

MICROFLORE INDESIRABLE DES ALIMENTS

1. Généralités

La flore microbienne des denrées alimentaires se compose, en général, d'une flore spécifique et d'une flore de contamination

1.1. Flore spécifique

- + Définition : flore d'intérêt technologique, présente naturellement dans le produit (crû non ensemencé) ou ajoutée au produit (préalablement pasteurisé ou non).
- + Fonctions :
 - Acidification (laits fermentés, fromages, saucissons, légumes, olives, etc.) ;
 - Aromatisation (laits fermentés, beurre, fromages, olives, etc.) ;
 - Changement de texture (yaourt, laits filants) ou maintien de la texture (cornichons, olives, etc.) ;
 - Amélioration de la valeur nutritive (synthèse de vitamines) ou de la digestibilité (hydrolyse de protéines).
- + Mécanismes :
 - Fermentation des sucres
 - Hydrolyse des protéines et des lipides
 - Synthèses : vitamines, polysaccharides.
- + Conséquences :
 - On retrouve ces microorganismes vivants dans le produit fini (10^7 bactéries vivantes/g dans le yaourt) ;
 - La numération de la FMAT (Flore Mésophile Aérobie Totale) est sans intérêt dans les produits fermentés.

1.2. Flore de contamination

- + Définition : toute flore différente de la flore spécifique du produit ; considérée comme indésirable. Elle peut représenter un risque hygiénique ou causer l'altération des caractéristiques organoleptiques de l'aliment.
- + Flore d'intérêt hygiénique
 - Microbes pathogènes et/ou toxigènes, agents responsables d'accidents sanitaires chez le consommateur :
 - Infections alimentaires (mécanisme invasif) (virus, salmonelles, certains sérotypes d'*Escherichia coli*, etc.) ;
 - Toxi-infections alimentaires : dues à la présence simultanée du microorganisme et de sa (ses) toxine(s) (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, etc.) ;
 - Intoxinations alimentaires : action de la toxine seule (botulisme, intoxication histaminique, mycotoxicoses, etc.).
 - Microorganismes indices de contamination fécale:
 - Coliformes, en particulier les Coliformes fécaux ;
 - Streptocoques fécaux (Entérocoques).
- + Flore d'altération biochimique : flore responsable de transformations biochimiques plus ou moins poussées pouvant conduire à l'évolution des propriétés organoleptiques dans un sens défavorable (goût, odeur, couleur, aspect, consistance, etc.).

Certaines flores d'altération sont particulièrement redoutées dans l'industrie alimentaire :

- ✚ La flore psychrotrophe, qui produit des protéases et des lipases thermostables, responsables de défauts de saveur.
- ✚ Les flores gazogènes :
 - gonflement précoce (fromages à pâte molle) : surtout Coliformes
 - gonflement tardif (fromages à pâte pressée) : flore butyrique
 - levures dans les confitures
- ✚ La flore fongique (levures et moisissures) dans les produits acides et/ou sucrés (pH et/ou aw défavorables aux bactéries).

Remarque : Une flore microbienne peut être à la fois d'intérêt hygiénique et responsable d'altération (ex. Coliformes agents de gonflement précoce des fromages)

2- Flore responsable d'accidents sanitaires chez le consommateur

2.1. Généralités, définitions

✚ Généralités

Ce sont des accidents très variés en nature et en gravité.

Chaque accident est un syndrome plus ou moins spécifique (signes cliniques particuliers).

Varié également :

- La durée d'incubation
- La durée de l'affection

Tous ces paramètres dépendent du microorganisme, de l'individu atteint et de certaines conditions (quantité d'aliment ingéré, degré de contamination, etc.).

- ✚ Classification des accidents sanitaires liés aux microorganismes des aliments :
 - Infection Alimentaire : accident provoqué par un microbe (généralement bactérie ou virus) capable de s'implanter dans les tissus du consommateur et de s'y multiplier (*mécanisme invasif*). Le microbe peut ou non se développer au préalable dans l'aliment (Exemple : les virus ne se multiplient pas dans l'aliment). L'infection exige une dose infectieuse minimale (nombre minimum d'individus vivants).
 - Toxi-infection Alimentaire : accident provoqué par la présence simultanée du microorganisme et de sa (ses) toxine(s). Le microorganisme se multiplie dans l'organisme du consommateur, mais sans être nécessairement invasif. Souvent, il se multiplie seulement dans la lumière intestinale et n'agit que par sa (ses) toxine(s).
 - Intoxication Alimentaire : de façon générale, tout accident sanitaire dû à la consommation d'un aliment contenant un produit chimique toxique (empoisonnement). Pour les toxines microbiennes, on préfère le terme intoxication. La (les) toxine(s) seule(s) est (sont) responsable(s) de l'intoxication alimentaire, même en l'absence du microorganisme.

Remarques :

- ✚ 1) dans le langage courant, les 3 catégories sont désignées par "toxi-infections alimentaires" ou "intoxications alimentaires". Pour les anglo-saxons, on emploie l'expression "Food-borne diseases" ; en français, on parle aussi de "gastro-entérites".
- ✚ 2) parmi ces accidents, les TIAC (Toxi-Infections Alimentaires Collectives) attirent de plus en plus l'attention.

- ✚ 3) on peut trouver, associées à la même espèce microbienne, 2 ou 3 formes d'accidents
Exemples :
 - *Escherichia coli* : souches invasives et souches toxigènes ;
 - *Staphylococcus aureus* : souches invasives responsables d'infections alimentaires, souches toxigènes associées à des intoxications alimentaires et souches provoquant des toxi-infections alimentaires.

2.2. Infections Alimentaires

2.2.1. Les viroses

✚ Hépatite de type A

Le virus de loin le plus important est le virus de l'hépatite de type A. Il est d'origine fécale et pénètre dans l'organisme par voie digestive avec l'eau ou certains aliments.

Les denrées incriminées sont les produits de la mer provenant d'eaux contaminées, les eaux de boissons polluées, les fruits et légumes souillés par l'eau.

✚ Gastro-entérites virales

De nombreux virus (dits virus entériques) sont impliqués dans les gastro-entérites. Ceux qui peuvent être transmis par les aliments sont, par exemple, les *Adenovirus*, les *Enterovirus*, les *Parvovirus* et les *Rotavirus*.

Lors d'épidémies d'origine hydrique ou consécutives à la consommation d'huîtres et d'autres coquillages, le rôle des virus a été clairement établi.

La prévention consiste à empêcher toute contamination fécale des aliments, et à inactiver les virus entériques par un traitement thermique.

2.2.2. Les Infections Alimentaires Bactériennes : Salmonelloses

Les Salmonelles appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*.

Ce sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, généralement mobiles par des flagelles péritriches mais parfois immobiles (*S. pullorum*, *S. gallinarum*). Ce sont des bactéries qui ne fermentent ni le lactose, ni le saccharose, ni l'esculine, ni l'adonitol.

Elles ne produisent ni l'indole ni l'acétoïne et n'hydrolysent pas l'urée, mais réduisent les nitrates en nitriles et peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone. Elles ne possèdent pas la tryptophane désaminase, mais possèdent très souvent la lysine décarboxylase et produisent souvent et abondamment le sulfure d'hydrogène (H₂S)

Les principales caractéristiques culturales sont les suivantes :

- Température : 5,2 à 46°C (optimum : 35 à 37°C)
- pH : 4 à 11 (optimum : 6,5 à 7,5)
- aw : bonne croissance entre 0,94 et 0,99
- sel : inhibition à 15 -30%

La recherche des Salmonelles dans les produits alimentaires est importante pour le contrôle de la qualité hygiénique. Ce sont des micro-organismes pathogènes pour l'Homme et les animaux. La transmission se fait le plus souvent de l'animal à l'Homme par ingestion des denrées alimentaires d'origine animale, mais peut se faire de l'Homme à l'Homme et de l'Homme à l'animal. Les aliments les plus souvent associés à ces accidents sont les aliments d'origine animale (viandes, œufs, poulet, poisson et autres produits de la mer) ainsi que les pâtisseries.

La présence des Salmonelles dans les produits pasteurisés (lait par exemple) est très rare. En effet, les Salmonelles sont normalement détruites par le traitement de pasteurisation.

Cependant, si les pratiques sanitaires après la pasteurisation sont défectueuses, la contamination par les Salmonelles peut avoir lieu.

On compte environ 2.000 sérotypes de Salmonelles différenciés sur la base de leurs antigènes somatiques (O) et flagellaires (H). Cependant, *Salmonella typhimurium* semble être le sérotype le plus fréquemment rencontré comme agent d'infection alimentaire.

La dose minimale infectante pour l'Homme est assez élevée : entre 10^6 et 10^9 cellules. Cette dose dépend du sérotype considéré, de l'aliment ingéré et de la susceptibilité du consommateur.

Les premiers symptômes apparaissent le plus souvent entre 6 et 48 heures après ingestion de l'aliment contaminé. Les symptômes les plus fréquemment rencontrés sont la diarrhée, la fièvre, la nausée, le vomissement et les maux de tête.

La grande proportion des Salmonelles ingérées est déduite dans l'estomac par l'acidité gastrique (pH 1 à 2). Les cellules survivantes atteignent l'intestin grêle où elles se multiplient, provoquant l'inflammation de la muqueuse intestinale et les symptômes de la gastro-entérite. Les cas de mortalité dus aux salmonelloses sont pourtant faibles (0,1 à 0,3% des cas recensés aux USA). La mort survient surtout chez les jeunes enfants, les vieillards et les individus souffrant de maladies intercurrentes.

Certaines mesures visant à prévenir la contamination doivent être appliquées (danger fécal) :

- ✚ respect de règles strictes d'hygiène au niveau du transport des animaux vivants et des aliments ;
- ✚ respect des bonnes pratiques d'hygiène lors de la préparation des aliments (hygiène des locaux, du matériel, du personnel) ;
- ✚ maintien des aliments à des températures inférieures à 5°C ou supérieures à 47°C ;
- ✚ assainissement : les salmonelles sont généralement détruites par un chauffage de 12 à 15 min à 65°C .

2.3. Toxi-infections Alimentaires

2.3.1. Gastro-entérite à *Escherichia coli*

Escherichia coli est un hôte normal de l'intestin de l'Homme et des animaux. Sa présence est un indicateur de pollution fécale et de mauvaises conditions hygiéniques.

Les *Escherichia coli* entéropathogènes (**E.E.C**) sont responsables de maladies très graves chez le nourrisson et de troubles diarrhéiques chez l'adulte et sont facilement transmises par les denrées alimentaires souillées, par des porteurs humains ou par les matières fécales.

Il existe 4 catégories d'*Escherichia coli* entéropathogènes :

- ✚ *Escherichia coli* entéropathogène classique (**EPEC**) qui comprend les sérotypes associés aux diarrhées des jeunes enfants ;
- ✚ *Escherichia coli* entéropathogène facultative (**FEPEC**) qui regroupe plusieurs sérotypes de la flore normale de l'intestin ;
- ✚ *Escherichia coli* entérotoxigène (**ETEC**) qui comprend des souches produisant des entérotoxines thermostables (ST) et/ou des entérotoxines thermolabiles (LT), ces souches colonisent la surface épithéliale de la région proximale de l'intestin grêle ;
- ✚ *Escherichia coli* entéroinvasive (**EIEC**) : dont l'effet pathogène est exercé par l'invasion du tractus intestinal.

La dose infectante entraînant la maladie se situe entre 10^6 et 10^9 *Escherichia coli* entéropathogènes. De même, entre 10^6 et 10^9 *Escherichia coli* entéroinvasives sont nécessaires pour provoquer le syndrome diarrhéique chez les adultes.

Les souches toxigènes causent principalement la diarrhée, la fièvre et la nausée avec parfois des douleurs abdominales et des vomissements. La période d'incubation est en moyenne de 18 heures et la durée de la maladie est en moyenne de 48 heures.

La production d'entérotoxines par *Escherichia coli* dépend de certains facteurs tels que la température, le pH du milieu et l'âge de la culture. En effet, la température optimale pour la

production d'entérotoxines est de 35°C pour une période d'incubation de 24 heures. Cependant la toxine thermolabile (LT) et la toxine thermostable (ST) sont respectivement détectées à des intervalles de température de 25 à 40°C et de 30 à 35°C. Par ailleurs, la production des entérotoxines par les souches entérotoxigènes est inhibée dans un intervalle de température compris entre 5 et 15°C. Le pH optimal pour la production de (LT) et (ST) est respectivement de 8,5 et de 7,2 à 7,8

2.3.2 Entérite à *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens est une bactérie anaérobie sporulée. Elle comporte 5 types (A à E), le type A étant la cause la plus courante d'intoxication alimentaire chez l'Homme.

Clostridium perfringens est aussi responsable de la "gangrène gazeuse".

Ce germe est d'origine fécale, mais aussi ubiquiste ; on peut le rencontrer dans beaucoup d'aliments et dans l'environnement.

Le développement de *Clostridium perfringens* est lié aux conditions du milieu :

- + pH : 5 à 8,5
- + Température optimale : 30 à 47°C
- + Température maximale : 51 à 52°C
- + Température minimale : 6,5°C

L'intoxication alimentaire due à *Clostridium perfringens* est causée par une entérotoxine. Elle se traduit par une gastroentérite. Les symptômes qui apparaissent de 6 à 24h après l'ingestion des aliments sont la diarrhée, les douleurs abdominales, parfois la nausée, l'anorexie, de légers maux de tête, mais rarement les vomissements.

La prévention est assurée, d'une part, par la prévention de la contamination des manipulateurs et, d'autre part, par la limitation de la multiplication du microorganisme. Il faut :

- + refroidir rapidement les aliments cuits et les conserver à une température inférieure ou égale +6,5°C
- + garder les aliments cuits chauds au dessus de 52°C

2.3.3. Toxi-infection staphylococcique

L'agent responsable de l'intoxication staphylococcique est *Staphylococcus aureus*. C'est une bactérie en cocci à Gram positif, aéro-anaérobie facultative, non sporulée et immobile. Elle intervient en élaborant des toxines dans les aliments. *S. aureus* est halotolérant et modérément osmophile.

Les conditions permettant sa croissance et sa toxinogénèse sont :

- + Croissance
 - o Températures extrêmes : 6,7 et 46°C
 - o aw minimale : 0,83 à 0,86 (relativement basse par rapport aux autres bactéries)
- + Toxinogénèse
 - o températures extrêmes : 10 et 45°C
 - o température optimale : 33 - 38°C
 - o pH extrêmes : 5,0 et 9,0
 - o aw minimale : 0,90

La bactérie est souvent localisée chez l'Homme au niveau :

- + des voies respiratoires supérieures (sujets atteints d'affections telles qu'angine ou sinusite, ou bien porteurs sains)
- + de la peau (notamment plaies infectées, panaris, furoncles, etc.)

Les aliments les plus incriminés dans cette intoxication sont les viandes, les œufs, la mayonnaise, les produits laitiers, les desserts sucrés (crèmes glacées, flans, mousses au chocolat, caramel, etc.)

Le staphylocoque entérotoxique produit plusieurs entérotoxines thermostables. On en connaît 6 : A, B, C, D, E et F.

L'intoxication staphylococcique se caractérise par une incubation très brève variant généralement de 2 à 4h. Les symptômes sont généralement la nausée, les vomissements, les crampes abdominales et, plus tardivement, la diarrhée. On note l'absence de fièvre.

Jadis, on considérait la quantité minimale de cellules bactériennes vivantes (10^4 cellules/g ou /ml). Mais il vaut mieux considérer la quantité minimum de toxine nécessaire pour produire les symptômes, qui a été estimée à environ 0,0150 - 0,0357 ng d'entérotoxine par Kg de poids. En effet, les conditions de croissance et de toxinogénèse sont différentes. De plus, certains traitements peuvent tuer la bactérie (chaleur) sans détruire les toxines.

Pour éviter l'intoxication staphylococcique, il est nécessaire :

- ✚ de veiller au respect des bonnes pratiques par les manipulateurs et à leur santé;
- ✚ d'éviter la multiplication de la bactérie en maintenant les aliments en dehors de la zone permettant son développement (4 à 46°C)
- ✚ de détruire la bactérie et d'inactiver les toxines.

2.3 4. Les accidents dus aux *Vibrio*

Vibrio parahaemolyticus est une bactérie en bâtonnet légèrement incurvée, assez proche de l'espèce qui provoque le choléra, *V. cholerae*. Elle est largement répartie et se développe dans les eaux saumâtres, les sédiments des estuaires, le poisson crû et les coquillages comestibles. Elle rivalise bien avec les organismes d'altération des aliments à des températures de 5°C et au-dessus. C'est cependant surtout l'été qu'on la trouve en très grands nombres, lorsque les températures élevées facilitent un développement rapide.

Vibrio parahaemolyticus est la principale cause d'intoxication alimentaire au Japon où le poisson crû est consommé régulièrement. Ailleurs, elle est moins fréquente du fait qu'elle est détruite par la pasteurisation ou la cuisson. Néanmoins, les fruits de mer cuits peuvent être recontaminés par l'eau ou les fruits de mer crus. Les premières attaques confirmées aux Etats-Unis ont eu lieu en 1971 et 1972, à partir de viande de crabe, de crevettes et de langoustes. Lors d'une endémie au Japon, 250 personnes ont été atteintes et 22 sont décédées. On possède aussi des preuves substantielles selon lesquelles *Vibrio parahaemolyticus* était impliqué dans des infections extra-intestinales (infection des yeux et des oreilles).

Pour réduire l'incidence des attaques de *Vibrio parahaemolyticus*, l'industrie des fruits de mer doit :

- ✚ Maintenir les fruits de mer crus à 4°C ou en dessous ;
- ✚ Cuire les fruits de mer de façon adéquate ;
- ✚ Séparer soigneusement les fruits de mer cuits des fruits de mer crus ainsi que de l'eau de mer, de l'équipement non désinfecté et des récipients sales ;
- ✚ Maintenir les fruits de mer cuits à des températures inférieures à 4,4°C ou supérieures à 60°C.

Vibrio cholerae provoque les attaques sporadiques de diarrhée (choléra). Il se trouve partout et fait partie de la flore habituelle des eaux saumâtres, des estuaires et des marais salants de la zone tempérée. Une bonne alimentation en eau potable et la vaccination réduisent les épidémies.

Vibrio vulnificus peut provoquer une septicémie après ingestion de la bactérie ou encore une infection ouverte suite à la pénétration de la bactérie par une lésion de la peau. Son réservoir principal est l'eau de mer et c'est pourquoi il est très commun dans les fruits de mer.

Le tableau I donne un aperçu sur les principales infections alimentaires, ainsi que les plus importantes intoxications alimentaires d'origine bactérienne.

Tableau I- Caractéristiques des principales intoxications alimentaires bactériennes et des infections causées par les aliments

Maladie	Agent étiologique	Période d'incubation	Symptômes
Botulisme	Toxine de <i>Clostridium botulinum</i> A, B, E	12 heures à plus d'une semaine (souvent 1-2 jours)	Difficulté d'avaler, vision double, difficulté de parler. Parfois nausée, vomissement et diarrhée au début. Constipation et température sub-normale. Respiration difficile, puis paralysie des muscles respiratoires et mort.
Intoxication alimentaire staphylococcique	Entérotoxine staphylococcique	1-6 heures (moyenne 3 heures)	Nausée, vomissement, crampes abdominales, diarrhée et prostration aiguë. Température sub-normale pendant l'attaque, peut être plus élevée plus tard. Guérison rapide (une journée)
Salmonellose	<i>Salmonella</i> spp.	7-72 heures (18 heures en moyenne)	Douleurs abdominales, diarrhée, frissons, fièvre, vomissements fréquents. Durée : un jour à une semaine
Shigellose (dysenterie bacillaire)	<i>Shigella sonnei</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae</i> <i>S. boydii</i>	7-48 heures (souvent 24-48 heures)	Crampes abdominales, fièvre, frissons, diarrhée, selles liquides (contenant souvent du sang, du mucus ou du pus), spasmes, maux de tête, nausée, déshydratation et prostration. Durée : quelques jours
Infection entéropathogène à <i>Escherichia coli</i>	Sérotypes d' <i>E. coli</i> associées à infections infantiles et adultes	5-48 heures (d'habitude 10-12 heures)	Maux de tête, fièvre, frissons, vomissements, douleurs abdominales. Durée : quelques jours.
Intoxication alimentaire à <i>Clostridium perfringens</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	8-22 heures (d'habitude 10-12 heures)	Crampes abdominales avec diarrhée, nausée et malaise, vomissement très rare. Rétablissement rapide
Intoxication alimentaire à <i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	8-16 heures (d'habitude environ 12 heures)	Semblables à ceux dus à <i>Cl. perfringens</i>
Intoxication alimentaire due à <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	2-48 heures (d'habitude 12-14 heures)	Douleurs abdominales, fortes diarrhées liquides, nausée et vomissement, fièvre légère, frissons et maux de tête. Durée : 2 à 5 jours.

2.4. Intoxications Alimentaires d'origine bactérienne

2.4.1. Le botulisme

L'intoxication botulique ou botulisme est une affection qui a été décrite dans un grand nombre de pays de tous les continents. Heureusement, sa fréquence est relativement faible ; entre 1940 et 1975 aux USA, par exemple, la moyenne annuelle des cas enregistrés était inférieure à 7. Ces cas étaient essentiellement causés par des conserves domestiques mal préparées. Cette incidence a en effet nettement baissé depuis la généralisation de la cuisson sous pression (cocotte-minute) dans les ménages.

D'autre part, au niveau des conserves industrielles, on n'a pas noté de cas aux USA depuis 1925. Cependant, les effets de cette maladie sont spectaculaires puisque le taux de mortalité est très élevé, En outre, sa fréquence ne doit pas être négligeable dans les pays en voie de développement pour diverses raisons, bien que l'on dispose de peu de données à ce sujet. C'est pourquoi il est important d'en rappeler les principaux aspects.

2.4.1.1 L'agent causal

Le botulisme est dû à une bactérie qui a été isolée pour la première fois en Belgique en 1890 par Van Ermengen à partir de saucisson. Cette bactérie reçut le nom de *Clostridium botulinum* en référence au nom latin du saucisson (*botulus*)

Cette bactérie vit naturellement dans le sol, qui constitue la principale source de contamination pour les aliments d'origine végétale et ce, à travers les poussières véhiculées par le vent, les insectes, la pluie et les manutentions, notamment au cours de la récolte. La contamination des produits d'origine animale se fait par les mêmes voies, et par les matières fécales qui peuvent aussi contenir la bactérie.

Un des 8 types de *Cl. botulinum* actuellement connus, le type E, vit naturellement dans la vase des fonds marins et lacustres, d'où il contamine les animaux aquatiques.

En plus de son pouvoir toxigène, cette bactérie possède d'autres particularités importantes au plan pratique :

- ✚ Elle est capable de former des spores, qui sont des cellules à l'état de "dormance" particulièrement résistantes. En effet, chaque fois que les conditions environnantes deviennent hostiles à la cellule normale, dite végétative, celle-ci accumule ses réserves dans un espace restreint, puis les protège d'enveloppes épaisses et résistantes, au détriment du reste de la cellule qui dépérit. La spore ainsi formée peut résister très longtemps et, dès que les conditions redeviennent favorables, elle germe pour donner naissance à une nouvelle cellule végétative qui se met immédiatement à se multiplier et à produire sa toxine. Ainsi, en formant des spores, cette bactérie est capable d'opposer une très forte résistance à la chaleur. Si les cellules végétatives sont tuées par un chauffage de quelques minutes à 80°C, les spores résistent à l'ébullition (100°C) pendant 6h ou pendant 4min à 120°C. En raison de leur thermorésistance, et des risques que leur survie ferait encourir au consommateur, les barèmes de stérilisation des conserves dans l'industrie (température et durée du chauffage) sont calculés en fonction de ce qui est nécessaire pour tuer les spores de *Cl. botulinum*. Evidemment, toute défaillance dans le traitement thermique (température trop basse, durée insuffisante, etc.) pourrait conduire à la survie de ces spores avec les conséquences désastreuses que cela peut entraîner. De même, il faut signaler que ni la réfrigération ni la congélation ne tuent ces spores. Celles-ci se maintiennent donc longtemps dans les aliments crus ou pré-cuits et congelés, et restent prêtes à germer dès que l'aliment est décongelé.
- ✚ Elle est anaérobie stricte, ce qui signifie que la germination des spores, la multiplication des cellules végétatives et la synthèse de la toxine exigent l'absence totale d'oxygène, condition réalisée dans les conserves appertisées. En effet, la technologie des conserves

consiste à remplir les récipients (boîtes métalliques par exemple) de l'aliment à conserver tout en laissant vide un petit espace dit "espace de tête". Puis on procède à un pré-chauffage qui chasse l'oxygène du contenu et fait dégager de la vapeur d'eau qui occupe l'espace de tête. On place ensuite le couvercle et on le sertit, et les récipients sont stérilisés à l'autoclave, puis refroidis à l'eau froide immédiatement à leur sortie de l'autoclave. On provoque ainsi la condensation de la vapeur de l'espace de tête, ce qui crée le vide dans le récipient et garde l'aliment à l'abri de tout contact avec l'oxygène.

- ✚ Elle produit des gaz à partir des aliments, ce qui, dans le cas des conserves, peut conduire au phénomène du "bombage".
- ✚ A partir des protéines, elle libère également du sulfure d'hydrogène caractérisé par une très mauvaise odeur.

2.4.1.2. La toxine botulique

De nature protéique, la toxine botulique se présente sous 8 formes voisines qu'on appelle les types A, B, C α , C β , D, E, F et G.

Du fait de sa nature protéique, cette toxine est sensible à la chaleur : une ébullition de 15min suffit généralement à l'inactiver. En revanche, elle résiste aux basses températures et n'est pas affectée par la congélation.

Injectée aux animaux, la toxine botulique provoque la formation dans leur sérum d'un anticorps spécifique, l'antitoxine. Malheureusement, les doses qui seraient nécessaires pour induire la production de cette antitoxine sont souvent supérieures à celles qui tuent ces animaux. Cependant, le traitement de la toxine au formol donne naissance à une substance transformée, le toxoïde, qui n'est plus toxique, mais qui, injectée aux animaux, induit la formation de l'antitoxine spécifique. Ainsi, il est possible d'immuniser les individus exposés au risque de botulisme par injection de toxoïde.

La toxine botulique est la plus puissante de toutes les toxines connues. Sa dose létale minimale (DLM) est 25 fois plus petite que celle de la toxine tétanique qui occupe la seconde place. Ainsi, la DLM est de 5.10^{-5} mg pour la souris et de l'ordre de 0,01 mg pour l'Homme!

Essentiellement absorbée au niveau de l'intestin grêle, la toxine est véhiculée par le sang jusqu'aux terminaisons nerveuses où elle bloque la libération de l'acétylcholine, paralysant ainsi les muscles involontaires, ce qui conduit à l'arrêt de la respiration.

2.4.1.3. Facteurs affectant la toxinogénèse

La toxinogénèse de *Cl. botulinum* suppose que soient réunies des conditions favorables pour la germination des spores, la multiplication des cellules végétatives qui en résultent, et la synthèse de la toxine par ces cellules. De nombreux paramètres interfèrent avec ces phénomènes :

a) paramètres liés à l'aliment

Ce sont les aliments peu ou moyennement acides, notamment les conserves domestiques fabriquées dans de mauvaises conditions, qui sont le plus souvent impliqués. L'acidité, en effet, inhibe aussi bien la germination des spores que la multiplication des cellules végétatives et la toxinogénèse.

Ainsi, les conserves végétales incorrectement fabriquées viennent en tête des causes de botulisme recensées (avec 60% des cas) suivies des poissons et autres produits marins, puis viennent les fruits, les condiments, etc.

Les aliments frais ou tout récemment cuits ne présentent aucun risque à cause de l'absence des conditions d'anaérobiose dans le premier cas, et de la sensibilité de la toxine à la chaleur dans le second.

Cl. botulinum exige des taux élevés en humidité dans l'aliment (60% au moins), ce qui écarte de tout danger les aliments déshydratés ainsi que les aliments riches en sel : un salage de 8% ou davantage inhibe toute activité chez cette bactérie.

b) La température

A côté de l'acidité et de l'oxygénation, la température est un autre paramètre physique qui conditionne l'activité de cette bactérie. La germination des spores nécessite un minimum de 5°C, ce qui met à l'abri toute denrée maintenue en dessous de cette température. D'autre part, la zone de température qui permet la multiplication maximale des cellules végétatives est de 30 à 37°C, ce qui correspond à peu près au maximum de toxigenèse également. Ceci montre l'importance du refroidissement rapide des conserves à la sortie des autoclaves.

2.4.1.4. Etude clinique du botulisme

Les premiers signes cliniques apparaissent 12 à 36 h après la consommation de l'aliment contaminé (18h en moyenne). Cette durée dépend de la quantité d'aliment ingérée, de sa teneur en toxine, et de la sensibilité de l'individu.

Les symptômes sont d'abord digestifs : nausée, vomissement et diarrhée (suivie plus tard de constipation) accompagnés d'une fatigue générale. Puis surviennent des signes nerveux plus caractéristiques : sécheresse de la bouche, paralysie des yeux avec double vision, difficulté d'avaler et de parler, paralysie des muscles involontaires, puis arrêt de la respiration.

Dans les cas les plus graves, la mort survient après 24h, mais elle peut ne se produire que dans les 8 jours. Le taux de mortalité varie de 40 à 65%. En cas de survie, la convalescence est longue: 6 à 8 mois.

Un traitement est possible par injection intramusculaire ou intraveineuse d'un sérum contenant l'antitoxine pour neutraliser la toxine circulant dans le sang (immunité passive). Mais ce traitement devient inefficace dès l'apparition des premiers symptômes nerveux. On peut aussi immuniser préventivement par injection de toxoïde (immunité active).

2.4.2. Intoxication à *Bacillus cereus*

Bacillus cereus appartient à la famille des *Bacillaceae*. Ce sont des microorganismes à Gram positif, aérobies stricts ou anaérobies facultatifs à catalase positive, sporulés, ne fermentant pas le mannitol, possédant une véritable phospholipase active (lécithinase) et hydrolysant l'amidon et la caséine. Les facteurs inhibiteurs de la croissance sont la présence d'une flore compétitive importante, la nisine, la présence d'une solution à 0,2% d'acide ascorbique, et le sorbate de potassium à 0,1%. La croissance de ces bactéries peut se faire dans un large intervalle de température avec un minimum de 10 à 20°C et un maximum de 35 à 45°C. Cependant, la température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C. La croissance de *B. cereus* peut avoir lieu à des valeurs de pH comprises entre 4,9 et 9,3 et à une activité d'eau de 0,92 à 0,95.

Les aliments les plus fréquemment concernés sont les viandes, les volailles (surtout cuites avec des épices), les légumes cuits, le riz bouilli, etc.

La toxi-infection à *B. cereus* est caractérisée par 2 formes essentielles : la forme diarrhéique et la forme émétique, qui sont dues à 2 types de toxines différentes :

- ✚ La forme diarrhéique est caractérisée par une diarrhée diffuse et abondante, des douleurs abdominales qui apparaissent 6 à 15 heures après la consommation de l'aliment contaminé, de la nausée et rarement le vomissement. La durée de ces symptômes est inférieure à 24 heures. La toxine de cette forme se produit dans un intervalle de pH de 6,0 à 8,5 avec un optimum de 7,0 à 7,5. La température favorable à la production de la toxine est comprise entre 18° et 43°C. Cette toxine est sensible à la trypsine et inactivée par un chauffage de 56°C pendant 15min, mais elle résiste à 45°C pendant 3min.
- ✚ La forme émétique est caractérisée par la nausée et surtout le vomissement qui apparaît 0,5 à 6 heures après la consommation de l'aliment contaminé. Occasionnellement, des douleurs abdominales et/ou la diarrhée se présentent. La durée des symptômes est inférieure à 24 heures, et ce sont les aliments riches en amidon (riz) qui sont les plus incriminés dans cette forme. La toxine émétique est stable à 120°C pendant 90min, et à

4°C pendant 2 mois. Les valeurs de pH permettant la production de cette toxine se rangent entre 2 et 11.

2.4.3. Intoxication histaminique

Cette intoxication est due à une toxine bactérienne : l'histamine. Elle a d'abord été décrite sous le nom d'intoxication "scombroïdique" car elle était associée à la consommation de poissons classés dans les tribus des *Scomberesocidae* et des *Scombridae* tels que le thon et le maquereau. Cependant, d'autres espèces de poisson peuvent être impliquées, de même que d'autres aliments (poulet, fromages, choucroute, jambon, etc.)

2.4.3.1. Mécanisme de formation de l'Histamine

L'histamine provient d'une légère transformation (décarboxylation) de l'histidine, qui est un acide aminé entrant naturellement dans la composition des protéines que l'on trouve dans la viande, le poisson, le fromage, etc.

Cette décarboxylation est due à des bactéries variées qui ont en commun une enzyme, l'histidine-décarboxylase, qui assure cette transformation.

2.4.3.2. Conditions de l'accumulation de l'Histamine dans les poissons

Pour que l'Histamine se forme et s'accumule dans la chair du poisson, un certain nombre de conditions doivent être réunies :

- ✚ richesse élevée du muscle en histidine libre : ce sont surtout les poissons à chair rouge, où l'histidine se trouve naturellement en grande quantité à l'état libre, qui sont le plus souvent impliqués. Il s'agit du maquereau et du thon, mais aussi de la sardine signalée en Allemagne, Grande Bretagne, Japon et Maroc, du mahi-mahi aux U.S.A, de l'anchois au Japon, du hareng et du pilchard en Grande Bretagne, etc. L'histidine peut également se trouver libérée dans la chair par l'action des bactéries avant d'être ensuite décarboxylée en histamine. Le muscle du poisson altéré accumule souvent des taux de 10 à 50mg d'histamine pour 100g. Mais cette concentration peut s'élever jusqu'à 1% (1g d'histamine pour 100g de muscle !)
- ✚ contamination par les bactéries responsables : les bactéries responsables de la formation de l'Histamine sont variées. Elle se trouvent naturellement sur la peau et les branchies des poissons de même que dans les intestins et les muscles. Le degré de contamination et l'intensité du développement de ces bactéries avec, pour conséquence, l'accumulation de l'histamine, dépendent des précautions prises lors de la capture du poisson et des différentes manutentions auxquelles il est soumis jusqu'au traitement thermique. En effet, les bactéries impliquées sont très sensibles à la chaleur et sont donc détruites au cours de la cuisson domestique ou de l'appertisation industrielle. Néanmoins, si elles ont trouvé des conditions favorables pour former de l'histamine, celle-ci persistera du fait qu'elle est insensible à la chaleur.
- ✚ température d'entreposage du poisson : la production maximale se situe entre 15 et 38°C, selon les espèces de poisson concernées et de bactéries qui prédominent. Pour des températures comprises entre 0 et 10°C, cette production est très sensiblement réduite et peut être négligeable. Ces températures sont assurées en appliquant de la glace sur les poissons ou en les maintenant dans l'eau de mer réfrigérée. L'efficacité du glaçage peut être améliorée par le salage ; en utilisant 8% de sel, on peut retarder l'apparition de l'histamine dans le poisson d'une centaine d'heures par rapport au poisson glacé non salé. Enfin, une congélation rapide protège le produit du risque de formation de l'histamine.

2.4.3.3. Toxicité de l'histamine

L'histamine intervient comme médiateur dans les réactions d'allergie.

Ingérée à très faible dose, elle ne provoque pas d'effet du fait de l'existence d'un système de détoxification dans le tractus digestif humain. Cependant, ce système est inefficace en cas de consommation de quantités élevées de toxine avec le poisson altéré, d'autant plus que certaines

substances du poisson altéré (putrescine, cadavérine, etc.) semblent accroître la toxicité de l'histamine.

Selon l'individu et la gravité de la contamination, les premiers symptômes apparaissent quelques minutes à plusieurs heures après l'ingestion. Les signes cliniques sont de natures variées :

- ✚ cutanés : urticaires, œdème, rougeur, inflammation ;
- ✚ gastro-intestinaux : vomissement, diarrhée, nausée ;
- ✚ neurologiques : sensation de brûlure à la gorge, maux de tête, démangeaisons ;
- ✚ cardio-vasculaires : hypotension, parfois palpitations cardiaques.

La guérison totale survient après un à plusieurs jours.

La réglementation fixe le seuil de rejet des aliments entre 10 et 50 mg d'histamine pour 100g de produit selon les pays et les espèces de poisson considérées.

2.5. Accidents sanitaires dus aux « germes émergents »

2.5.1. *Yersinia enterocolitica*

Le genre *Yersinia* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Il comprend 6 espèces dont la plus importante est *Y. enterocolitica*.

Y. enterocolitica est une bactérie à Gram négatif faisant 1,0-3,5 μm sur 0,5-1,3 μm . Elle a 2 particularités :

- ✚ l'aptitude à se multiplier à +4°C, caractère remarquablement rare parmi les bactéries pathogènes de l'Homme ;
- ✚ la prédominance dans certains aliments : végétaux, viande et charcuteries et surtout le lait et ses dérivés.

La voie de pénétration dans l'organisme humain est dans la plupart des cas la voie digestive, soit par contact direct avec un animal malade ou porteur sain, soit indirectement par l'intermédiaire des matières fécales.

La maladie est prédominante durant la saison froide, alors qu'on note une très nette diminution l'été.

L'infection humaine par *Y. enterocolitica* revêt des aspects cliniques variés :

- ✚ l'entérocologie avec diarrhée est le signe majeur ;
- ✚ l'adénite mésentérique est fréquente chez les jeunes enfants, chez lesquels elle se présente associée à une crise appendiculaire aiguë ; c'est l'intervention chirurgicale qui découvre l'intégralité de l'appendice et l'hypertrophie inflammatoire des ganglions iléocoecaux.
- ✚ L'hérythème noueux est également fréquent ; il survient soit isolément, soit au cours d'une atteinte ganglionnaire plus ou moins marquée ;
- ✚ Les septicémies, apanage des sujets âgés diabétiques ou cirrhotiques, ont un pronostic fatal.

2.5.2. *Listeria monocytogenes*

Le genre *Listeria* comprend des bacilles à Gram positif, mobiles, à catalase positive, à oxydase négative, aérobies ou anaérobies facultatifs. Ces bactéries ont une température optimale comprise entre 30 et 37°C. On dénombre 8 espèces dont *L. monocytogenes* est la plus importante.

Le lait est l'un des aliments qui jouent un rôle très important dans la transmission indirecte de la listériose (fréquente apparition dans le lait et résistance aux traitements thermiques). Du fait de sa thermorésistance, la bactérie peut se retrouver dans le lait pasteurisé.

La présence dans le lait peut être due soit à une contamination endogène (mammites, septicémie, avortement), soit à une contamination d'origine externe (à partir de l'ambiance de l'étable, en cas

d'hygiène défectueuse). La bactérie peut survivre longtemps dans le milieu extérieur, voire se multiplier notablement dans les aliments du bétail comme les ensilages.

La listériose se manifeste par des syndromes nerveux : méningo-encéphalites accompagnées de nausées, de vomissements, voire parfois de coma. Chez les femmes enceintes, elle est responsable d'avortement. La listériose peut se manifester aussi par une septicémie.

2.5.3. *Campylobacter jejuni*

C. jejuni est la cause la plus commune d'infection gastro-intestinale humaine aiguë. Les réservoirs sont généralement les volailles crues ou insuffisamment cuites.

Cette bactérie a des exigences de développement inhabituelles. Les conditions optimales sont de 42°C et 5% d'oxygène. Un taux d'oxygène de 21% peut être inhibiteur. On a trouvé que le nombre de *C. jejuni* diminue plus rapidement dans les aliments entreposés à la température ambiante qu'à 40°C. Cet organisme est aussi sensible à la congélation, à la déshydratation et au chlorure de sodium.

Cette bactérie est fragile ; elle est généralement détruite par les méthodes conventionnelles utilisées pour éliminer les entéropathogènes intestinaux contenus dans les aliments. Cependant, on assiste souvent à une contamination secondaire entre les aliments crus et cuits. Il faut donc observer des pratiques hygiéniques et des procédures strictes de préparation et de transformation pour minimiser les risques associés à cette bactérie.

2.6. Moisissures toxigènes et mycotoxines

Certaines espèces de moisissures produisent dans les aliments des métabolites nocifs appelés mycotoxines.

Les mycotoxines ont été la cause de décès durant des siècles dans différentes régions du Monde. L'ergotisme est l'une des premières mycotoxicoses reconnues comme affectant les êtres humains. Il est dû à *Claviceps purpurea*, une moisissure qui contamine les grains de céréales. En 857, un empoisonnement s'est produit dans la vallée du Rhin et, depuis lors, il a été observé de nombreuses fois. L'apparition la plus récente a eu lieu dans le sud de la France en 1951. Entre les années 1930 et 1940, des milliers de russes sont morts pour avoir consommé des grains moisies. Au Japon, c'est le riz moisi qui a été signalé comme causant des lésions sérieuses du foie, des hémorragies, voire la mort.

En 1960, l'attention des chercheurs a été attirée par la mort subite en Grande Bretagne de 100000 dindonneaux après ingestion d'une farine d'arachide moisie en provenance du Brésil. Les substances responsables, baptisées aflatoxines, étaient produites par la moisissure *Aspergillus flavus*.

Chez les êtres humains, de faibles niveaux d'aflatoxines dans l'alimentation causent le cancer primitif du foie. Il y a corrélation entre l'incidence du cancer du foie chez les populations et les niveaux d'aflatoxines dans les produits alimentaires de base.

Cependant, la présence d'une moisissure toxigène dans un aliment n'implique pas forcément la contamination par la toxine correspondante. De même, l'absence d'une moisissure toxigène visible ne signifie pas que le produit est forcément exempt. C'est notamment le cas des produits d'élevage (lait, œufs) lorsque les animaux ont été nourris avec des aliments contaminés.

Tout comme les bactéries, les moisissures exigent des conditions de température, d'humidité et de nutrition pour se développer et synthétiser leurs toxines de façon optimale. Le plus souvent, la contamination des produits végétaux par la moisissure se fait au champ et pendant la récolte, mais la plupart des espèces toxigènes se multiplient abondamment au cours de l'entreposage, pour peu que les conditions soient propices.

La prévention consiste essentiellement à éviter l'endommagement des produits au cours de la récolte, puis à observer des conditions d'entreposage (humidité, température, durée) défavorables à la prolifération des moisissures et à la synthèse de leurs toxines.

Le tableau II donne quelques exemples de moisissures toxinogènes et leurs mycotoxines

Tableau II- Exemples de moisissures toxinogènes et de mycotoxines

Moisissures	Mycotoxines	Effets biologiques
<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. parasiticus</i>	Aflatoxines	Cancérogènes pour les animaux de laboratoire et probablement pour l'Homme. La forme B ₁ est la plus toxique. Les vaches qui ingèrent B ₁ excrètent M ₁ dans le lait.
<i>A. versicolor</i>	Stérigmatocystine	Toxique et cancérogène
Espèces de <i>Penicillium</i>	Acide pénicillique	Toxique pour les Mammifères, cancérogène pour le rat et la souris
<i>A. ochraceus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i>	Ochratoxines	Forme A cancérogène pour la truite ; destruction des reins et du foie chez certains animaux
Plusieurs espèces, surtout de <i>Penicillium</i> et d' <i>Aspergillus</i>	Patuline	Antibiotique, avec effets cancérogènes et mutagènes.
Espèces de <i>Fusarium</i>	Toxine T-2	Irritations de la peau
<i>Fusarium graminearum</i>	Zearalénone	Œstrogène secondaire : hyperœstrogénèse chez la truie
<i>P. citrinum</i>	Citrinine	Lésions rénales chez le rat, le lapin, le cobaye, le porc
<i>F. moniliforme</i>	Fumonisine	Encéphalomalacie du cheval, entre autre

3- La flore indice de contamination fécale

La flore indice de contamination fécale comprend de nombreuses espèces microbiennes, rassemblées notamment en 2 groupes bactériens : les Coliformes et les Streptocoques fécaux. Cette flore n'est pas nécessairement dangereuse. Mais du fait de son origine fécale (elle vit dans les intestins de l'Homme et des animaux), sa présence dans les aliments est signe de mauvaise hygiène.

Par ailleurs, elle pourrait être accompagnée d'autres espèces plus redoutables issues du même habitat, mais plus difficiles à rechercher (*Salmonelles*, *Vibrio*, etc.).

3.1. Les Coliformes

Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives à Gram négatif en forme de bâtonnets, non sporulées et fermentant le lactose avec production de gaz. Elles appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* et comptent plus de 20 espèces, réparties en Coliformes fécaux et non fécaux.

Tous les Coliformes produisent du gaz par fermentation du lactose à 32°C (en 48h) : principalement *Escherichia coli*.

Les Coliformes fécaux, eux, sont capables de fermenter le lactose avec production de gaz à 44,5°C (en 48h).

La présence des Coliformes (notamment fécaux) est très difficile à éviter dans les produits crus, surtout d'origine animale.

Ces bactéries sont sensibles aux traitements thermiques (éliminés par la basse pasteurisation du lait). De ce fait, leur présence dans un produit traité thermiquement signifie soit un traitement insuffisant, soit une contamination post-traitement (matériel, personnel, mélange avec produit non traité).

Les Coliformes sont peu exigeants du point de vue nutritif et ont une vitesse de croissance très élevée ; une faible contamination peut devenir très abondante en peu de temps si on ne prend pas de mesures pour arrêter leur développement.

Remarques :

- 1) Certains sérotypes d'*Escherichia coli* sont pathogènes et/ou toxigènes (voir § 2.3.1)
- 2) Les Coliformes peuvent causer des altérations (gonflements précoces en fromagerie)

3.2. Les Streptocoques fécaux (entérocoques)

Cocci à Gram positif, non sporulés, immobiles, à catalase variable et aéro-anaérobies facultatifs, les entérocoques appartiennent à la famille des *Streptococcaceae*. Ils possèdent un métabolisme fermentatif et produisent de l'acide lactique et/ou de l'acide acétique, de l'acide formique, de l'éthanol et du CO₂ à partir des glucides.

Les Streptocoques fécaux forment le groupe D dans la classification sérologique de Lancefield.

Ce groupe comprend 5 espèces :

Streptococcus faecalis (var. *zymogenes* et var. *liquefaciens*)

S. faecium

S. avium (anciennement *S. durans*)

S. bovis et *S. equinus* (anciennement *S. viridans*)

Les Streptocoques fécaux résistent aux traitements thermiques bas (exemple : 63°C, 30 min), se développent bien en présence de 6,5% de NaCl, de même qu'en présence d'acétate de thallium à 0,1% et d'azide de sodium à 0,2%.

Ce sont de bons indices de contamination fécale, surtout lorsqu'ils sont associés aux Coliformes. Leur présence en l'absence de Coliformes indique une contamination fécale ancienne. Mais on peut les retrouver (sans les Coliformes) dans le lait pasteurisé (risque d'altération par leurs protéases)

Certaines espèces produisent des entérotoxines.

Remarque : le rapport Coliformes fécaux/entérocoques peut être utilisé pour déterminer l'origine humaine ou animale de la contamination fécale. Dans un délai de 24h après la contamination de l'aliment, ce rapport est voisin de 4 pour l'Homme, alors qu'il est beaucoup plus faible pour les animaux (< 0,5 en général)