8].

**Tableau 2:** Caractères biochimiques de quelques Cocci [8]

	Groupe sérologique	G + C %	Croissance							Production de :					
			Mobilité	NaCl 2 %	NaCl 4 %	NaCl 6,5 %	10 °C	40 °C	45 °C	Hippurate	Arginine dihydrolase	α-galactosidase	β-galactosidase	Phosphatase alcaline	Ucraze:Proskauer
<i>Lc. lactis ssp. cremoris</i>	N	35-36	-	+	-		+	-	-	+	-	-	-	-	+
<i>Lc. lactis ssp. lactis</i>	N	34-36	-		+		+	+	-	+	+	-	-	-	±
<i>Vc. fluvialis</i>	N	33-34	+	±	+	-	+	+	-	-	±	-	±	-	-
<i>Sc. thermophilus</i>	K	37-40	-		-		-	+	+	-	-	-	+	-	+

*Lc* : *Lactococcus* ; *Vc* : *Vagococcus* ; *Sc* : *Streptococcus*.

### 1.3.2 Les bacilli

Les *Lactobacillus* et les *Carnobacterium* sont des bactéries Gram+, pléomorphes, asporogènes, immobiles (sauf *Lb. agilis*). Oxydase et catalase-, pour la plupart aérotolérants, saccharoclastiques, nitrate-, gélatine-, caséine-, indole-, H<sub>2</sub>S-, pigmentation-. Certaines souches possèdent une pseudocatalase. Leur GC % varie de 32 à 53 % (Tableau 3) [1, 8].

#### **Le genre *Lactobacillus***

Ce genre contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants. Il s'agit de bacilles souvent allongés ou coccobacilles, Gram+, asporulés, parfois groupés en paires ou en chaînes, généralement immobiles. Anaérobies, microaérophiles ou aérobies facultatifs. 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*). Ils sont acidophiles, peut protéolytiques et peut lypolytiques. 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. L'espèce type est : *Lb. delbrueckii* [1, 8].

#### **Le genre *Bifidobacterium***

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. Ces bactéries sont des bâtonnets de morphologie variées, cellules courtes, coccoidales, cellules ramifiées, bifurquées, spatulées, isolées ou en chaînes, disposition en V ou en palissade. Ces bactéries sont Gram+, non acido-alcool-résistantes, non sporulées, immobiles, anaérobies, bien que quelques espèces tolèrent l'O<sub>2</sub> en présence de CO<sub>2</sub>. Le genre est caractérisé par la présence d'une enzyme : la fructose-6-phosphate phosphocétolase. 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

Tableau 3: Caractéristiques biochimiques de quelques Bacilli [8].

Espèces	G + C %	Isomère Acide Lactique	Arginine d'hydrolase	Mobilité	Croissance		Hydrolyse de l'esculine	Production d'acide à partir de :								
					15°C	45°C		Amidon	Cellobiose	Fructose	Galactose	Glucose	Lactose	Rhamnose	Saccharose	
					<i>Lb. acidophilus</i>	34-73		DL	-	-	-	+	+	±	+	±
<i>Lb. delbrueckii</i> <i>ssp. bulgaricus</i>	50	D (-)	-	-	-	+	-		-	+	-	+	+	+	-	-
<i>Lb. ruminis</i>	44-47	L (+)	-	+	-	+	+		+	+	+	+	+	±	-	+
<i>Lb. casei</i>	45-47	L (+)	-	-	+	±	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>Lb. plantarum</i>	44-46	DL	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Lb. rhamnosus</i>	45-47	L (+)	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Lb. brevis</i>	44-47	DL	+	-	+	-	±	-	-	+	±			±	-	±
<i>Lb. fermentum</i>	52-54	DL	+	-	-	+	-		±	+	+			+	-	+

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. L'acide butyrique et propionique ne sont pas produits. Les espèces en général sont catalase-. La présence d' $\alpha$ -galactosidase différencie rapidement les *Bifidobacterium* des *Lactobacillus*. Le GC % est de 57,2-64,5 % [2].

Les *Bifidobacterium* ainsi que les espèces de *Lactobacillus* peuvent avoir une fonction préventive contre la colonisation par les entéropathogènes. *Bifidobacterium* anciennement *Lactobacillus bifidus* 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 [8].

#### 1.4. Rôle des bactéries lactiques dans l'alimentation

Le pH normal du lait est de 6,6, la croissance des bactéries lactiques se traduit par une acidification du milieu entraînant la coagulation de la caséine, à partir du pH 4,6 on obtient ainsi le caillé. La viscosité du lait peut être modifiée par les capsules mucilagineuses de quelques bactéries telles que *Leuconostoc* spp. Les bactéries lactiques produisent une variété de substances impliquées dans la flaveur : acétoïne, acétaldéhyde, acétone, éthanol, diacétyl. Ces substances contribuent aux caractères organoleptiques des produits laitiers. On a également 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 [2, 4].

Les potentialités inhibitrices des bactéries lactiques sont importantes. Le phénomène d'inhibition peut inclure un ou plusieurs mécanismes : compétition nutritionnelle, changement physico-chimique du milieu (pH, formation d'agents réducteurs), formation de produits antimicrobiens à large spectre (acides organiques, peroxyde d'hydrogène) et production de bactériocines [2, 4].

Les bactéries lactiques interviennent aussi par l'amélioration de la digestibilité et des qualités sensorielles des produits de fermentations, en libérant des enzymes exocellulaires et, après leur lyse, des enzymes endocellulaires [2, 4].

### 1.5. Culture

Vue les exigences nutritionnelles variées et multiples des bactéries lactiques elles sont cultivées sur des milieux spécifiques enrichis par des digestions enzymatiques de divers protéines d'origines animale ou végétale (extrait de viande, peptone, hydrolysate de caséine, urée, liqueur de maïs, extrait de soja, etc.), cependant le meilleur substrat reste l'extrait de levure [4].

Les milieux généralement utilisés pour le développement des bactéries lactiques sont les suivants [4] :

- Streptocoques : Elliker (Elliker *et al.*, 1956) ; M 17
- Lactocoques : Elliker, M 17 (Terzaghi et Sandine, 1975)
- Lactobacilles : MRS (DE MAN *et al.*, 1960) ; MRS acidifié ; ROGOSA (ROGOSA *et al.*, 1951) ; BRIGGS (BRIGGS, 1953)
- Leuconostoc : APT (EVANS et NIVEN, 1951; COX et BRIGGS, 1954)
- Pediocoques : MRS ; MRS + NaCl 4 %

## 2. Les Entérobactéries

### 2.1. Caractères généraux du groupe

Les membres de la famille des *Enterobacteriaceae* se trouvent comme parasites, parfois pathogènes ou commensaux chez l'homme et autres animaux, et comme saprophytes 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. Cette famille comprend des bacilles Gram-, non sporulants, anaérobies facultatifs, mobiles (le plus souvent flagellés péritriches) ou non, isolés ou par paires. Chimioorganohétérotrophes, croissent habituellement sur des milieux de base. Les sources de carbones incluent les sucres. Métabolisme respiratoire et fermentatif. Oxydase-, catalase+, à l'exception de quelques souches [1, 8].

Bactéries indicatrices, elles peuvent signifier un défaut d'hygiène lors des processus de fabrication: une contamination fécale, environnementale, une insuffisance des procédés de traitements, un défaut d'hygiène du matériel et de l'équipement utilisés, ou une contamination croisée d'une autre origine (végétale par exemple). Pour les produits prêts à consommer et conservés sous réfrigération, les entérobactéries peuvent également signifier une conservation à des températures trop élevées ou pendant une durée trop longue.

### 2.2. Classification et identification

Les genres (et les espèces) se différencient par des tests biochimiques en particulier par les 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* (Tableau 4) [1].

**Tableau 4 :** Caractéristiques de quelques Entérobactéries [8].

	<i>Arizona</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Erwinia amylovora</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Salmonella gallinarum</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Mobilité	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	(+)
Gaz	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	v	-	-
Lactose	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
β-gal.(ONPG)	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+
Saccharose	-	/	+	v	v	-	+	-	-	-	+	+	+
Uréase	-	v	v	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Indole	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	v
VP	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-
RM	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+
H <sub>2</sub> S	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Citrate	+	+	+	v	-	-	+	-	v	v	+	-	-
Malonate	+	-	+	v	-	v	+	-	-	-	-	-	-
Mannitol	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
Gélatinase	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+
LDC	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-
ODC	+	-	+	-	v	+	-	+	+	+	+	+	-
ADH	v	v	+	-	-	-	-	-	-	v	-	-	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
APP	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
KCN	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-

## Les Coliformes

C'est un groupe de bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. On appelle coliforme tout bacille Gram-négatif, non sporulant, anaérobie facultatif, capable de fermenter le lactose dans 48 heures, avec formation d'acide et de gaz, à 37°C, *Escherichia coli* est un coliforme typique. Mais il y a aussi d'autres coliformes: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*. En microbiologie alimentaire les coliformes sont une flore indicatrice de contamination fécale et de bons marqueurs de la qualité hygiénique générale d'un aliment [1, 3].

### Genre *Escherichia*

Il existe plusieurs espèces d'*Escherichia*, la plus importante est *E. coli*. Elle est lactose+, gazogène, réalise une fermentation mixte, elle produit de l'indole. C'est un hôte normale de l'intestin de l'homme et des animaux, et est très abondant dans les matières fécales. Certains sérotypes 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. [3, 8].

### Genre *Salmonella*

Les *Salmonella* appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. Habituellement mobiles, leurs réactions typiques sont les suivantes : tests IMViC -, +, -, + ; glucose+ (formation d'acide et de gaz à 37 °C); généralement lactose-, H<sub>2</sub>S+. Uréase- ; lysine et ornithine décarboxylase+. Les salmonelles peuvent croître sur les milieux de base par exemple, sur la gélose Mac Conckey. Pathogènes chez l'homme et les animaux. % GC environ 50-52. Les salmonelles s'identifient selon les sérotypes. La classification de

*Kaufmann-White* répertorie environ 2000 sérotypes Chacun d'eux est défini par ses antigènes O et H et pour certains, par l'antigène Vi [1].

La contamination des produits alimentaires peut être originelle (animaux malades) ou provenir de manipulateurs malades ou porteurs sains du germe. On retrouve les salmonelles surtout dans les produits d'origine animale (œufs, lait, viandes, volaille, charcuterie, poisson), l'eau polluée et les produits consommés crus. Les salmonelles produisent deux types de toxine (entérotoxine et cytotoxine). *S. typhi* et *S. paratyphi* A, B et C provoquent des maladies infectieuses appelées respectivement fièvre typhoïde et paratyphoïde, la dose infectante est de l'ordre de  $10^5$  germes. L'incubation dure de 1 à 25 jours, généralement 15 jours. La maladie se déclenche avec des symptômes digestifs (vomissement, diarrhée, douleurs abdominales) avant d'entrer dans une phase septicémique lymphatique avec fièvre et torpeur (tuphos), cette action est due à l'action au niveau cérébrale d'une *endotoxine neurotrophe LPS* [8].

### 2.3. Culture

Plusieurs milieux sont utilisés pour la culture et l'isolement des Entérobactéries, les plus courants sont [8]:

- Le milieu glucosé bilié au cristal violet et au rouge neutre (VRBG ou VRBGA)
- Le milieu lactosé au pourpre de bromocrésol (BCP)
- Le milieu Mac Conkey (milieu G)

### 3. Les microcoques

#### 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, chimioorganohétérotrophes. 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 utilisés pour leur culture sont: le milieu Chapman et le milieu Baird-Parker [1, 7].

*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* [7, 8].

## 4. Les bactéries sporulées

### 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 chimioorganohétérotrophes. 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) [1, 7, 8].

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

### 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' $H_2S$ . 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 ( $CO_2+$ ,  $H_2+$ ,  $H_2S-$ ), 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 ( $H_2S+$ ), 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 ( $H_2S+$ ), ils sont souvent appelés des *Clostridium* «sulfitoréducteurs» [1, 8].

## 5. Les levures

Les levures sont des champignons pour tout ou partie de leur cycle végétatif. Certaines sont connues depuis plus 4300 ans pour leur potentialité fermentaire.

Un certain nombre de procédés de fermentation et de produits qui en sont issus reposent sur l'utilisation des levures. On peut les regrouper en sept catégories :

- levures de boulangerie et produits de panification
- levures de brasserie et de bières
- levures de vinification et vins
- levures de distillerie et spiritueux
- levures-aliments
- produits dérivés des levures (autolysats, etc.)
- éthanol industriel et carburant [2].

### 5.1. Caractères généraux et taxonomie

Les termes de sphérique, globuleux, ovoïde, allongé, cylindrique sont souvent employés pour décrire les formes végétatives des levures. Les mitochondries des cellules de levures contiennent de l'ADN, l'ARN, l'ARN polymérase, des enzymes respiratoires. Elles dégénèrent en promitochondries lors de la fermentation ou lorsque le milieu contient plus de 5 % de glucose ; il n'y a alors plus de synthèse de cytochromes  $aa_3$  et  $b$  et la cellule ne respire plus. Le tableau suivant regroupe les principales espèces rencontrées ainsi que leurs synonymes les plus importants [2].

**Tableau 5** : Classification des principales espèces de levures industrielles [2].

Classification	Espèces
<b>Ascomycotina</b>	<i>Kluveromyces fragilis</i>
<b>Hemiascomycètes</b>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Syn. <i>S. ellipsoideus</i> , <i>S. italicus</i> )
<b>Endomycétales</b>	<i>Saccharomyces exiguus</i>
<b><i>Saccharomycetoideae</i></b>	<i>Torulaspota delbrueckii</i> (Syn. <i>S. rosei</i> )
	<i>Zygosaccharomyces bailii</i> (Syn. <i>S. bailii</i> )
<b>Deuteromycotina</b>	<i>Candida utilis</i>
<b>Blastomycètes</b>	<i>C. krusei</i>
<b><i>Cryptococcaceae</i></b>	<i>C. lipolytica</i>
	<i>Tichosporan cutaneum</i>

## 5.2. Rôle dans l'alimentation

### Production de levures

En plus à leur pouvoir enzymatique important qui permet aux levures d’être des catalyseurs biologiques capables de valoriser les sous produits agricoles et agro-alimentaires, les levures sont produites pour leur biomasse riche surtout en acide aminées qui pourraient être utilisées comme alternatives de source d’azote en alimentation animale ou humaine (POU : Protéines d’Organisme Unicellulaire). Les mélasses et les liqueurs sulfitées sont les principales sources de carbone utilisées pour la production de levure. Les déchets de pomme de terre et les résidus de production d'amidon sont aussi de bons substrats. De plus, il est faisable de produire de la levure sur un substrat de fermentation à bases de jus de datte [5].

## 6. Les moisissures

### 6.1. 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.

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 attractifs, en une nourriture riche en éléments assimilables, à saveur agréable ou en condiment savoureux [2].

### 6.2. 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».

Les moisissures sont utilisées aussi dans la fabrication d'additifs alimentaires. THOM et CURIE (1916) ont fabriqué de l'acide citrique grâce à *Aspergillus niger*. Elles sont aussi utilisées pour la production des enzymes ( $\alpha$  amylase, catalase, cellulase, lactase, etc.), de pigments et vitamines ( $\beta$  carotène, riboflavine), des huiles essentielles, des arômes et des parfums, etc. [2].

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. Les moisissures saprophytes contaminent les aliments et les dégradent au point de vue qualitatif. Certains d'entre eux sont *toxigènes* 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) [8].

## Chapitre IV :

### 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.

Il faut signaler que certaines fonctions métaboliques (par exemple la *toxinogénèse*) ont des exigences particulières, plus restrictives que celles permettant la croissance (tableau 1). L'implantation et la survie des germes dans un aliment dépendent de plusieurs facteurs :

##### 1.1. Les conditions nutritives

Quelque soit l'organisme, les cellules ont besoins de sources de carbone, d'azote, de phosphore, de soufre et d'autres matières dont est faite la substance vivante. Certaines bactéries satisfont tous leurs besoins nutritifs avec de simples sels inorganiques et des substances comme le dioxyde de carbone et l'ammoniaque. D'autres requièrent -à divers degrés- des composés organiques plus ou moins complexes [1].

Un milieu contenant un substrat facilement catabolisable donnera une croissance plus rapide qu'un milieu contenant des substrats plus complexes (par exemple devant être dépolymérisés). De même, un milieu riche dans lequel des métabolites directement utilisables donnera une croissance plus rapide qu'un milieu où les cellules doivent effectuer la synthèse de ces constituants [4].

Naturellement, un milieu ne doit pas contenir d'inhibiteurs pour permettre la croissance: certains produits naturels jouent un tel rôle (tannins, huiles essentielles, composés phénoliques, lysozyme, etc.), de même que des adjuvants technologiques [4].

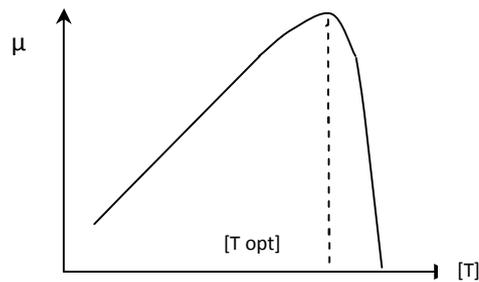
## 1.2. Les conditions physico-chimiques

### 1.2.1. La 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.

On distingue différents 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 stricts*) : 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 (*Listeria*, *Yersinia*), des moisissures (*Cladosporium*, *Sporotrichum*, etc). Les *mésophiles* comprennent la majorité des micro-organismes qui se développent entre 15 et 45 °C. 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 : des bactéries lactique (*Lactobacillus thermobacterium*, *Streptococcus thermophilus*), et des sporulées (*Clostridium* spp., *Bacillus* spp.) [2, 8].

L'action de la température intervient à plusieurs niveaux : l'activation du métabolisme selon la Loi d'Arrhénius (Figure 3), le stress thermique et la dénaturation des constituants cellulaires. Le froid ralentit et bloque le métabolisme microbien, sans habituellement tuer les cellules, cependant la congélation (surtout lorsqu'elle est lente) peut entraîner une forte mortalité. La température intervient aussi sur les transferts physiques.



**Figure 3:** Influence de la température sur le taux de croissance (Loi d'Arrhénius) [4].

### 1.2.2. Le pH

Selon LEHNINGER (1979), la cinétique des réactions enzymatiques et, par conséquent, celle du métabolisme cellulaire, est aussi fortement influencée par le pH. Chaque enzyme présente un pH optimum d'action au-dessus et en dessous duquel son activité diminue. Le pH intracellulaire d'une bactérie ne correspond pas nécessairement au pH optimal d'activité des enzymes qu'elle contient, ce qui suppose que l'effet du pH sur les activités enzymatiques peut constituer un des éléments de la régulation du métabolisme cellulaire.

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 [4].

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 (Tableau 5) 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 toxino-génèse de *Cl. botulinum*. Les bacilles gram négatif sont *acidosensibles* et ne peuvent se développées à pH bas [8].

**Tableau 5:** Comportement de quelques groupes microbiens et de bactéries pathogènes en fonction du milieu (entre parenthèse conditions de toxinogénèse) [8].

	pH			Temp. (°C)			a <sub>w</sub>
	min.	opt.	max.	min.	opt.	max.	max.
<b>Levure</b>	1,5/3,5	4,0/7,0	8,0/9,0	1°/20	10°/30°	35°/50°	0,92/0,65
<b>Moisissure</b>	1,2/3,0	4,0/7,0	8,0/11	- 5°/15°	10°/35°	35°/60°	0,93/0,62
<b>Bactéries lactiques</b>	3,5/5,0	5,5/6,0	6,5/9,0	5°/10°	25°/35°	35°/60°	0,94/0,92
<b>Entérobactéries</b>	3,5/4,5	6,0/8,0	7,5/9,0	5°/10°	25°/37°	30°/50°	0,97/0,96
<b>Microcoques</b>	4,0/4,5	6,5/7,5	8,5/9,3	5°/10°	25°/40°	40°/50°	0,91/0,86
<i>Staphylococcus aureus</i>		4,0/9,8 (4,5/9,6)			7°/48° (10°/48°)		0,83 (0,86)
<i>Clostridium botulinum</i>		4,5/8,5 (4,5/8,5)			10°/50° (12° */48°)		0,935
<i>Salmonella</i>		3,8/9,5			5°/46°		0,945
<i>Listeria monocytogenes</i>		4,4/9,4			- 0,4°/45°		0,93
<i>Vibrio cholerae</i>		5,0/9,6			10°/43°		0,97
* 3,3 °C pour certains biotypes							

### 1.2.3. L'activité de l'eau

Les microorganismes ont besoin d'eau pour se développer. Cette eau est prise dans l'aliment et pour les germes de surface dans l'atmosphère. L'eau libre est indispensable à la multiplication des microorganismes. Cette exigence varie avec l'espèce (Tableau 5) et correspond à une valeur appelée a<sub>w</sub> (activity of water) [10].

Pour une solution donnée selon les lois de Raoult:

$$a_w = \frac{n_1}{n_1 + n_2}$$

$n_1$  = nombre de moles de soluté.

$n_2$  = nombre de moles de solvant.

$a_w$  d'un aliment n'indique pas l'humidité d'un aliment, mais la quantité d'eau libre seule utilisable par les germes.

Quand la concentration des produits dissous  $n_1$  dans une solution augmente,  $a_w$  diminue (saumures riches en sels ou confitures riches en sucres). Plus l' $a_w$  diminue, plus la survie des germes est difficile. Ceci explique l'efficacité de la dessiccation dans la conservation des aliments (ex: lyophilisation du lait en poudre) [10].

## 2. Les moyens de lutte

Pour qu'un aliment soit sain et de qualité (non dangereux pour la santé, doté de bonnes qualités nutritionnelles et commerciales), il est nécessaire d'utiliser des moyens préventifs et le cas échéant curatifs.

Au *niveau préventif*, il faut utiliser des matières premières saines et répondant à un cahier des charges strict, et éviter les contaminations au cours des traitements technologiques et de la conservation [1, 2, 8].

Au *niveau curatif*, il existe des moyens technologiques nombreux et variés qui permettent selon le cas de *stabiliser* ou de *détruire* une flore néfaste. Il est évident que la stabilisation ne concerne que la flore banale et l'exclusion des germes pathogènes qui doivent être détruits. Le choix entre stabilisation et destruction dépend du danger potentiel représenté par l'aliment, parmi les moyens de luttés nous citons :

### 2.1. Moyens physiques

#### 2.1.1. La température

L'utilisation de la chaleur (Figure 4) 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.

Le froid (Figure 4) est un bon agent de stabilisation des produits alimentaires. Des températures entre 0 et 8 °C (pour stockage à court terme) peuvent retarder la dégradation des aliments, en inhibant le métabolisme des organismes contaminants et/ou l'activité de leurs enzymes extracellulaires. Malgré cela, il peut y avoir avarie due à des organismes psychrotrophes, comme des bactéries pathogènes (*Listeria monocytogens*, *Yersinia enterocolitica*) qui peuvent continuer à croître à 4 °C.

La congélation (pour le stockage à long terme) peut tuer certains contaminants. Elle réduit aussi la quantité d'eau disponible. A des températures inférieures à zéro de -5 à -10°C, par exemple, certains *champignons* peuvent devenir des agents de dégradation importants pour la viande [1, 2, 8].

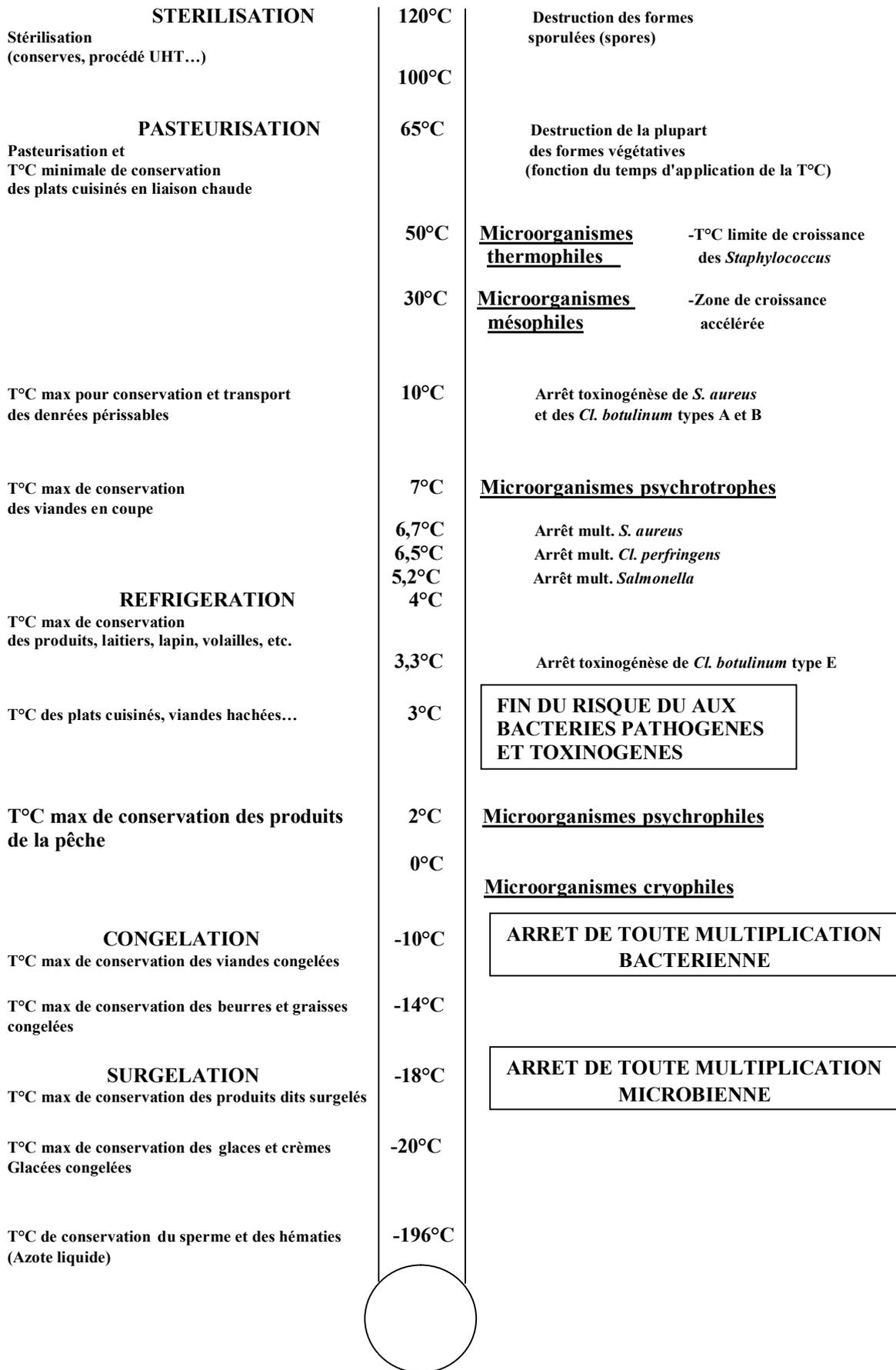


Figure 4: Action de la température sur les microorganismes et leur métabolisme [10]

### **2.1.2. La déshydratation**

Cette technique de stabilisation est très ancienne ; elle est basée sur la baisse de l'activité de l'eau du produit. Le séchage en général et l'atomisation (lait) font intervenir la chaleur. D'autres facteurs antimicrobiens peuvent interférer. Le séchage solaire (fruits, viandes, poissons) fait participer le rayonnement UV; le fumage (viandes, poissons) combine l'action de la chaleur à celle des produits de pyrolyse (formol, acides organiques, acides pyroliques, alcools, cétones, phénols, etc.) ; de plus il y a une action sur la saveur et la couleur. La lyophilisation (sublimation de l'eau à froid) est un procédé très utilisé qui conserve les propriétés de l'aliment [1, 2, 8].

## **2.2. Moyens chimiques**

### **Les agents de conservation**

Les agents de conservations alimentaires sont des produits chimiques capables d'inhiber les contaminants ; certains inhibent aussi bien les champignons que les bactéries. Parmi ces agents, nous citons :

Les agents minéraux les plus utilisés le NaCl ou le sel (dans de nombreux produits) ; les nitrates et nitrites de sodium ou de potassium (dans les charcuteries) ; les composés soufrés comme l'anhydride sulfureux et les sulfites (dans les produits à base de fruits) ; l'eau oxygénée (utilisable potentiellement dans le lait) ; etc.

Les acides organiques et leurs dérivés, tel que l'acide acétique et diacétate (utilisé dans des sauces, des préparations de légumes, de poissons) ; l'acide propionique (utilisé dans les fromages) ; l'acide sorbique et sorbates (permet l'inhibition des moisissures dans les fromages, les fruits, les produits céréaliers cuits, etc.) ; l'acide benzoïque et benzoates (utilisé pour les fruits) ; l'acide lactique, citrique, tartrique, ascorbique, etc.

Les essences naturels et les épices ont un pouvoir bactéricide lié à la présence de composés phénoliques, d'alcools, etc. et sont souvent remplacés par leurs composés actifs (eucalyptol, thymol, eugénol, etc.) utilisés comme conservateurs.

Quelques rares antibiotiques sont utilisés comme conservateurs alimentaires : la nisine, la subtiline, la tylosine, la polymyxine, les tétracyclines et la polymyxine [8].

## Chapitre V : Exemples d'aliments

### 1. Les olives fermentées

Les olives destinées à la table reçoivent divers prétraitements avant le saumurage, ils sont variables selon les qualités désirées du produit fini. Les olives contiennent de *l'oleuropéine* qui est un glucoside à groupement phénol extrêmement amer. Les variétés d'olives qui contiennent de grandes quantités, doivent en être débarrassées.

Les olives vertes (cueillies à maturité) sont traitées par une solution à 1 % ou 2 % d'hydroxyde de sodium qui détruit le principe amer ; elles sont ensuite lavées plusieurs fois pour éliminer la solution alcaline. Au cours de ces lavages, des sucres fermentescibles et autres nutriments sont perdus [2, 8].

Les olives sont stockées dans des saumures de concentrations différentes selon la variété (4 à 8 % de NaCl).

La durée de fermentation est de 6 à 10 mois pendant lesquels on distingue trois phases :

- Pendant 7 à 14 jours, la flore initiale (*Pseudomonas*, *Enterobacter* et éventuellement *Clostridium*, *Bacillus*, etc.) peut se développer en même temps que *Leuconostoc mesenteroides*.
- Pendant la phase intermédiaire (2 à 3 semaines), *Leuconostoc mesenteroides* prédomine et acidifie la saumure. Les lactobacilles, *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus brevis* apparaissent.
- Phase finale : les lactobacilles dominent.

L'acidité finale obtenue varie entre 0,7 et 1 % d'acide lactique ; le pH est inférieur à 4.

## Accidents de fermentation

La fermentation lactique est parfois limitée par suite de la perte de sucres qui résulte du lavage consécutif au traitement alcalin. Dans certains cas on ajoute même du glucose.

La salinité trop élevée peut favoriser le développement des levures osmo et acidotolérantes, réalisant une fermentation acétique.

Des problèmes de pourriture ou de ramollissement des olives peuvent être provoqués par une dégradation pectinolytique due aux levures ou moisissures (*Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Fusarium*, etc.) de contamination en surface en cas d'anaérobiose défectueuse.

Si le pH est trop élevé (>4,2) pendant la phase initiale, il peut se développer une fermentation butyrique (*Clostridium butyricum*, bactéries propioniques) qui provoque des défauts de goût et d'odeurs. Il est parfois préférable d'acidifier la saumure au départ par ajout de 3 % d'acide lactique.

Des défauts gazeux provoquent des bulles d'air sous le tégument du fruit. Ce problème est lié à la présence de coliformes qui se développent si la concentration en NaCl est inférieure à 5 % ou si le pH est trop élevé (> 4,8) [2, 8].

## 2. L'ensilage

L'ensilage, est une méthode de conservation de fourrage, permet de nourrir le bétail pendant les mois d'hivers lorsque la végétation est relativement rare. Elle consiste essentiellement à stocker le fourrage finement coupé dans des conditions d'anaérobiose et à le laisser fermenter. Il y a des bactéries par exemple, *Lactobacillus spp* sur les végétaux et/ou dans l'enceinte de stockage (le *silo*) ; elles métabolisent les sucres comme le fructose, le glucose, le saccharose principalement par fermentation lactique. L'acide lactique produit abaisse rapidement le pH (aux environs de 4,0), inhibant ainsi des organismes (en particulier *Clostridium spp.*) qui, sans cela, provoqueraient de la putréfaction. L'acidité aide aussi à inhiber la croissance de *Listeria monocytogenes*, un organisme capable de croître en ensilage incomplètement fermenté (pH >5,5) [2, 8].

**Références**

- [1] Singleton P. (1999). Bactériologie. 4<sup>ème</sup> Edition, Dunod, Paris. 415p.
- [2] Bourgeois C.M., Mescle J.L., Zucca J. (1996). Microbiologie Alimentaire. Tome 1. 2<sup>ème</sup> édition. Lavoisier, Paris.
- [3] Sutra L., Federighi M., Jouve J. (1998). Manuel de bactériologie alimentaire, polytechnica. 304 p.
- [4] De Roissart H., Luquet F.M. (1994). Bactéries lactiques. Aspects fondamentaux et appliqués, Vol 1. Lorica (ed). Uriage/ France.
- [5] Yoo I.K., Chang H.N., Lee G.E., Chang Y.K., Moon S.H. (1997). Effect of B vitamin supplementation on lactic acid production by *Lactobacillus casei*. J. Fems. Bioeng. 84(2), 172-175.
- [6] Martinko and Parker (1999). Biology of Microorganisms, Eighth Edition by Madigan, Southern Illinois University, Carbondale.
- [7] 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.
- [8] Guiraud J.P. (1998). Microbiologie alimentaire, DUNOD, Paris. 652 p.
- [9] Betsy T., Keogh J. (2005). Microbiology Demystified. The McGraw-Hill Companies, Inc. New York. 285 p.
- [10] Ait Abdelouahab N. (2001) Microbiologie alimentaire. Alger. Office des Publications Universitaires. Algérie.
- [11] Lehninger A.L. (1979). Biochimie ; Flammarion Médecine Science. France.