

# **MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE**

Nouvelle édition actualisée

Christiane JOFFIN

Jean-Noël JOFFIN

**Lexitis Éditions**

19 rue Larrey 75005 Paris

[www.lexitiseditions.fr](http://www.lexitiseditions.fr)

Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle, faite par quelque procédé que ce soit, sans l'autorisation de l'éditeur est illicite et constitue une contrefaçon sanctionnée par les articles L 335-2 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Seules sont autorisées les copies ou les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective, ainsi que les analyses et courtes citations justifiées par le caractère critique, scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées sous réserve du respect des dispositions légales prévues (L 122-4 et L 122-5, L 122-10 à L 122-12).

ISBN : 978-2-36233-195-4 - Dépôt légal : février 2025.

Cet ouvrage a été imprimé au sein de l'Union européenne sur du papier certifié issu de forêts durablement gérées.

# AVANT-PROPOS

Cet ouvrage a été publié pendant de nombreuses années par le CRDP d'Aquitaine du réseau Canopé, qui a décidé de l'abandon de l'édition à l'épuisement de la 6<sup>e</sup> édition (2010).

Nous avons décidé de la reprendre pour continuer d'offrir aux étudiants et aux professeurs un tour d'horizon que nous espérons complet du sujet permettant notamment aux étudiants de réaliser les manipulations nécessaires pour comprendre les démarches théoriques de la microbiologie alimentaire.

L'objectif premier est de fournir à l'étudiant intéressé les bases lui permettant, de façon suffisamment simple, de comprendre la microbiologie des aliments. D'autres ouvrages ou recherches de textes officiels seront nécessaires pour une utilisation suivant la réglementation dans un laboratoire. La bibliographie recense des ouvrages importants qui seront complétés par les normes ou les directives-règlements européens ou les textes nationaux.

Un site internet facilitera l'accès aux documents officiels, aux erratums inévitables et aux compléments utiles.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs ont une pensée pour Messieurs les inspecteurs généraux Jean FIGARELLA et Guy LEYRAL qui ont permis l'édition et la diffusion de l'ouvrage en assurant sa qualité scientifique.

Ils remercient également Antoine GAUDIN pour sa relecture des éditions précédentes, Florent VIOLET pour ses contributions dans le changement de réglementation.

Les informations de Frédéric MARTINEZ (Neogen), Augustin YVORRA (I2A) et Alberto LENNER (Chromagar) ont été particulièrement utiles.

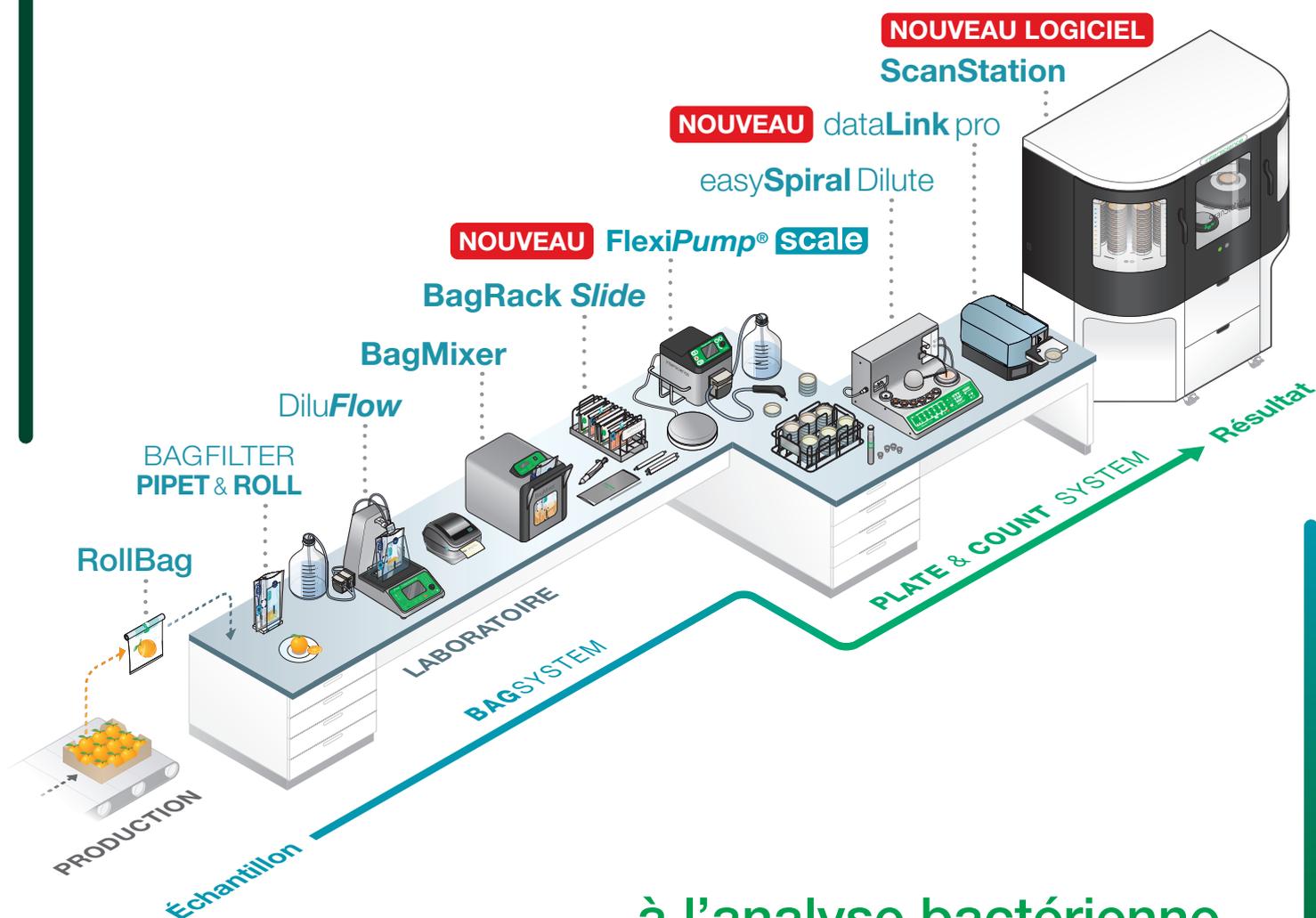
## SCHÉMAS ET PHOTOGRAPHIES

Les schémas et photographies ont été réalisées par les auteurs sauf indication contraire.

Remercions :

- Pierre CORNET
- Florent VIOLET
- Pascal FRAPERIE
- Antoine GAUDIN
- Alphonse MEYER
- Rémi MOREDA
- Catherine POCHE
- Pascal PICQUOT
- Les fabricants et distributeurs qui ont soutenu la réalisation de ce travail.

## Du prélèvement de l'échantillon...



... à l'analyse bactérienne

Interscience fabrique en France depuis plus de 40 ans **une ligne de produits pour assurer des analyses microbiologiques sûres et rapides.**

interscience

# SOMMAIRE

AVANT-PROPOS.....	1
SOMMAIRE .....	3
<b>PARTIE 1 – MICROORGANISMES ET ALIMENTS .....</b>	<b>5</b>
CHAPITRE 1 – LA FLORE MICROBIENNE DES ALIMENTS : ORIGINE ET RÔLE .....	7
CHAPITRE 2 – INTOXICATIONS ALIMENTAIRES .....	27
CHAPITRE 3 – PRINCIPES GÉNÉRAUX DE L'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE D'ALIMENTS .....	85
CHAPITRE 4 – DÉMARCHE SUIVIE EN CAS D'INTOXICATIONS ALIMENTAIRES (OU DE TOXI-INFECTIONS) .....	111
CHAPITRE 5 – ORGANISMES ET TEXTES DE RÉFÉRENCE DANS LE DOMAINE DE LA SÉCURITÉ ALIMENTAIRE .....	119
<b>PARTIE 2 – QUELQUES TYPES D'ALIMENTS ET LEUR ANALYSE .....</b>	<b>129</b>
EAUX .....	131
LAITS ET PRODUITS LAITIERS .....	139
VIANDES ET PRODUITS DE CHARCUTERIE .....	150
CONSERVES .....	158
PRODUITS CONGELÉS ET SURGELÉS .....	162
ŒUFS ET OVOPRODUITS .....	163
PRODUITS DE LA MER ET D'EAU DOUCE : POISSONS, CRUSTACÉS, CÉPHALOPODES, MOLLUSQUES, ÉCHINODERMES, TUNICIERS ET AUTRES ANIMAUX MARINS .....	167
VÉGÉTAUX .....	170
<b>PARTIE 3 – FICHES TECHNIQUES GÉNÉRALES .....</b>	<b>173</b>
AVERTISSEMENT SUR LES TECHNIQUES DÉCRITES .....	176
FICHE G1 : PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS .....	177
FICHE G2 : DILUTIONS .....	180
FICHE G3 : DÉNOMBREMENT (NUMÉRATION) : GÉNÉRALITÉS .....	183
FICHE G4 : FILTRATION SUR MEMBRANE (EAU).....	202
FICHE G5 : EXAMEN BACTÉRIOSCOPIQUE .....	207
FICHE G6 : TECHNIQUES UTILISANT LE RÉACTIF ANTICORPS .....	208
FICHE G7 : TECHNIQUES EN BIOLOGIE MOLÉCULAIRE .....	218
FICHE G8 : TECHNIQUES CONCERNANT L'HYGIÈNE DES LOCAUX .....	225
FICHE G9 : IDENTIFIER LES MICROORGANISMES .....	229
FICHE G10 : RECHERCHER DES VIRUS.....	230

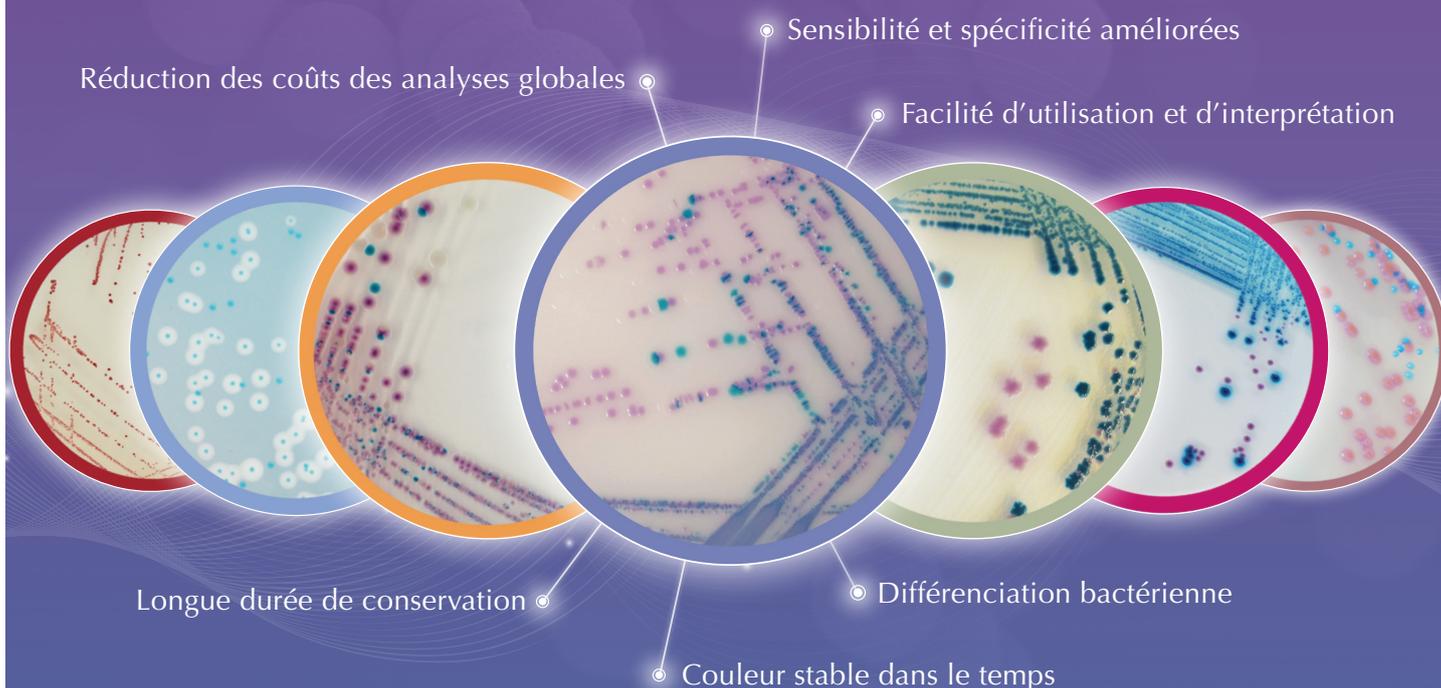
<b>PARTIE 4 – FICHES TECHNIQUES SPÉCIFIQUES</b> .....	<b>231</b>
FICHE S1 : MICROORGANISMES TOTAUX (« FLORE TOTALE »).....	233
FICHE S2 : COLIMÉTRIE.....	235
FICHE S3 : <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	241
FICHE S4 : <i>ENTEROBACTERIACEAE</i> (ENTÉROBACTÉRIES-ENTÉROBACTÉRALES).....	247
FICHE S5 : <i>SALMONELLA</i> .....	249
FICHE S6 : <i>STAPHYLOCOCCUS COAGULANS</i> + ( <i>AUREUS</i> ) ET ENTÉROTOXINES .....	255
FICHE S7 : <i>CLOSTRIDIUM PERFRINGENS</i> ET <i>CLOSTRIDIUM SULFITORÉDUCTEURS</i> .....	260
FICHE S8 : <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> .....	263
FICHE S9 : <i>ENTEROCOCCUS</i> (« EX-STREPTOCOQUES FÉCAUX ») .....	271
FICHE S10 : <i>CRONOBACTER SAKAZAKII</i> .....	274
FICHE S11 : <i>E. COLI</i> O157:H7 ET EHEC.....	276
FICHE S12 : <i>YERSINIA ENTEROCOLITICA</i> .....	281
FICHE S13 : <i>BACILLUS CEREUS</i> .....	285
FICHE S14 : DIVERS .....	288
FICHE S15 : TECHNIQUES PROPRES À L'ANALYSE DU LAIT .....	294
<b>PARTIE 5 – RÉFÉRENCES</b> .....	<b>307</b>
GLOSSAIRE.....	309
INDEX DES SIGLES .....	333
BIBLIOGRAPHIE ET RÉFÉRENCES DES TEXTES OFFICIELS .....	335

# **PARTIE 1**

# **MICROORGANISMES ET ALIMENTS**

L'EXPERTISE  
**CHROMOGÈNE**  
AU SERVICE DE L'AGROALIMENTAIRE

Une gamme complète...



...disponible en forme déshydratée

Pour *E. coli*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter*, *Bacillus cereus*,  
*Listeria monocytogenes*, *Enterobacteriaceae*, *Clostridium perfringens*, *Yersinia enterocolitica*...

Découvrez tous nos produits sur [CHROMagar.com](http://CHROMagar.com)

**CHR**  **Magar**<sup>TM</sup>  
The Chromogenic Media Pioneer

# CHAPITRE 1

## LA FLORE MICROBIENNE DES ALIMENTS : ORIGINE ET RÔLE

Les règles sanitaires, parfois draconiennes, d'aujourd'hui, la peur des « microbes » et de la maladie laissent penser que les « microbes » sont forcément mauvais.

Pourtant, ils sont omniprésents dans de très nombreux aliments car rares sont les aliments stériles. Parfois simples contaminants plus ou moins indésirables, mais, dans d'autres circonstances, ils sont l'« âme » de l'aliment : sans eux, le goût de l'aliment serait différent. Pas de yaourt sans bactéries lactiques, pas de roquefort sans *Penicillium roquefortii*...

Au travers de la fabrication de quelques exemples d'aliments, vont être abordées l'origine de présence des microorganismes, leur importance dans la fabrication ainsi que leurs conséquences négatives.

### 1. Exemples de fabrication d'aliments

Tout ce qui est ingéré pour nourrir peut être considéré comme aliment apportant toutes les molécules indispensables à l'entretien et la croissance de l'organisme. L'ensemble des aliments absorbés constitue un cocktail de molécules minérales et organiques proche de la propre composition biochimique de l'organisme. Chaque aliment pris individuellement ne contient pas toutes les molécules indispensables, à de rares exceptions près. Une alimentation variée est donc utile pour combler les carences qui sinon surviendraient.

Les aliments sont très nombreux et existent sous des formes très variées : eau, lait, yaourt, fromages, viande (crue ou cuite), pâtés, fruits et légumes, poissons, œufs, mélanges sous formes de plats cuisinés...

Voici quelques exemples d'aliments et de techniques de fabrication utilisées pour leur confection.

<p><b>VIANDE</b></p>		<p>Dans un premier temps, l'animal est abattu (tué) puis découpé. Les quartiers de viande sont placés au froid pendant un certain temps assurant une « maturation » dans laquelle interviennent les enzymes de la viande et les enzymes microbiens. Ces quartiers de viande sont ensuite distribués aux bouchers par l'intermédiaire de camions frigorifiques. Le boucher peut alors débiter la viande et la vendre aux consommateurs, la conservation se faisant au froid chez le boucher comme chez le consommateur.</p>
<p><b>PÂTÉS</b></p>		<p>Les pâtés sont réalisés essentiellement à partir de viandes et de lard, hachés et éventuellement additionnés de divers ingrédients. Cuisson et gras assurent la conservation de l'ensemble (pendant une durée limitée sauf pour les conserves de pâté).</p>
<p><b>EAU</b></p>		<p>L'eau, très mauvais milieu de culture si elle est propre, est consommée :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• sans traitement (eaux de sources ou minérales)</li> <li>• ou après traitement par des antiseptiques (chlore-ozone) ou des UV (ultra-violet) pour les eaux plus ou moins polluées (eaux des rivières par exemple). Des traitements chimiques sont parfois nécessaires pour rendre l'eau potable en éliminant particules ou ions indésirables.</li> </ul>

<p><b>LAIT</b></p>		<p>Les traitements subis par le lait sont très variables.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• le lait cru est seulement réfrigéré et sa conservation très courte</li> <li>• les laits pasteurisés (chauffés : cf. fiches Lait) sont aussi réfrigérés et de conservation plus longue</li> <li>• les laits stérilisés peuvent par contre être conservés beaucoup plus longtemps à la température ambiante : ce sont de véritables conserves</li> </ul>
<p><b>YAOURT</b></p>		<p>Les yaourts sont souvent fabriqués à partir de laits pasteurisés dans lesquels on provoque la multiplication de bactéries lactiques (<i>Lactobacillus bulgaricus</i> et <i>Streptococcus thermophilus</i>) à chaud (40-45 °C environ). Ils sont ensuite conservés au froid</p>

(Pour des informations précises, se reporter notamment aux ouvrages de la collection Biosciences du CRDP d'Aquitaine-Doin.)

On remarquera donc que les aliments sont tous, en général, obtenus par la **transformation** de matières premières d'origine animale ou végétale (sauf l'eau) :

- Les fromages sont du lait transformé.
- La viande n'est qu'une partie morte d'un animal ayant subi réfrigération et souvent cuisson avant sa consommation.

Pourquoi faire subir des transformations à ces matières premières ? Si un objectif organoleptique peut être relevé, il faut bien dire que la conservation est le but majeur. Il faut en effet lutter contre les microorganismes capables d'altérer l'aliment ou de le rendre dangereux. Vont donc être envisagées dans un premier temps, l'origine de ces microorganismes, et dans un deuxième temps les techniques assurant la conservation.

## 2. Origine des microorganismes présents dans un aliment

Les microorganismes des aliments peuvent préexister dans la matière première avant toute manipulation et/ou transformation, être apportés accidentellement lors des manipulations ultérieures de l'aliment, et/ou être ajoutés volontairement.

La règle des 5M détaille cinq origines possibles :

Matière première	Matériel	Main-d'œuvre	Milieu	Méthode
------------------	----------	--------------	--------	---------

### 2.1. Matière première

Tous les aliments (sauf l'eau) sont des êtres vivants ou une partie d'êtres vivants, animaux, végétaux ou champignons. Or, les parties des êtres vivants en contact avec l'extérieur (peau, tube digestif) ne sont pas stériles : les microorganismes de ces zones peuvent donc se retrouver dans l'aliment. Leur nombre dépendra des conditions de conservation.

D'autre part, les animaux comme les végétaux peuvent être malades, et les microorganismes pathogènes responsables peuvent se retrouver dans l'aliment correspondant.

### 2.2. Matériel

Le matériel et les machines utilisés pour les transformations (couteaux, broyeurs, plats...) ainsi que les eaux de lavage ne sont pas stériles. Ils apportent donc des microorganismes, et cela d'autant plus qu'ils ne seront pas nettoyés et désinfectés correctement.

## 2.3. Main-d'œuvre

Manipulant les aliments, le personnel de préparation peut apporter de nombreux microorganismes, par l'intermédiaire :

- **de la peau, des poils et cheveux** souvent en contact direct avec les aliments, d'où le port de gants et d'une coiffe couvrante dans les industries alimentaires ;
- **de la bouche** (éternuements, crachats), et aussi de la classique dégustation des plats par les cuisiniers prélevant l'aliment avec leurs doigts, d'où le port de masques dans les industries alimentaires ;
- **des vêtements**, d'où le port d'une tenue de travail spécifique réservée aux ateliers de fabrication dans les industries alimentaires.

Le problème des infections cutanées ou rhinopharyngées et de l'hygiène générale du personnel est donc crucial : on ne peut pas admettre qu'un pâtissier prépare une crème avec une plaie ou un panaris au doigt.

Le cas des porteurs asymptomatiques (sains), personnes hébergeant comme commensales des bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes, est beaucoup plus délicat.



Figure I.1.1 – Cuisinière goûtant un plat à la cuillère en bois

## 2.4. Milieu

Il peut être aussi source de contamination, notamment :

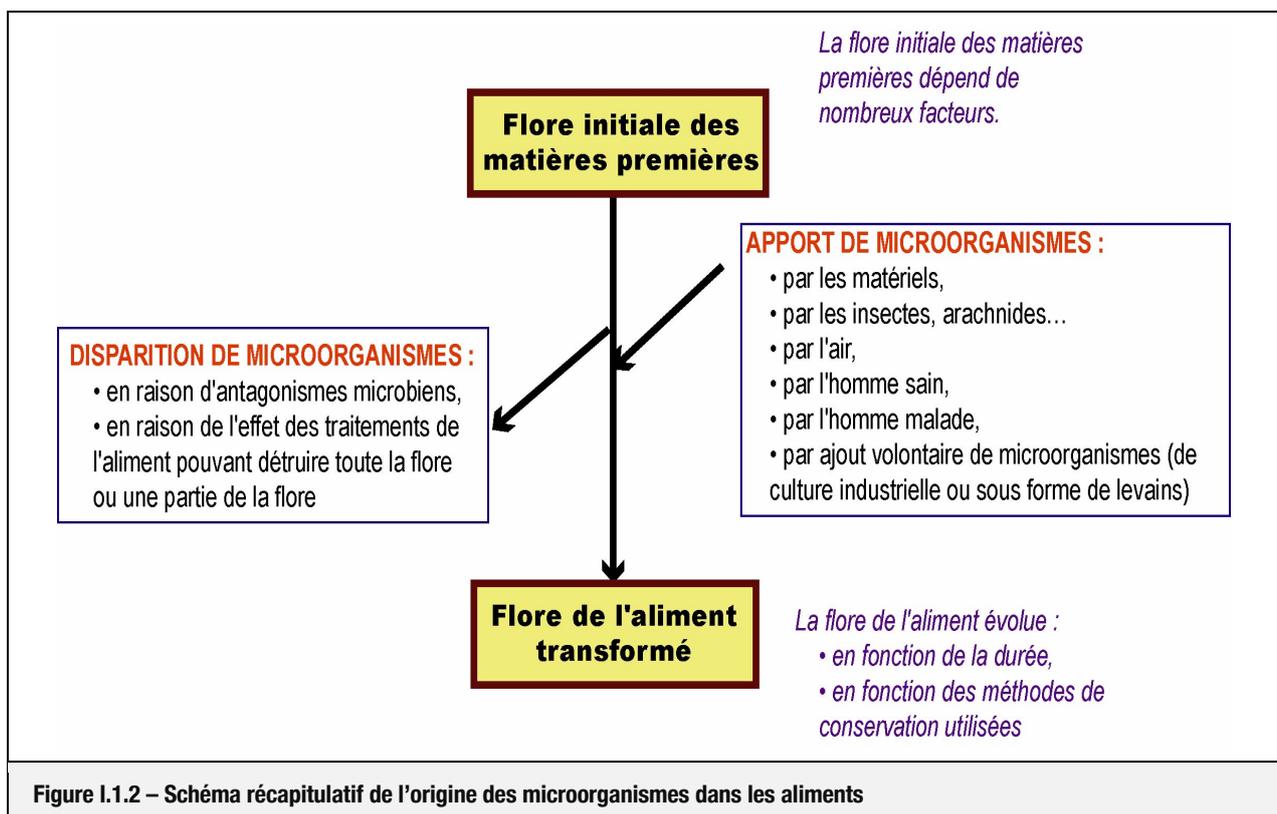
- **par l'air**, apportant des microorganismes adhérant aux diverses particules en suspension (aérosols), ce qui conduit parfois à travailler en salle microbiologiquement maîtrisée ;
- **par les insectes et arachnides** qui sont des vecteurs très dangereux de microorganismes : imaginons la mouche qui s'est posée sur une crotte de chien... ;
- **par les rongeurs** (souris et rats).

Il est donc nécessaire de lutter contre les ravageurs.



## 2.5. Méthode

Certains aliments (yaourts, saucissons...) sontensemencés par des « ferments », le plus souvent des bactéries lactiques.



## 3. Conséquences sur l'aliment de la présence de microorganismes

### 3.1. Conséquences positives

L'addition volontaire de microorganismes est un élément essentiel du procédé de fabrication pour certains aliments. Les microorganismes présents dans la matière première ou apportés par les locaux peuvent aussi intervenir dans le procédé de façon peu contrôlée : les levures contaminant le raisin sont celles qui vont permettre la fabrication du vin. Toutefois, on préfère aujourd'hui maîtriser au mieux l'action des microorganismes en les ajoutant volontairement à partir de souches industrielles sélectionnées.

Les transformations provoquées par les microorganismes sont avant tout la production de métabolites responsables des qualités organoleptiques de l'aliment et intervenant sur sa conservation. L'éthanol et l'acide lactique en sont les deux principaux représentants, mais bien d'autres participent à la complexité du produit final.

Remarque :

Certains microorganismes utiles dans les uns peuvent être nuisibles dans d'autres :

- les bactéries lactiques sont utiles au yaourt et nuisibles au lait ;
- les moisissures sont utiles dans les fromages « bleus » et nuisibles dans la plupart des autres aliments.

### 3.2. Conséquences négatives : intoxications alimentaires et/ou altérations

En règle générale, pour être nuisibles, les microorganismes doivent être en grand nombre. Quelques intoxications alimentaires font exception.

#### 3.2.1. Intoxications alimentaires

Les intoxications alimentaires sont dues soit à la présence de microorganismes pathogènes déclenchant une infection soit à des toxines préformées. Elles sont développées dans le chapitre II.

#### 3.2.2. Les altérations provoquées par les microorganismes nuisibles

Certains microorganismes, sans être dangereux pour le consommateur, vont être responsables de modifications de goût, d'aspect, d'odeur, entraînant :

- une dégradation des qualités organoleptiques de l'aliment ;
  - une altération de la valeur marchande, et donc une perte financière pour le producteur.
- **Altérations de l'aspect ou de la texture**
    - pigmentation anormale (rose pour *Serratia* ; noire ou verdâtre pour les moisissures) ;
    - film visqueux ou irisé (dû aux bactéries aérobies strictes dans les aliments conservés à l'air libre) ;
    - dégagements gazeux anormaux ;
    - viscosité anormale (gélification par des bactéries capsulées ou par production de dextrane à partir du saccharose par *Leuconostoc*).



**Figure 1.1.3 – Exemple d'altération d'un yaourt (moisissure) comparée au yaourt normal**

Ces altérations peuvent ne pas présenter de toxicité mais rendent le produit peu appétissant ou invendable.

- **Altérations du goût et de l'odeur**

- odeur de moisi (moisissures, actinomycétales...);
- goût de rance dû au diacétyl (butanedione) produit par *Leuconostoc* ;
- présence d'H<sub>2</sub>S, d'indole ou d'amines d'odeur désagréable (entérobactéries...).

- **Altérations des qualités nutritives**

Elles peuvent être dues à la destruction de molécules nutritives (comme des acides aminés essentiels), d'où une diminution de la valeur nutritive de l'aliment.

## 4. Microorganismes et conservation des aliments

Lors de la fabrication des aliments, divers traitements sont réalisés.

Deux raisons fondamentales expliquent la mise en œuvre de ces traitements :

- nécessité de **conservation** puisque les aliments sont d'excellents milieux de culture pour les microorganismes qu'ils contiennent en général car ils sont rarement stériles ;
- recherche d'une **modification du goût ou/et de la digestibilité**, qui est le plus souvent une conséquence de la conservation...

En règle générale, ces deux raisons sont confondues et liées à des phénomènes de civilisation (habitudes alimentaires, causes économiques...).

### 4.1. Les divers procédés

Pour le microbiologiste, fabriquer un aliment c'est d'abord, même si les conséquences gastronomiques sont parfois importantes, trouver des moyens de conserver un aliment non stérile pour une longue durée :

- soit en empêchant la multiplication des germes présents,
- soit en détruisant les germes présents,
- soit en provoquant ou en favorisant la prolifération de germes « utiles », qui n'altèrent pas l'aliment (ou mieux participent à sa fabrication) et qui limitent les populations de nuisibles. Ces germes « utiles » peuvent être ajoutés volontairement ou non.

Différentes techniques sont possibles et sont souvent utilisées en combinaison : un yaourt est acide et conservé au réfrigérateur ce qui limite la prolifération des microorganismes...

#### 4.1.1. Procédés empêchant la prolifération des microorganismes nuisibles par destruction ou inhibition

##### Le froid

La plupart des microorganismes ne sont pas tués par le froid, mais tous voient leur croissance arrêtée ou fortement ralentie.

- **La surgélation** et la congélation arrêtent « pratiquement » toute multiplication microbienne et toute activité enzymatique. La conservation en froid négatif sera longue.
- **La réfrigération** ralentit considérablement les multiplications, mais la conservation au « froid positif » est plus courte.



##### La chaleur

Les microorganismes sont généralement tués par la chaleur. Toutefois, leur résistance est variable selon leur nature : les endospores sont particulièrement résistantes. Sont mises en œuvre :

- **La cuisson** : moyen le plus ancien d'élimination de microorganismes.
- **La pasteurisation** : moyen de destruction de nombreux microorganismes par un chauffage modéré (fiche technique S16), utilisée pour le lait (avant la stérilisation UHT) ainsi que pour de nombreux produits (jus de fruits...).
- **La stérilisation** : moyen le plus radical puisqu'il permet la destruction de tous les microorganismes de l'aliment, en particulier des spores, ainsi que l'inactivation de la plupart des toxines et des enzymes.

Le chapitre suivant apporte des précisions sur les effets de la chaleur.

## Des produits chimiques (conservateurs, antiseptiques ou antibiotiques)

De nombreuses molécules ont une action sur les microorganismes en les tuant ou en les inhibant :

- **l'acide éthanoïque** (acide acétique) moyennement concentré dans le vinaigre et les préparations l'utilisant (cornichons par exemple), les acides citrique et lactique pour les carcasses de viande et de volailles ;
- le **dioxyde de soufre** et le **sulfite** dérivé (anhydride sulfureux  $\text{SO}_2$ ) souvent utilisés pour les fruits et leurs jus, qui inhibe en particulier les levures ;
- **l'acide benzoïque** et ses dérivés dans le caviar, les boissons gazeuses acides ainsi qu'en France dans la présure ;
- **l'acide sorbique** (2-4 diène-hexanoïque) et ses dérivés, antifongiques, dans les fruits notamment ;
- **l'acide propanoïque** (propionique) et ses dérivés, dans les farines et les pains de type pain de mie ;
- les produits de la **fumée** dans le fumage (un des constituants de la fumée est le méthanal ou formol) ;
- **les antiseptiques des eaux** (hypochlorite, chlore, brome, ozone...) et tous les conservateurs (additifs) ;
- un **antibiotique**, la nisine, peut parfois être ajouté aux conserves contre le bacille botulinique (*Clostridium botulinum*).

## Le dessèchement du milieu

La multiplication des microorganismes nécessite de l'eau. Un paramètre, l'activité de l'eau ou  $a_w$  (pour *Activity water*), mesure le degré de disponibilité de l'eau dans un aliment. L' $a_w$  est le rapport de la pression partielle en eau de l'aliment et de la pression de vapeur saturante à la même température, soit :

$$a_w = \frac{P_{\{eau; aliment\}}}{P_{\{vapeur saturante de l'eau\}}}$$

L' $a_w$  varie de 1 (eau pure) à 0.

Le minimum d' $a_w$  pour le développement microbien est de 0,95. Les levures, surtout osmophiles, peuvent se contenter de moins d'eau disponible ( $a_w$  jusqu'à 0,62). Voir tableau I.1.1.

La présence de molécules liant l'eau (sel, sucre, gels) est un moyen de diminuer l' $a_w$ . Ces molécules interviennent ainsi par ce biais dans la conservation.

Certaines techniques s'appuient donc sur le dessèchement du milieu pour diminuer la quantité de microorganismes et/ou leur croissance, et donc favoriser la conservation :

- séchage des aliments (poissons, fruits...) ;
- lyophilisation (sublimation de l'eau par congélation sous pression réduite) ;
- conservation dans l'huile ou les graisses ;
- saumurage à l'aide de chlorure de sodium à haute concentration (salage) ;
- conservation grâce au saccharose (sucre) à haute concentration (confitures).

### REMARQUE

La diminution de l' $a_w$  modifie les conditions écologiques de l'aliment : les microorganismes les plus résistants vont se multiplier contrairement aux autres.



Figure I.1.5 – Exemples : poisson séché, confiture

## Les radiations ionisantes (stérilisation)

Les radiations ionisantes (rayonnements  $\beta^-$ ,  $\gamma$ ) issues de la désintégration de noyaux radioactifs ( $^{60}\text{Co}$ ) ou d'accélérateurs d'électrons, détruisent des molécules essentielles et surtout les acides nucléiques des êtres vivants. Elles permettent donc de supprimer les contaminants d'aliments sans les chauffer. Les doses utilisées sont telles que les produits de radiolyse ne sont pas nocifs pour la consommation humaine.

## La pression

L'application d'une très forte pression (jusqu'à 600 MPa) à des produits préemballés dans un emballage souple, avec de l'eau comme intermédiaire, permet de réduire très fortement la flore de l'aliment. Ce procédé semble encore expérimental car complexe à mettre en œuvre, coûteux...

Valeur Aw	Limites maximales pour les microorganismes	Produits alimentaires compris dans ces valeurs
0,95	<i>Pseudomonas, Escherichia, Proteus, Shigella, Klebsiella, Bacillus, Clostridium perfringens, certaines levures</i>	Produits rapidement altérables (frais) aliments et fruits en boîtes, légumes, viande, poisson et laitage, saucisse cuite pain cuit; produits alimentaires contenant jusqu'à 40 % de sucre ou 7 % de sel
0,91	<i>Salmonella, Vibrio parahaemolyticus, C. botulinum, Serratia, Lactobacillus, Pediococcus, certaines moisissures, levures (Rhodotorula, Pichia...)</i>	Certains fromages (cheddar, suisse, munster, provolone), viande fumée (jambon), quelques concentrés de jus de fruits, les produits alimentaires contenant jusqu'à 55 % de sucre (saturés) ou 12 % de sel
0,87	<i>Beaucoup de levures (Candida, Torulopsis, Hansenula), des bactéries Micrococcus</i>	Saucisse sèche (salami), flans, fromages secs, margarine, les produits alimentaires contenant jusqu'à 65 % de sucre (saturés) ou 15 % de sel
0,80	<i>La plupart des types de moisissures (Penicillium mycotoxiques), la plupart des Saccharomyces (bailii) spp., Deborymyces, des bactéries Staphylococcus aureus,</i>	La plupart des concentrés de jus de fruits, le lait concentré sucré, les sirops de chocolat, d'érable et de fruits, les farines, riz et légumes secs avec 15-17 % d'eau; les gâteaux aux fruits; saucisses fumées, fondants
0,75	<i>La plupart des bactéries halophiles, Aspergillus mycotoxiques</i>	Marmelades, gelées de fruits, pâte d'amande, fruits confits, certains marshmallows
0,65	<i>Moisissure xérophile (Aspergillus chevaliers, A. candidus, Wallemia sebi), Saccharomyces bisporus</i>	Flocons d'avoine avec 10% d'eau, nougats, fondants, marshmallows, bouillies, mélasses, sucre brut, certains fruits secs, noix
0,60	<i>Levures osmophiles (Saccharomyces rouxi), certaines moisissures (Aspergillus echinulatus, Monascus bisporus)</i>	Fruits secs avec 15-20 % d'eau; certains toffees et caramels; miel
0,50	<i>Pas de croissance microbiologique élevée</i>	Pâtes alimentaires avec 12 % d'eau; épices avec 10% d'eau
0,40	<i>Pas de croissance microbiologique élevée</i>	Œufs en poudre avec 5 % d'eau environ
0,30	<i>Pas de croissance microbiologique élevée</i>	Cakes, biscuits secs, croûte de pain, etc. avec 3-5% d'eau environ
0,20	<i>Pas de croissance microbiologique élevée</i>	Poudre de lait avec 2-3 % d'eau environ; fruits secs avec 5 % d'eau environ, flocons de céréales avec 5 % d'eau environ, gâteaux aux fruits, cakes rustiques, biscuits secs

Tableau I.1.1 – Valeur de aw, croissance des microorganismes et aliments

#### 4.1.2. Utilisation de microorganismes utiles ajoutés

L'utilisation de microorganismes pour transformer des matières premières par apport de certains microorganismes modifie forcément les qualités organoleptiques de l'aliment : le lait n'est pas du yaourt.

Ils restent présents dans le produit en quantités plus ou moins importantes, apportant une flore de microorganismes vivants (« probiotiques »), quand ils sont consommés crus et pouvant être utiles au consommateur. Ce sont parfois de simples auxiliaires technologiques (cas des levures de fermentation éthanolique), souvent éliminées par filtration à la fin du process. Ils sont parfois ajoutés simplement pour éviter la culture de contaminants.

Mais le but initial de la fabrication d'un nouvel aliment par apport de certains microorganismes est souvent la **conservation** du produit originel :

- Yaourt et fromages, faciles à conserver au frais bien que le lait soit un aliment très fragile et de conservation très limitée (avant les techniques de stérilisation UHT) ;
- Saucisson, facile à conserver longtemps bien que la viande et le gras de porc crus soient particulièrement sujets aux altérations.

La multiplication des seuls microorganismes utiles peut être réalisée de deux manières compatibles entre elles :

- L'ensemencement : addition de microorganismes sous la forme d'un « levain » ou d'une culture (ferments...);
- La combinaison de diverses conditions permettant l'orientation de la flore présente dans l'aliment vers le but recherché, par exemple :
  - salage et réfrigération du caillé de lait dans la fabrication des fromages,
  - addition d'amylase, sous forme d'orge germé, et de levures au mélange d'eau et de graines amyliées pour la fabrication de la bière.

Lorsque les microorganismes présents avant les transformations sont gênants, ils peuvent être tués, par pasteurisation par exemple.

De nombreux microorganismes peuvent être utiles dans la transformation des aliments, (sachant qu'ils peuvent être nuisibles dans d'autres) :

- les bactéries dites « lactiques » ;
- les levures ;
- les moisissures ;
- les bactéries acétiques.

## Les bactéries lactiques

Ces bactéries produisent de l'acide lactique et éventuellement d'autres produits de fermentation qui interviendront dans le goût. L'acidité produite permet la conservation de l'aliment en inhibant la culture de très nombreuses bactéries.

Ce sont :

- des *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* ou *Leuconostoc* (coques Gram+, catalase-, aérobies) ;
- des *Lactobacillus* ;
- des *Bifidobacterium*.

La fermentation lactique est très utilisée pour la fabrication des yaourts, de produits lactés faussement appelés yaourt, du kéfir, du fromage, du beurre, de la choucroute (avec des levures), du saucisson...

## Les levures de la fermentation éthanolique (alcoolique)

Ces levures (*Saccharomyces* essentiellement) fermentent les glucides en éthanol et dioxyde de carbone. Elles sont utilisées pour la fabrication des boissons alcoolisées (vin, bière, eaux-de-vie...) mais aussi du pain où le dioxyde de carbone produit permet le gonflement (levée) de la pâte.

Le kéfir intègre aussi des levures en plus de bactéries lactiques

## Les moisissures

La fabrication des fromages utilise de nombreuses moisissures, soit en surface (*Penicillium camemberti* sur les camemberts), soit en profondeur par inoculation (*Penicillium roquefortii* dans les bleus). Ils participent à la transformation, au goût et à l'aspect du fromage.

Dans la fabrication du saké interviennent des moisissures amylolytiques.

## Les bactéries acétiques

Les bactéries acétiques (*Acetobacter* essentiellement) sont des bactéries aérobies strictes oxydant l'éthanol en acide acétique (éthanolique). Elles sont utilisées pour la fabrication du vinaigre, à partir du vin par exemple. Le vinaigre peut servir comme agent conservateur, les ions H<sup>+</sup> étant l'agent antimicrobien.

En réalité, les microorganismes utiles ne se limitent pas à cette liste. Les champignons microscopiques interviennent fréquemment dans la fabrication des nombreux produits (levures, *Geotrichum*, *Penicillium*...). D'autre part, de très nombreux microorganismes peuvent intervenir dans l'arôme de l'aliment : pensons aux vins ou aux fromages, à leur « goût de terroir » lié aux microorganismes de ce terroir pour les meilleurs d'entre eux. Dans le natto, préparation japonaise, ce sont des *Bacillus* qui apportent l'essentiel de la texture de ce produit.

Enfin, l'addition volontaire de microorganismes inhibiteurs de la flore de l'aliment (*Lactococcus*) est possible : une augmentation de la DLC (date limite de conservation) peut être obtenue ainsi qu'une meilleure sécurité alimentaire.

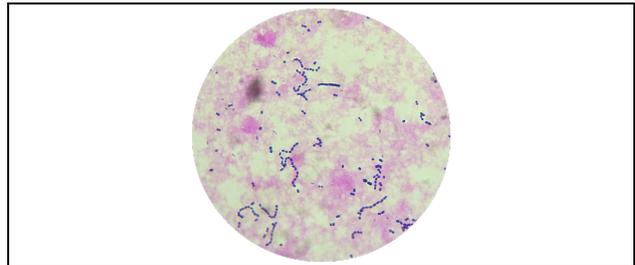


Figure I.1.6 – Gram réalisé sur un yaourt (quelques *Lactobacillus* et de nombreux *Streptococcus*) (Cliché Mélanie BONIZEC)

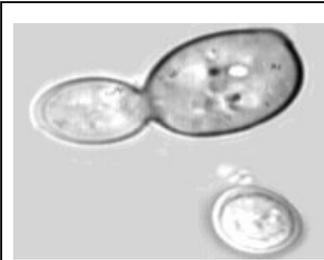


Figure I.1.7 – *Saccharomyces cerevisiae*

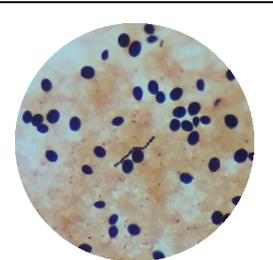


Figure I.1.8 – Gram de kéfir

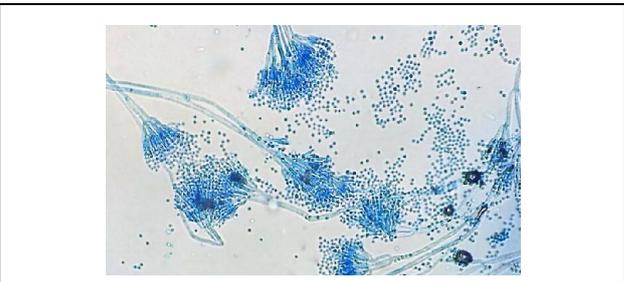


Figure I.1.9 – *Penicillium* au microscope coloré au bleu de méthylène

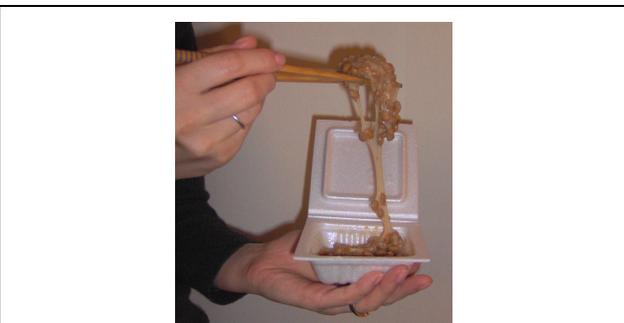


Figure I.1.10 – Le natto (photo Antoine GAUDIN)

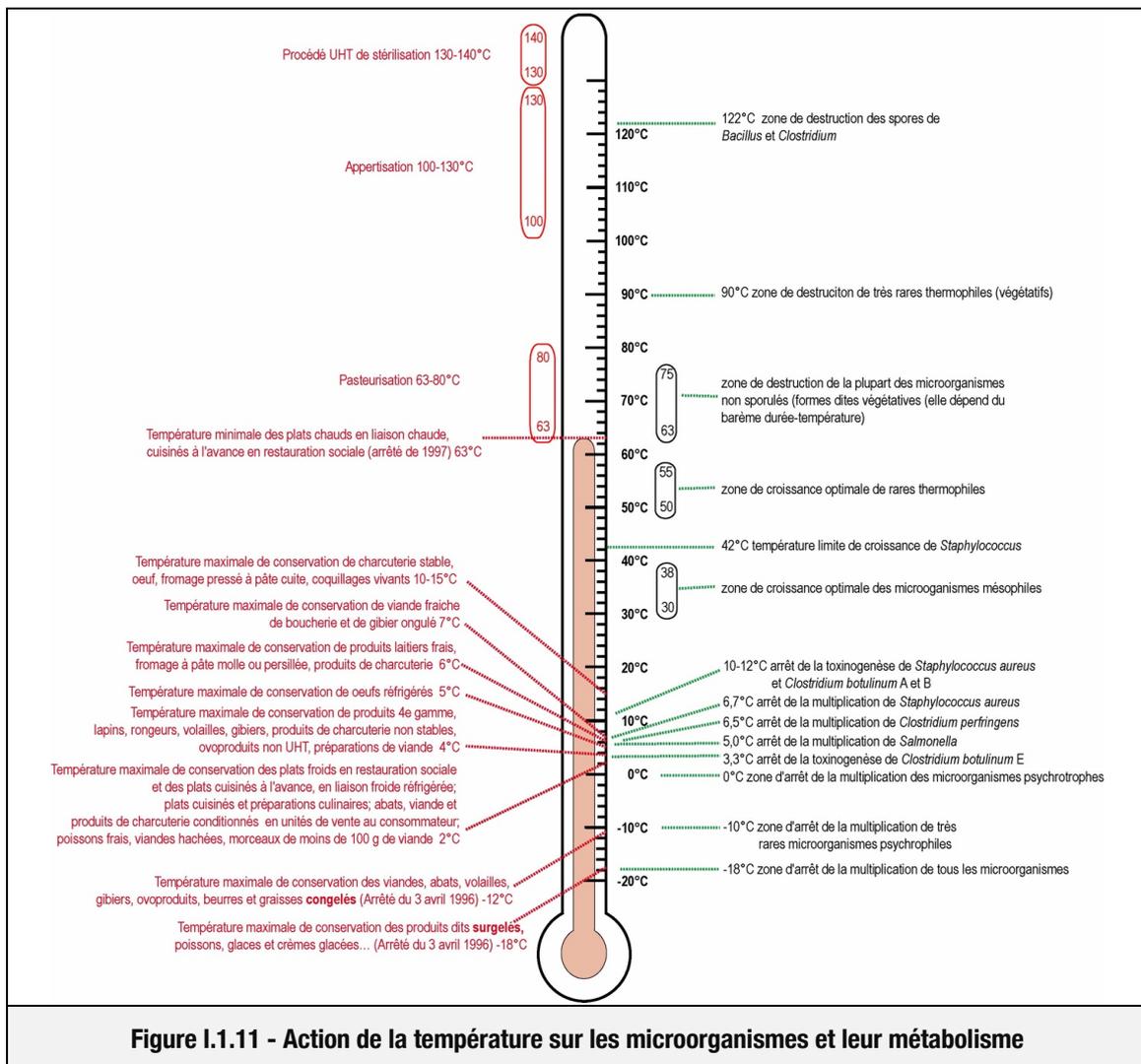


Figure I.1.11 - Action de la température sur les microorganismes et leur métabolisme

## 4.2. Quelques précisions sur l'effet de la chaleur sur les microorganismes

L'action de la chaleur sur les microorganismes est un problème particulièrement complexe. Les informations succinctes figurant ci-dessous ont pour but d'introduire l'étude et devront être complétées pour une meilleure connaissance.

La thermorésistance des microorganismes est fort variable selon leur nature, mais la forme sous laquelle ils se trouvent dans le produit, la nature des molécules de celui-ci, la flore associée, les traitements subis vont exercer une influence sur le degré de thermorésistance qui peut aussi varier en raison de l'hétérogénéité de la population.

### 4.2.1. Courbes de destruction par la chaleur

Dans l'action de la chaleur, deux paramètres entrent en jeu : durée d'action et température, par exemple 120°C durant 20 min. Des calculs complexes permettent de tenir compte de l'augmentation progressive de la température et de son évolution pour déterminer un couple durée-température équivalent aux valeurs fixées sur une seule température (courbes de Bigelow).

On considère que, dans des conditions bien définies, la variation du nombre de bactéries est proportionnelle à la durée. Un calcul d'intégration peut être réalisé :

Soit  $N_0$  le nombre initial de microorganismes à la date  $t_0$

$N$  le nombre initial de microorganismes à la date  $t$

La variation de  $N$  est proportionnelle à la durée :  $\frac{dN}{N} = -k \cdot dt$  ( $k$  est une constante)

On peut donc intégrer :  $\ln(N) = -k \cdot t + b$  ( $b$  est une contante)

Pour  $t = t_0$  alors  $N = N_0$  et donc  $\ln(N_0) = -k \cdot t_0 + b$  et donc  $b = \ln(N_0) + k \cdot t_0$

Donc :  $\ln(N) = -k \cdot t + \ln(N_0) + k \cdot t_0$  d'où  $\ln(N) - \ln(N_0) = -k \cdot (t - t_0)$

Soit :  $\ln\left(\frac{N}{N_0}\right) = -k \cdot (t - t_0)$  (la valeur de  $k$  dépend de la base du logarithme)

La courbe représentative de l'évolution de la concentration microbienne en fonction du temps est, en logarithme, une droite. Elle permet de déterminer, connaissant  $N_0$  nombre initial de microorganismes à la date  $t_0$ ,  $N$  le nombre de microorganismes à la date  $t$  et la vitesse de réduction logarithmique ( $k$ ).

#### 4.2.2. Durée de réduction décimale D

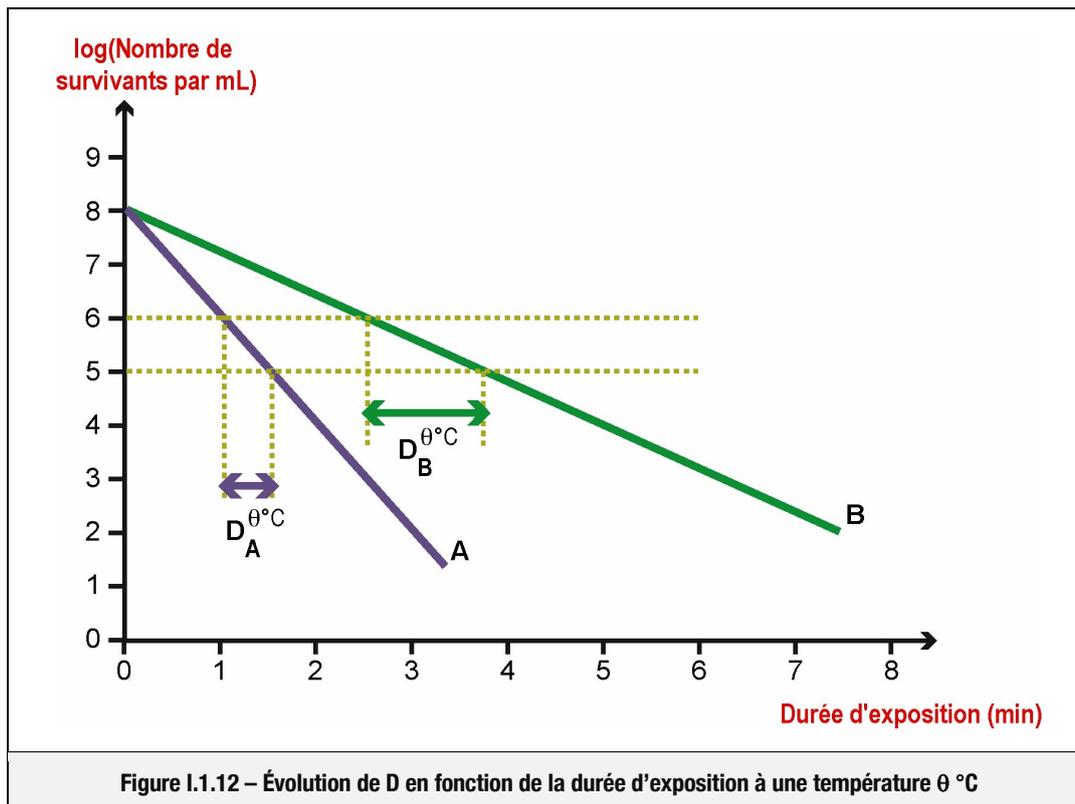
Si l'on appelle  $D_{10}$  la durée nécessaire à la réduction par 10 (réduction décimale) du nombre de microorganismes, alors, en choisissant une représentation en logarithme décimal :

Réduction décimale :  $N = 0,1 \cdot N_0$  Appliquons  $\log\left(\frac{N}{N_0}\right) = -k \cdot (t - t_0)$  soit  $\log\left(\frac{0,1 \cdot N_0}{N_0}\right) = -k \cdot D_{10}$

Donc  $\log(0,1) = -k \cdot D_{10}$  et donc  $-1 = -k \cdot D_{10}$

Alors :  $D_{10} = \frac{1}{k}$

Les courbes suivantes illustrent le positionnement de D pour deux bactéries différentes.



Voici quelques valeurs de D :

À 65,5 °C (bactéries non sporulées)	À 121 °C (bactéries sporulées)
10 s ..... <i>Brucella</i>	5 min ..... <i>Bacillus stearothermophilus</i>
12 à 15 s ..... <i>Salmonella</i>	1,5 min ..... <i>Clostridium sporogenes</i>
12 à 120 s ..... <i>Staphylococcus aureus</i>	0,15 min ..... <i>Clostridium botulinum</i> A et B
12 à 120 s ..... <i>Streptococcus pyogenes</i>	0,05 min ..... <i>Bacillus coagulans</i>
30 s ..... <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
30 à 180 s ..... <i>Levures et moisissures</i>	

### 4.2.3. Durée de destruction en fonction de la température ou du pH

Voici un exemple extrait de « *Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds* ». K. Oteng.Gyang. Technique et documentation). Un jus de maïs à pH 6,1 est contaminé par  $1,15 \cdot 10^5$  spores par  $\text{cm}^3$ . On mesure la durée nécessaire à la destruction de toutes les spores en fonction de la température. Les courbes de la **figure 8** sont obtenues.

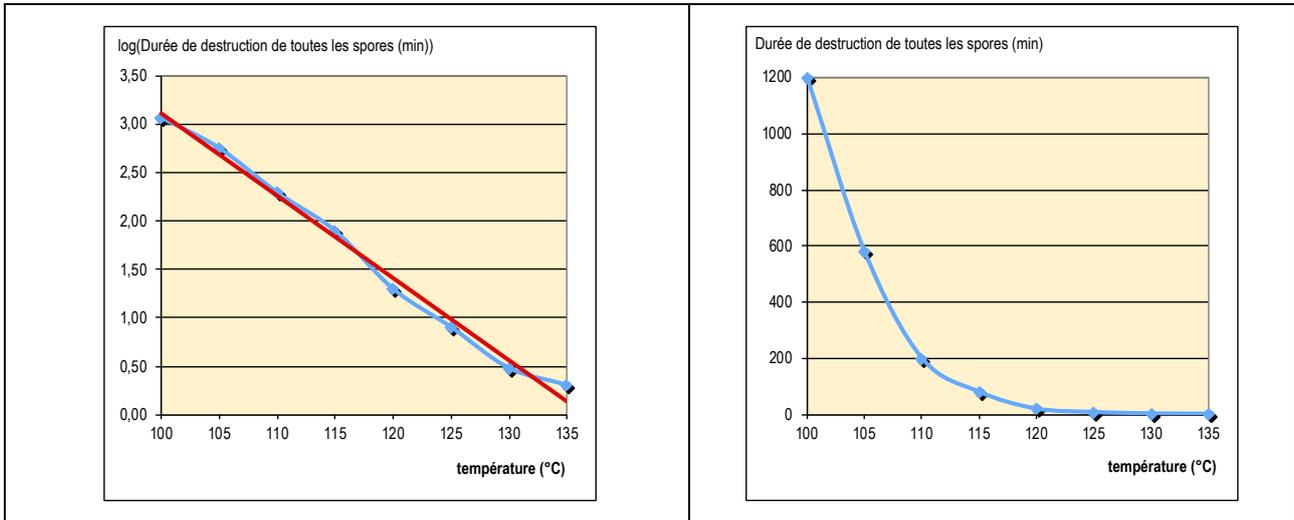


Figure I.1.13 – Durée de destruction des spores d'un *Bacillus* dans un jus de maïs à pH 6,1

Le constat est clair : plus la température est élevée et plus la destruction est rapide, le phénomène suivant une décroissance logarithmique.

La courbe équivalente en fonction du pH pour une température déterminée montre l'influence des conditions : les spores résistent mieux à pH neutre qu'acide (**figure I.1.13**).

L'action de la température peut conduire à déterminer un paramètre capital dans les industries utilisant la thermisation afin de réduire la durée d'exposition du produit : le facteur Z.

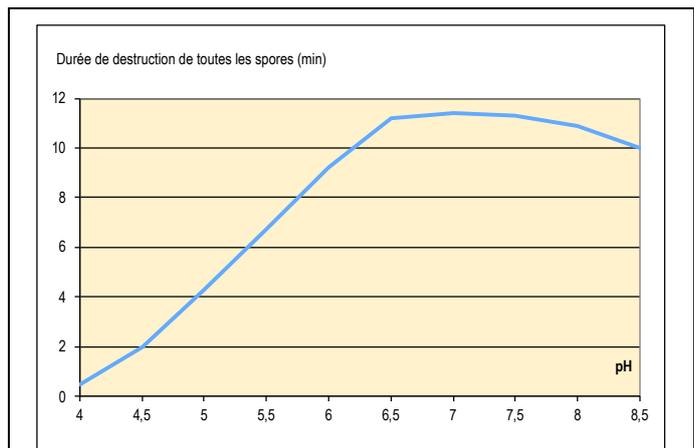
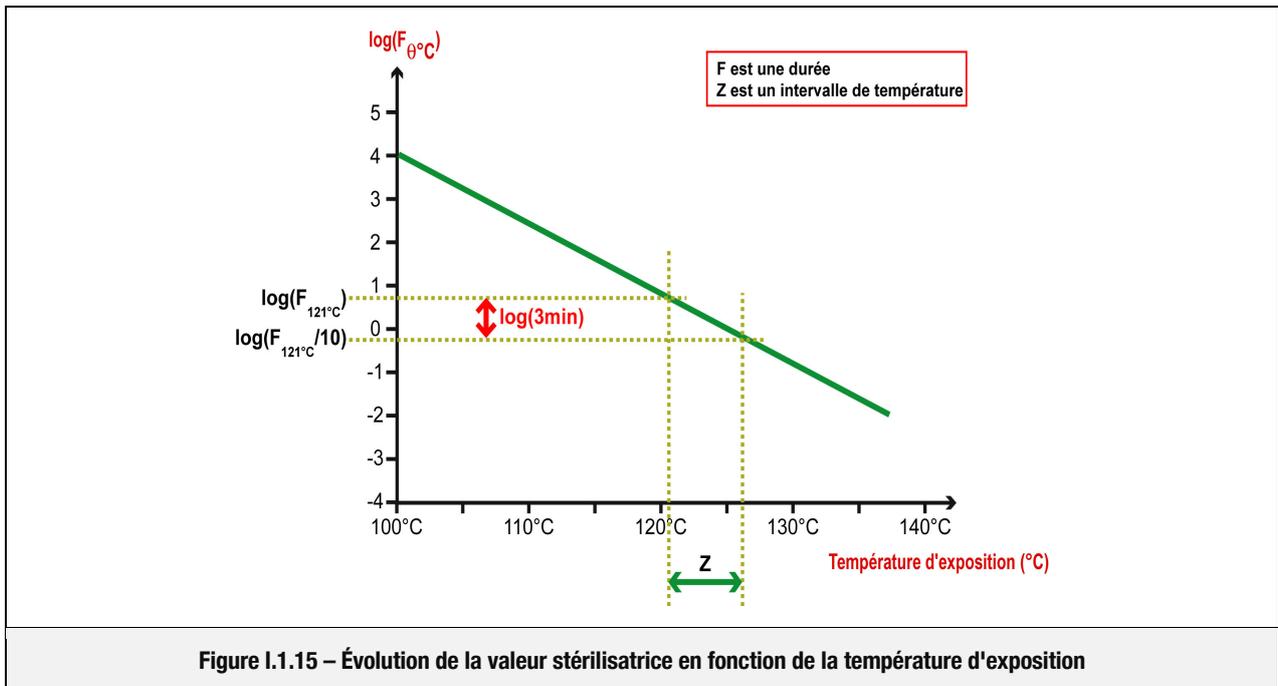


Figure I.1.13 – Durée de destruction des spores d'un *Bacillus* dans un jus de maïs à pH 6,1

### 4.2.4. Augmentation de température équivalente : le facteur Z

**Z est la valeur de l'augmentation de la température du procédé permettant de diviser par 10 la durée du chauffage pour atteindre le même effet de réduction microbienne.** Si l'on considère F, valeur stérilisatrice, c'est-à-dire le couple durée température assurant la stérilisation, fixé à 3 min pour 121 °C, on peut représenter l'évolution du logarithme de la valeur stérilisatrice F, en fonction de la température de stérilisation. L'évolution est linéaire.



Donc, dans cet exemple, si la température est élevée de 121,1 °C à 126,5 °C (soit  $Z = 5,4$  °C), la durée équivalente à l'effet de 3 minutes peut être réduite à 0,3 min. F est la valeur stérilisatrice, fixée à 3 minutes à 121,1 °C.

Le tableau suivant rassemble quelques valeurs de D et Z utilisables dans les barèmes de stérilisation ou de pasteurisation.

SOUCHES D'ENTEROCOCCUS	TEMPÉRATURE	D	Z (°C)
<i>E. faecalis</i> 19433 dans un jambon	70 °C	$D_{70\text{ °C}} = 0,44$ min	6,85 °C
<i>E. faecalis</i> souche du process dans un jambon	70 °C	$D_{70\text{ °C}} = 7$ min	17,00 °C
<i>E. faecalis</i> souches du process foie gras	65 °C	$D_{65\text{ °C}} = 2-6$ min	10,00 °C
	70 °C	$D_{70\text{ °C}} = 2-3$ min	
<i>E. faecium</i> E20 dans un jambon	70 °C	$D_{70\text{ °C}} = 4,7$ min	7,46 °C
<i>E. faecalis</i> P1a dans un jambon	70 °C	$D_{70\text{ °C}} = 7,9$ min	7,46 °C

## Conclusion

Pour les industriels utilisant les procédés thermiques pour assurer la sécurité et la conservation de leurs produits, les barèmes sont déterminés dans le procédé utilisé sur les bases suivantes :

Pour la **stérilisation**, il faut absolument détruire *Clostridium botulinum*. On estime qu'il faut pour cela un chauffage équivalent à 12 réductions décimales de *Clostridium botulinum*. La valeur de D à 121,1 °C étant de 0,21 min, la valeur stérilisatrice arrondie sera de 3 min.

Pour la **pasteurisation**, le barème doit permettre 13 réductions décimales d'une souche d'*Enterococcus faecalis*, bactérie test utilisée car la plus résistante des bactéries non sporulées classiques. C'est la valeur pasteurisatrice VP qui est fixée à 13 réductions décimales d'*Enterococcus faecalis* à 70 °C. **La valeur de la réduction décimale à 70 °C est de 2,95 min.** La valeur pasteurisatrice, à 70 °C est donc de 39 min.

Toutefois, le barème choisi est sous la responsabilité du fabricant : c'est lui qui, en fonction de ses études, déterminera la valeur stérilisatrice ou pasteurisatrice qu'il appliquera aux produits qu'il traite. Il est très difficile de prévoir, en fonction de chaque produit, une valeur fixée qui risquerait d'être très arbitraire.

# 5. Les méthodes d'organisation limitant les problèmes microbiologiques des produits biologiques

## 5.1. Démarche règlementaire

La réglementation européenne, au travers du « Paquet hygiène », modifie profondément l'approche de la microbiologie des aliments. La sécurité alimentaire repose dorénavant non pas uniquement sur le contrôle mais sur la mise en œuvre de procédés de fabrication sûrs et ceci notamment grâce à la mise en place d'une démarche HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*), associée à des contrôles légaux mais aussi décidés par l'entreprise. La philosophie a donc changé **pour permettre une plus grande sécurité alimentaire et une meilleure productivité**. L'introduction massive de la QUALITÉ et de ses démarches dans l'agroalimentaire est un grand progrès sanitaire.

## 5.2. Démarche HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*)

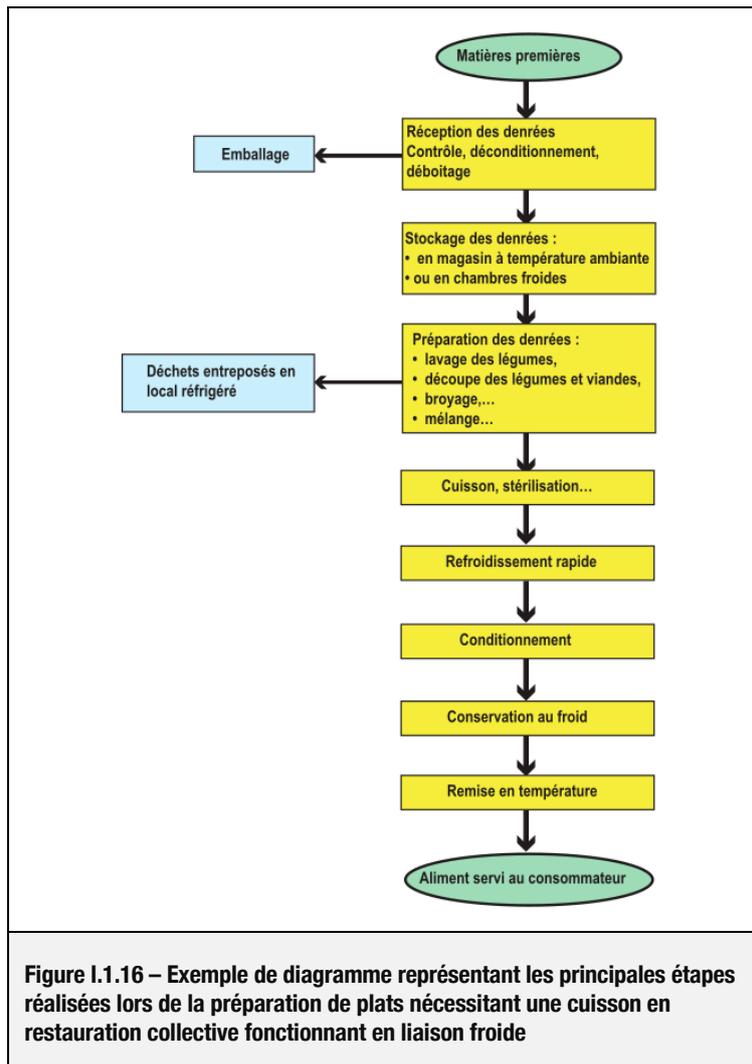
Il s'agit d'un système d'analyse des dangers, des points critiques pour leur maîtrise, un point critique étant une étape à laquelle une mesure de maîtrise peut être exercée

- pour prévenir ou éliminer un danger menaçant la sécurité des aliments,
- ou le ramener à un niveau acceptable.

C'est donc un système qui identifie, évalue et maîtrise les dangers significatifs au regard de la sécurité des aliments (NF V 01-2002:2003).

Son objectif est donc de fabriquer un produit alimentaire sûr et de le prouver grâce à la mise en place de mesures préventives et, en cas de dysfonctionnement, de mesures correctives.

Les dangers pris en compte sont les dangers microbiologiques, mais aussi chimiques et physiques.



## 5.2.1. Les sept principes et les douze étapes de la démarche

### Les 7 principes

- Principe 1 : analyser les dangers potentiels d'une opération et estimer leur gravité, leur fréquence d'apparition et la probabilité de non-détection.
- Principe 2 : déterminer les points critiques pour leur maîtrise (CCP).
- Principe 3 : fixer une (ou des) limite(s) critique(s) permettant de maîtriser chaque CCP.
- Principe 4 : établir un système de surveillance pour chaque CCP.
- Principe 5 : définir les actions correctives.
- Principe 6 : appliquer les procédures de vérification.
- Principe 7 : constituer le dossier HACCP.

### Les 5 étapes préalables

- 1<sup>re</sup> étape : constituer une équipe HACCP.
- 2<sup>e</sup> étape : décrire le produit.
- 3<sup>e</sup> étape : déterminer son utilisation prévue.
- 4<sup>e</sup> étape : établir un diagramme des opérations.
- 5<sup>e</sup> étape : vérifier sur place de diagramme des opérations.

## 5.2.2. Description de la démarche HACCP

### Constitution de l'équipe HACCP

Elle doit:

- être pluridisciplinaire et non hiérarchique ;
- être soutenue par la direction ;
- être formée à la méthode ;
- définir le champ de l'étude (produit, procédé de fabrication, type de dangers microbiologique et éventuellement physique et chimique).

### Description du produit

L'objectif est de connaître parfaitement les ingrédients, les matières premières, le produit jusqu'à son utilisation finale. Doivent être précisés notamment leurs critères microbiologiques, leurs paramètres physicochimiques, les caractéristiques du conditionnement, de stockage...

### Identification de l'usage prévu du produit

Il faut réfléchir à l'utilisation normale du produit, mais aussi à une utilisation anormale prévisible (ex : saucisse apéritives mangées par les adolescents devant la télévision sans réchauffage).

Il faut savoir si la population consommatrice est ou non fragile (bébés, personnes âgées, immunodéprimés...)

### Réalisation du diagramme de fabrication

Il s'agit de schématiser l'ensemble des étapes de fabrication chronologiquement en représentant les flux sur le site (**figure I.1.16**).

### Vérification du diagramme sur le terrain

Cela permet de mettre en évidence les flux croisés omis, des spécificités d'équipement (présence de coins morts...), des étapes d'attente...

Cette vérification doit être réalisée à n'importe quel moment et dans n'importe quelles conditions.

### Analyse des dangers

Il faut :

- rechercher tous les dangers potentiels : contamination, multiplication ou survie de microorganismes,
- en déterminer les causes (probabilité d'apparition), les conséquences (gravité des effets) et la probabilité de détection, ce qui permet de connaître le risque qu'ils font courir,
- définir et appliquer les mesures de maîtrise

Exemple de tableau de cause :

ÉTAPE	DANGER	CAUSES PRIMAIRES	CAUSES SECONDAIRES
Stockage en chambre froide	Prolifération des microorganismes présents	Température trop élevée	Bloc froid en panne
			Chambre froide surchargée
			Dysfonctionnement de la sonde de température

### Détermination des points critiques pour leur maîtrise

Il s'agit donc d'une étape au cours de laquelle une mesure de maîtrise peut être exercée pour prévenir ou éliminer un danger menaçant la sécurité des aliments ou le ramener à un niveau acceptable, et pour laquelle une surveillance continue peut être réalisée.

Pour ceci, il faut utiliser un arbre de décision, notamment celui préconisé par l'OMS, Organisation mondiale pour la Santé (**figure I.1.17**).

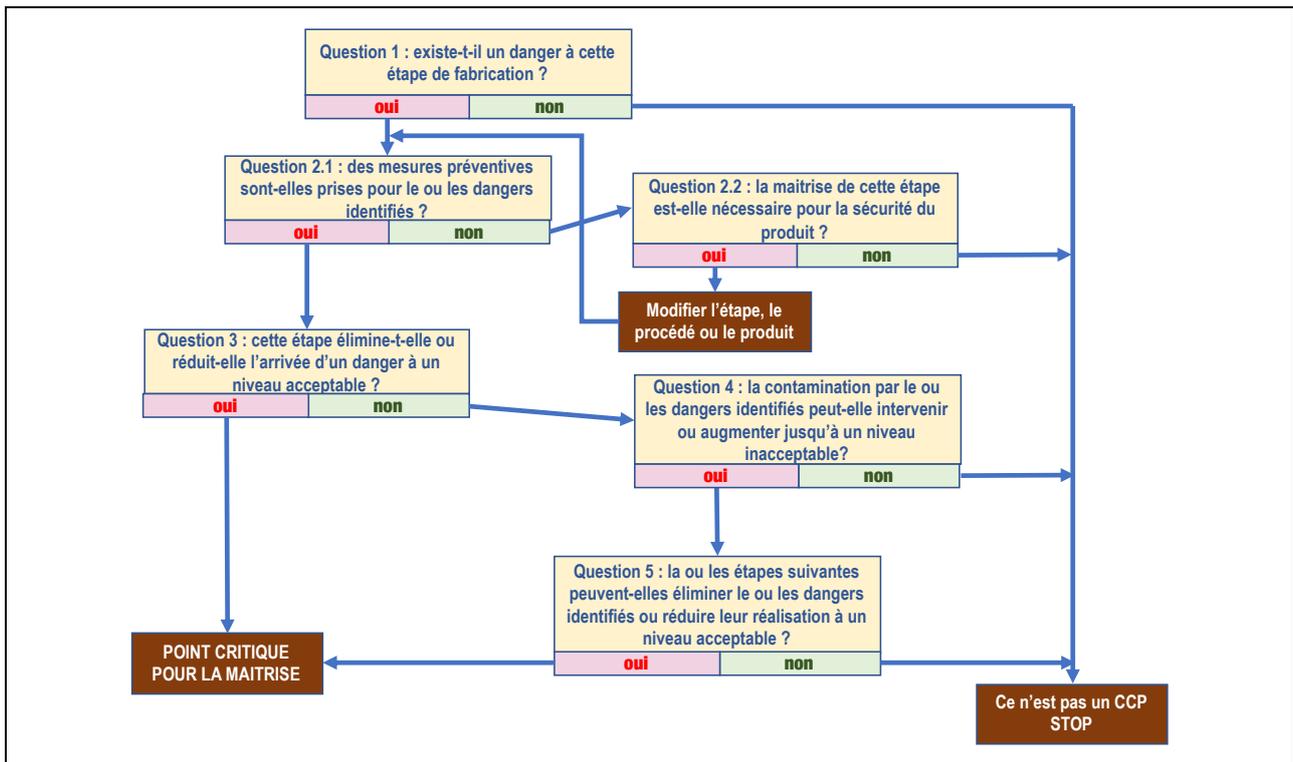


Figure I.1.17 – Arbre de décision pour la détermination des CCP (d'après document de l'OMS)

Exemple : CCP pour la préparation d'un plat chaud avec étape de cuisson (selon un procédé en liaison froide) :

- cuisson ;
- refroidissement rapide ;
- conditionnement ;
- stockage au froid ;
- remise en température.

### Établissement des limites critiques des CCP

Une limite critique est un critère qui, s'il est respecté, permet la maîtrise du point critique. Elle peut être chiffrée ou non.

Exemple :

- limite critique du CCP cuisson :
  - température à cœur :  $T$  °C
  - durée de cuisson :  $\Delta t$  min
- limite critique du conditionnement :
  - port de gants, masque et charlotte par le personnel
  - bon nettoyage et désinfection du matériel de conditionnement.

## Établissement d'un système de surveillance

Il faut s'assurer que les limites critiques de chaque CCP sont bien respectées :

- par l'enregistrement continu ou discontinu des températures, des durées...
- par une observation visuelle du port correct de la tenue par le personnel, du bon nettoyage/désinfection du matériel, des surfaces de travail...
- par une mesure physique ou chimique ou un test microbiologique de l'efficacité des opérations de nettoyage/désinfection...

Les personnes devant assurer cette surveillance doivent être clairement désignées.

## Établissement des actions correctives

Doivent être décidées des mesures à prendre lorsque les résultats de la surveillance du CCP indiquent une perte de maîtrise :

- mesure à court terme : traiter le produit non conforme (destruction, retravail...);
- mesures à long terme : actions sur la ou les cause(s) de dysfonctionnement.

## Établissement des procédures de vérification

Elles ont pour but :

- de s'assurer que ce qui est mis en place par cette démarche permet bien la fabrication d'un produit sûr ;
- de permettre une amélioration continue.

Ces procédures utilisent notamment des challenge tests ou la microbiologie prévisionnelle.

## Établissement de la documentation

La documentation correspond :

- aux supports de fonctionnement (plan HACCP, procédures...);

LIGNE DE PRODUCTION/PRODUIT			PLAN HACCP					DATE	
Étape	CCP n°	Danger/cause	Mesures préventives	Limites critiques	Surveillance			Action corrective	
					Procédure	Fréquence	Qui	Procédure	Qui

- aux supports de contrôles (enregistrements...).

### REMARQUE

Le norme ISO 22 000:2005, *Systèmes de management de la sécurité des denrées alimentaires*, préconise que les industriels mettent en œuvre trois groupes de mesures de maîtrise :

**Les programmes prérequis (PRP) :** programmes préalables à la mise en place de la démarche HACCP tels que les bonnes pratiques d'hygiène (activités n'ayant pas pour objet de maîtriser les dangers spécifiques identifiés mais pour maintenir un environnement hygiénique adéquat pour la production). Exemple : organisation adéquate des locaux, maîtrise des nuisibles...

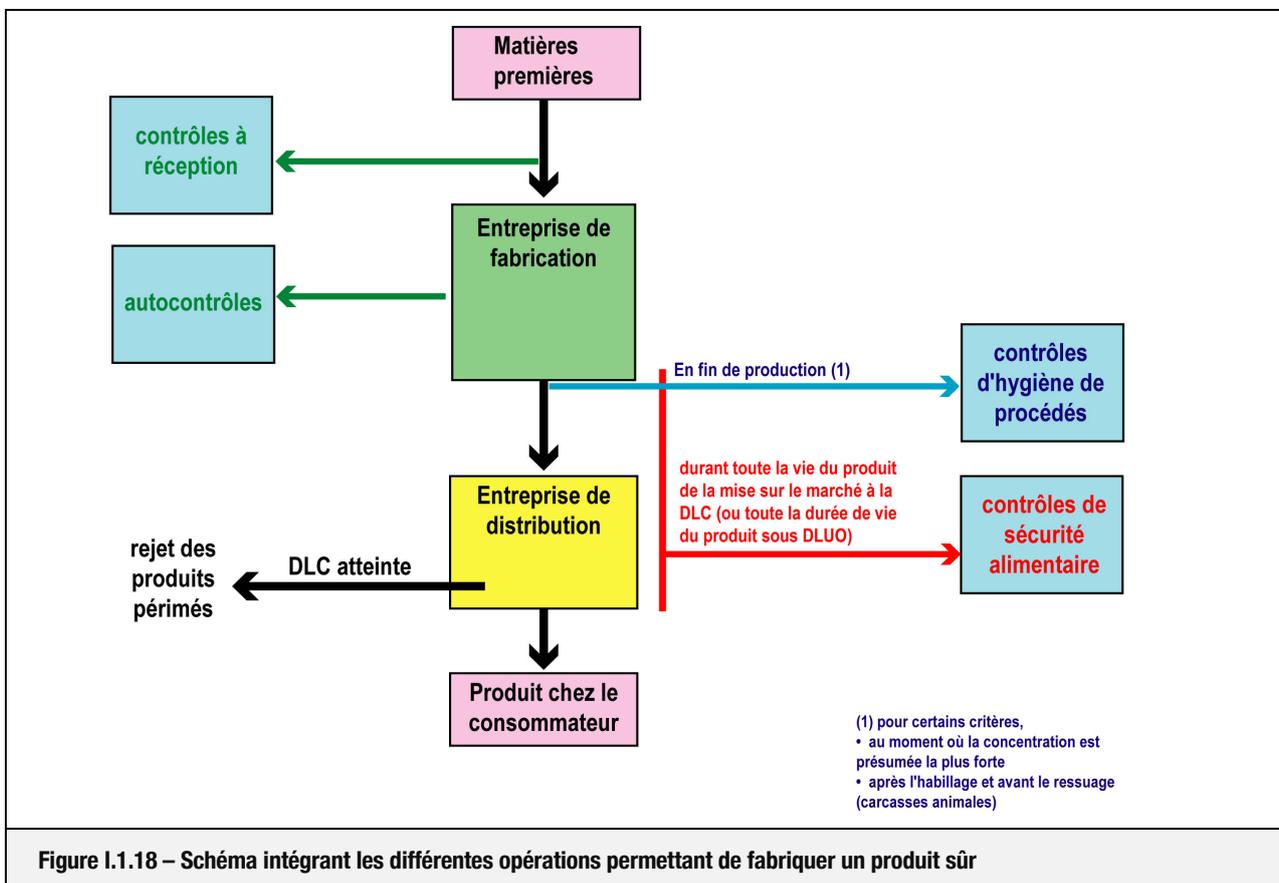
**Les programmes prérequis opérationnels (PRPo ou oPRP) :** programmes qui régissent les mesures de maîtrise identifiés comme nécessaires pour maîtriser les dangers identifiés et qui ne sont pas gérés par le plan HACCP (activités ayant pour objet de maîtriser les dangers spécifiques identifiés mais ne pouvant pas être surveillés en continu). Exemple : maîtrise de résidus d'antibiotiques dans un poisson d'élevage par une inspection périodique des élevages et une analyse chimique périodique des poissons (inspection et analyse chimique ont pour objectifs de contrôler que les élevages n'utilisent pas d'antibiotiques mais ne permettent pas d'assurer qu'il n'y a jamais d'antibiotiques dans les poissons).

**Un plan HACCP** permettant d'appliquer des mesures de maîtrise aux points identifiés comme CCP (soit étape d'un process conçue pour éliminer la probabilité d'apparition d'un danger, ou la ramener à un niveau acceptable, soit étape au cours de laquelle il est possible qu'un danger survienne à un niveau dépassant les limites acceptables) et tel que pour ces mesures de maîtrise une surveillance en continu puisse être effectuée pour s'assurer du bon fonctionnement de ces mesures (exemple : pasteurisation d'un lait pour supprimer la danger de survie des Salmonella avec contrôle en continu de la température et de la durée du barème de pasteurisation).

## 6. Conclusion

Afin de prévenir les dangers microbiologiques ainsi que les dangers physiques et chimiques, tout producteur d'un aliment doit :

- bien identifier les étapes présentant un danger ;
- mettre en place des mesures préventives avec notamment :
  - bonne qualité hygiénique des matières premières,
  - mise en place et respect de la marche en avant (pour les denrées, les déchets et les flux de personnel),
  - respect des procédures de nettoyage/désinfection, de cuisson, de refroidissement, de remise en température...,
  - respect des mesures d'hygiène par le personnel avec notamment le port d'une tenue adéquate réservée à l'atelier de fabrication, lavage correct des mains, état de santé satisfaisant... ;
- identifier les CCP et les limites critiques, respecter et surveiller celles-ci ;
- mettre en place des actions correctives s'il est constaté, lors de la surveillance, que les limites critiques n'ont pas été respectées ;
- et enfin, enregistrer l'ensemble des données pour apporter la preuve que l'aliment est bien sûr.



# Document : Les 56 commandements du bon cuisinier de collectivité

## MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE

Direction de l'Administration générale

### Les 56 commandements du bon cuisinier de collectivité (1)

#### Les gestes à faire / à ne pas faire

#### I. En entrant dans la cuisine

1. Je n'y pénètre qu'en état de bonne santé, sachant qu'une angine, une furonculose, toute plaie purulente (mal blanc, panaris, eczéma...), même protégée par un pansement étanche, doit entraîner l'arrêt du travail en cuisine.
2. Je vérifie si, la veille, je n'ai pas oublié de fermer le robinet de sécurité du gaz et les robinets des appareils. S'il y a eu oublié (détecté par une odeur suspecte), fermer le robinet d'arrivée et ventiler fortement avant de provoquer une flamme ou d'actionner un interrupteur. Sinon ouvrir le robinet de mise en service.
3. Je m'acquiesce de l'opération « vestiaire » :
  - quitter mes chaussures et vêtements de ville et les ranger dans mon armoire personnelle ;
  - mettre ma tenue de travail ;
  - veste ou blouse blanche (ou de teinte claire) en tissu ininflammable ;
  - toque, calot ou bandeau enveloppant la totalité de la chevelure (qu'il est recommandé de porter courte) à la fois pour la protéger des odeurs et de l'humidité de l'air et pour éviter la souillure des plats (poussières et cheveux) ;
  - chaussures basses imperméables, et antidérapantes si le sol ne l'est pas.
4. Je n'introduis, dans l'établissement, aucun « sac à provisions ».
5. Je vérifie la température de mon réfrigérateur dont le thermomètre doit marquer de + 2 °C à 4 °C. Dans les enceintes de froid séparées, je dois avoir :
  - en dessous de - 18 °C pour les produits congelés et surgelés ;
  - de 0°C à + 2 °C pour les viandes ;
  - de + 4 °C à + 6 °C pour les produits laitiers et les œufs ;
  - de + 4 °C à + 8 °C pour les fruits et les légumes frais.
6. Je connais l'emplacement et le mode d'emploi des extincteurs et je sais où trouver les « couvertures de sécurité ».

#### II. Au cours du travail

7. Je me lave les mains (1er outil de travail) au savon (liquide ou en poudre de préférence) autant de fois qu'il est nécessaire dans la journée :
  - à la prise du travail ;
  - quand elles vont entrer en contact avec les aliments ;
  - après avoir manipulé des emballages ou des légumes terreux ;
  - quand je sors des W.C. ;
  - quand je viens de me moucher ou d'éternuer (ayant mis la main devant ma bouche ; et ailleurs qu'au-dessus des plats...).
8. Je les essuie avec une serviette à usage unique.
9. Je porte des ongles courts et je les brosse à chaque lavage.
10. Je ne goûte aucune sauce avec le doigt :  
J'utilise à cet effet une cuillère qui ne sert qu'une fois et va immédiatement à la plonge.
11. Je n'essuie aucun ustensile avec un torchon sale.
12. Je lave, je désinfecte et je rince toutes les pièces d'une machine qui vient de trancher, de râper, de malaxer, de broyer.  
Je n'utilise aucun appareil attendrisseur de viande.

13. Je ne lave pas de légumes dans le bac à plonge et je ne fais pas la vaisselle dans le bac à légumes.
  14. Je rince abondamment la vaisselle.
  15. Je ne fume pas en cuisine et je prie les visiteurs d'en faire autant.
  16. Je n'accepte la présence d'aucun animal et je ne décore pas la cuisine et ses annexes avec des plantes en pot.
  17. Je sais qu'il est interdit d'acheter à l'extérieur :
    - des crèmes et pâtisseries à la crème (sauf crèmes glacées industrielles) ;
    - de la viande hachée (sauf viande hachée surgelée provenant d'abattoirs industriels).
- Ces préparations doivent être exécutées sur place, dans les locaux, par le personnel, avec le matériel de l'établissement et en respectant les indications pratiques données par l'instruction générale d'hygiène du 6 mars 1968 et ses annexes.
- Pour le hachage, de la viande notamment, je mets des gants à usage unique (ou je me « javellise » les mains) ; je désinfecte les pièces coupantes et le corps de mon appareil avant et après l'opération, puis je les rince ; enfin je range les pièces suivantes : grilles, couteaux, vis sans fin, dans un récipient propre que je place dans le « frigo ».
18. J'exige des fournisseurs la propreté du personnel de livraisons, des véhicules et des emballages, ainsi que la conformité pour le transport des denrées périssables (selon le cas : véhicules isothermes, ou réfrigérants, ou frigorifiques).
  19. Je ne laisse pas des produits fragiles (lait, œufs...) exposés au soleil ou stockés dans un local tiède ; dès leur livraison, ils sont déposés au « frigo ».
  20. Je n'accepte aucun produit surgelé s'il n'est pas livré par camion réfrigérant ou frigorifique de classe C, si l'emballage est déchiré, si l'étiquetage est absent ou non daté ou si la denrée a subi un début de décongélation. S'il n'est pas immédiatement utilisé, je le stocke en dessous de - 18 °C.
  21. Je sors toujours de la réserve d'abord les produits qui y sont entrés les premiers.  
J'élimine toute denrée présentant un caractère anormal et, si un produit me paraît « douteux », je prévient le gestionnaire.
  22. Je me méfie des boîtes « cabossées », becquées ou rouillées et je n'utilise aucune boîte « bombée ». Avant d'ouvrir une boîte de conserve, je la nettoie (dessus poussiéreux) ainsi que l'ouvre-boîtes... que j'utilise avec prudence.
  23. N'utilisant que des œufs dont la coquille est propre, je les casse séparément, jamais au-dessus de ceux qui sont déjà mélangés et je ne vide pas le contenu de la coquille avec le doigt.
  24. Je ne suspecte pas a priori une nouvelle denrée ; je m'applique à suivre son mode d'emploi.  
En ce qui concerne les langues (de bœuf notamment), particulièrement susceptibles d'être à l'origine d'une toxoinfection collective, je respecte scrupuleusement les directives spécifiques données par l'instruction générale du 6 mars 1968.
  25. Je ne pose au sol aucun plat ou faitout vide (et encore moins s'il est plein).
  26. Je veille à ce que les déchets ne séjournent jamais à proximité des produits en cours de préparation ou déjà cuisinés et, à cet effet, je dispose d'une « poubelle de cuisine » dont le contenu sera vidé dans la « poubelle de voirie » (cette dernière est stockée dans le local à poubelles fermé et ne sert que pour la rue), l'une et l'autre avec couvercles.
  27. Je coupe le pain à la dernière minute (en petites tranches) et je le protège de la poussière.
  45. Participant à l'établissement des menus je veille à ce que chaque jour :
    - on puisse servir une crudité et un produit laitier ;
    - on alterne un féculent et un légume cuit (frais surgelé, en conserve), pour accompagner le plat principal (viandes, poissons, œufs, abats).

28. Je ne fais pas tremper les crudités « quatre heures à l'avance » et je ne les prépare que peu de temps avant le début du repas (pour limiter la perte en vitamines hydrosolubles).
29. Je javellise (une cuillère à café de Javel pour un bac de 0,50 m x 0,50 m soit 125 litres) ma première eau de lavage de salade et je rince deux fois énergiquement à l'eau courante.
30. J'enferme au « frigo » les entrées froides et les desserts préparés tôt par rapport à l'heure du service, ou, à défaut, je les garde au frais, recouverts d'une pellicule de type alimentaire à usage unique (plastique, aluminium, etc.) ne les plaçant sur les tables de la salle à manger ou sur les étagères qu'un quart d'heure avant le moment de leur consommation en prenant toujours soin de leur présentation. Je prends les mêmes précautions pour les viandes froides.
31. J'utilise le moins de corps gras possible, et de préférence d'origine végétale. Je ne fais pas « brûler » mon huile de friture et je change de bain autant qu'il le faut selon le type de friteuse utilisé et la matière grasse employée.
32. Je ne range pas dans le même réfrigérateur :
- des légumes souillés de terre et des viandes (microbes) ;
  - des poissons, du beurre, des fromages et des agrumes (odeurs) et je veille à ce que le sol et les parois soient toujours propres (désinfection au permanganate de potassium : 2 g/litre).
33. Je ne rentre pas de plats chauds dans mon « frigo » et je ne surcharge pas l'appareil afin de laisser une circulation d'air (qui favorise la répartition du froid) entre les denrées.
34. Je laisse 36 heures au réfrigérateur un échantillon du repas complet qui vient d'être servi (pour analyse éventuelle) dans des boîtes en plastique alimentaire étanches dont je possède 2 jeux.
35. Je ne conserve jamais, même au réfrigérateur, pour la consommation du lendemain, aucune sauce ni aucune préparation en sauce, milieux très favorables aux développements microbiens.
- J'évite absolument de préparer un plat la veille de sa consommation, car je sais que c'est une cause très fréquente de toxi-infection alimentaire collective, et que, pour cette raison, c'est formellement interdit.
- Une exception toutefois s'il s'agit de préparations spécialement destinées à être remises en température selon les techniques appropriées et réglementaires dites « des plats cuisinés à l'avance » (arrêté du 26 juin 1974).
36. Je ne garde au réfrigérateur, pour une durée maximum de 24 heures, que les restes « nobles » (viandes rôties ou grillées...) et je détruis tous les autres restes, dont aucun ne doit être conservé ou emporté « pour le personnel » ou « pour le chien du voisin ».
- Je veille à ne préparer que le nombre de portions strictement nécessaires, pour éviter ces restes à jeter.
37. Je sers toujours les plats chauds à une température supérieure à + 65 °C.
38. Pour disposer la table, je tiens cuillères, fourchettes et couteaux par les manches ; je ne saisis pas les verres par l'intérieur et je prends la même précaution pour les pots à eau que je n'emplis que dix minutes avant le début du repas (fraîcheur et poussières).
39. Je ne fais pas dépasser du fourneau, ou d'un plan de travail, la queue d'une casserole.
40. Je range à leur place les objets dangereux (couteaux...) et en cours de manipulation je ne les pose pas n'importe où.
41. Je ne laisse pas « traîner » les produits de droguerie. Je les range dans le placard qui leur est réservé et ne conserve aucun d'entre eux dans une bouteille de type alimentaire (litre de bière, de vin, etc.) afin d'éviter de regrettables confusions.
42. Je vérifie de temps en temps l'état du tuyau à gaz, d'une prise de courant ou d'un fil électrique (avec les mains sèches). Je signale au gestionnaire toute défectuosité.
43. Je fais disparaître immédiatement tout ce qui peut rendre le sol glissant (déchet de légumes, corps gras...) et je n'encombre pas les passages de service d'un obstacle qui peut provoquer une chute.
44. Je coopère ouvertement avec tous ceux dont dépend la bonne marche du service de restauration scolaire.

### III. Je ne quitterai ma cuisine que lorsque j'aurai :

46. brossé tous mes bacs à l'eau javellisée, puis les aurai rincés abondamment à l'eau claire ;
47. rangé en parfait état de propreté et à l'abri des poussières la platerie (éventuellement, les conteneurs pour transporter les plats cuisinés), la vaisselle, tous les ustensiles de cuisine ;
48. nettoyé l'intérieur des bouteilles et des bidons de lait vides pour les rendre propres à mon fournisseur ;
49. enfermé les poubelles dans un local réservé à cet effet (ou les avoir mises en place pour la collecte des ordures) et tenues en état de propreté (lavées et désinfectées si elles sont vides) ;
50. lavé les sols avec un détergent approprié sans jamais les balayer à sec (ou avec de la sciure), une désinfection fréquente à l'eau de Javel étant souhaitable ;
51. lavé et désinfecté les éponges, les brosses, les serpillières, les torchons (aucun ne doit être mis à sécher pour resservir « tel quel ») ;
52. enfermé, dans un placard spécial, balais et produits de nettoyage ;
53. vérifié la fermeture des robinets à eau et à gaz (arrivée principale, sans oublier les fours...) ;
54. examiné mon menu du lendemain et mis en place certains produits sans nuire à leur état de conservation ;
55. pris ma douche si le centre de restauration comporte les installations nécessaires.

### IV. Formation – Information

56. Je m'efforcerai de perfectionner ma formation, et je veillerai à maintenir à jour mes connaissances professionnelles :

- par la lecture des ouvrages et documents spécialisés ;
- par la participation aux stages et conférences sur la cuisine collective lorsqu'il s'en tiendra dans ma région.

Je veillerai en même temps à la formation et à l'information de mes subordonnés.

### LES CAUSES D'UN ACCIDENT DU TRAVAIL ?

Le manque d'ordre.

### LES CAUSES D'UN ACCIDENT ALIMENTAIRE COLLECTIF ?

Le manque de propreté.

### DANS LES DEUX CAS :

L'imprévoyance, Le manque de connaissances.

Puisse le contenu du présent document vous éviter l'une et l'autre.

(1) Le présent document a été initialement rédigé par Roger GAUTHIER, délégué académique pour les restaurants d'enfants de l'académie de Lyon, avec l'aide de M<sup>me</sup> le docteur MAILLY, médecin conseiller technique de M. le recteur de l'académie de Lyon, et de M. le docteur RICHARD, vétérinaire inspecteur en chef, conseiller technique du recteur.

Imprimerie nationale



# CHAPITRE 2

## INTOXICATIONS ALIMENTAIRES

**NOTE :** Les différents documents présentés sont parfois anciens mais présentent, à notre avis, un intérêt certain pour la compréhension des infections d'origine alimentaire. Nous les avons donc conservés.

Les **intoxications alimentaires** sont des maladies contractées à la suite de l'ingestion d'aliments contaminés par des agents pathogènes ou des substances néfastes pour la santé.

Que des aliments puissent être dangereux n'est pas nouveau : la saveur amère est reconnue comme telle, au moins par l'homme, pour éviter la consommation d'aliments pouvant être dangereux et l'éducation des jeunes animaux passe beaucoup par les stratégies d'évitement du danger alimentaire.

Les **principales causes d'intoxications alimentaires** sont :

LA PRÉSENCE DANS L'ALIMENT D'UN PRODUIT TOXIQUE	LA PRÉSENCE DANS L'ALIMENT DE MICROORGANISMES VIVANTS RESPONSABLES D'UNE INFECTION D'ORIGINE ALIMENTAIRE
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Produit toxique non lié à la présence de microorganismes</b> mais provenant d'actes ou d'intentions criminels, de pollution par l'arsenic, les cyanures, certains ions de métaux lourds...</li> <li>• <b>Produit toxique préformé par des microorganismes</b> avant l'ingestion de l'aliment et qui va être à l'origine de troubles chez le consommateur, même si les microorganismes ont été détruits ensuite. Ce sont les intoxications dues aux produits du métabolisme microbien comme l'<b>histamine</b> (produit de décarboxylation d'un acide aminé, l'histidine), et les intoxications liées à une <b>toxine microbienne</b>. Dans le cas des toxines, le terme <b>d'intoxinations</b> signifie qu'une toxine (souvent protéique) préformée dans l'aliment est la cause des manifestations pathologiques et non pas la multiplication du microorganisme dans l'aliment.</li> <li>• <b>Allergènes</b> molécules déclenchant une réaction immunologique anormale</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Des microorganismes vivants</b>, présents dans l'aliment, provoquent des manifestations pathologiques par leur multiplication dans l'individu d'abord, accompagnée parfois d'invasion, avec éventuellement la production, <i>in situ</i>, de toxines protéiques ou lipopolysaccharidiques (LPS)</li> </ul> <p>(salmonelloses, shigelloses, intoxications à <i>Clostridium perfringens</i> A, choléra, hépatites virales A et E, nombreuses parasitoses...)</p>

Le nombre d'intoxications alimentaires est estimé à 254 000 par an en France et leur taux de mortalité est extrêmement faible (0,2 %).

### REMARQUE

Le terme de toxi-infection est très souvent utilisé, soit comme synonyme d'intoxication alimentaire, soit comme infection d'origine alimentaire. Le sigle de TIAC, pour « toxi-infection alimentaire collective » reprend ce mot. On peut définir une TIAC comme **une intoxication alimentaire supposant au moins deux cas groupés imputables au même aliment avec des manifestations similaires dues à une contamination par un microorganisme ou une toxine**. Toutefois, les intoxications ne sont pas des infections, et les véritables infections ne mettent pas forcément en jeu de toxine. C'est pourquoi est préféré ici le terme d'infection d'origine alimentaire, même si, parfois, le terme de toxi-infection et le sigle TIAC ont été conservés.

Les méthodes d'étude des intoxications alimentaires mettent en jeu deux orientations :

- Étude microbiologique des aliments incriminés ;
- Étude microbiologique du malade avec les techniques habituelles de la microbiologie médicale, les troubles observés chez le malade peuvent orienter le diagnostic du laboratoire de microbiologie alimentaire.

# 1. Intoxications chimiques ou biochimiques et allergies

Une intoxication chimique résulte de l'ingestion d'une molécule toxique. Elle peut être :

- **d'origine naturelle**, c'est-à-dire liée à un processus biologique : des organismes vivants peuvent produire des molécules toxiques comme les toxines ou des métabolites dangereux comme l'histamine. Les organismes producteurs peuvent être des microorganismes ou des êtres vivants visibles comme l'amanite phalloïde.
- ou **d'origine artificielle**, ajout de molécules toxiques dans des intentions criminelles ou accidentelles. Ces intoxications ne seront pas abordées ici.

## 1.1. Intoxications par l'histamine ou autres amines

Les produits de la mer sont particulièrement concernés par cette intoxication qui peut se rencontrer aussi avec des fromages. Sa fréquence est difficile à déterminer en raison de la faible gravité.

Dans les produits contenant beaucoup de protéines, et en particulier de l'histidine, des microorganismes en grande quantité peuvent décarboxyler cet acide aminé (**figure I.2.2**), produisant l'histamine.

Les principaux effets biologiques de l'histamine sont liés à son effet vasodilatateur : la dilatation des capillaires provoque rougeur facio-cervicale, œdème du visage, bouffées de chaleur, sensation de brûlure dans la gorge, goût de poivre dans la bouche, démangeaisons, picotements de la peau. Ils sont généralement suivis de troubles de type céphalées, palpitations cardiaques, étourdissements, nausées, et parfois vomissements, diarrhée. Ces troubles peuvent faire penser aux allergies qui mettent en jeu la libération interne d'histamine.

En général, la période d'incubation est courte, elle varie de quelques minutes à quelques heures. Les symptômes disparaissent spontanément en quelques heures (3 h en général). Exceptionnellement, ils peuvent durer plusieurs jours dans les cas les plus graves (d'après document Afssa, Agence française de sécurité sanitaire des aliments).



Figure I.2.1 – Exemple de poisson (thon) souvent responsable de l'intoxication à l'histamine

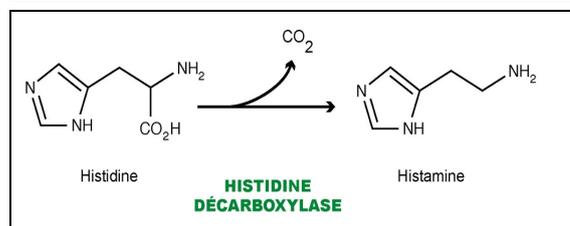


Figure I.2.2 – Équation de la production de l'histamine, formule de l'histamine

### UNE INTOXICATION ALIMENTAIRE AU THON FRAIS

En juin 2007, douze personnes sont hospitalisées après avoir consommé du thon frais acheté dans cinq supermarchés Super U de la région Alsace, d'après les préfetures des départements concernés. Après 24 heures, seule une personne âgée restait hospitalisée d'après la DRASS, les onze autres étant sortis après une demi-journée de soins. Les autorités conseillent de ne pas consommer de thon frais provenant des supermarchés dont elles donnent la liste. Elles conseillent aux personnes présentant des troubles de le signaler au 15 ou à leur médecin traitant.

(d'après AFP, 17 juin 2007)

## 1.2. Manifestations allergiques

Dans les aliments sont présentes de nombreuses molécules, y compris des macromolécules (protéines essentiellement) qui peuvent provoquer, chez certains individus, une réaction allergique, c'est-à-dire une réaction anormale du système immunitaire contre elles.

Une allergie très classique est celle dirigée contre l'arachide.

Une intolérance à certaines molécules est aussi possible sans qu'intervienne le système immunitaire : c'est le cas pour le lactose, mal hydrolysé chez l'adulte. L'intolérance du gluten en est un autre exemple.

## 1.3. Intoxications

Les intoxications se distinguent par les caractères suivants :

- les manifestations pathologiques de l'intoxication sont celles de la toxine, préformée par un microorganisme dans l'aliment avec un délai d'apparition des troubles le plus souvent court ;
- les microorganismes ne se développent pas (ou très peu) chez le malade ; en tout état de cause leur développement éventuel n'est pas responsable des symptômes ;
- la toxine est de nature protéique ou peptidique (en microbiologie, une toxine est considérée comme étant une molécule présentant à la fois un caractère toxique et antigénique).

Les principales intoxications alimentaires bactériennes sont dues aux toxines sécrétées par :

- *Clostridium botulinum* (botulisme très rare aujourd'hui) ;
- *Staphylococcus aureus* « entéropathogène » ;
- *Bacillus cereus* avec la toxine émétique.

D'autres intoxications sont dues à des **dinoflagellés**. Il est délicat de qualifier d'intoxications celles liées à des champignons, les mycotoxines, et en particulier les aflatoxines, ne produisant leur effet que des années après l'ingestion... Parfois sont en cause des **poissons vénéneux** mélangés aux poissons habituels sans intervention de microorganismes, et dont certains organes peuvent renfermer des toxines redoutables comme la tétrodontoxine du fugu, poisson consommé au Japon après une préparation éliminant les organes dangereux...

Ajoutons que certains végétaux peuvent apporter des toxines comme la pomme de terre (solanine)...

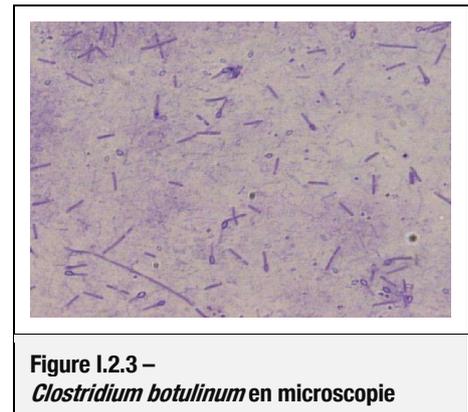
### 1.3.1. Toxines botuliniques

#### Bactérie

*Clostridium botulinum* est un bacille Gram+, sporulé, anaérobie strict, producteur d'une toxine protéique. Il existe 8 « sortes » de *Clostridium botulinum* produisant chacun un type immunologiquement différent de toxine.

L'habitat de cette bactérie est bien sûr anaérobie. *C. botulinum* se trouve dans les sols (bactérie tellurique), dans l'intestin d'animaux comme le porc et probablement l'homme. Elle est donc saprophyte ou commensale. Toutefois, l'origine tellurique est peut-être liée à une contamination fécale.

La spore, forme particulière de la bactérie, est particulièrement résistante à la température, comme celle des autres *Clostridium* et des *Bacillus*.



#### Toxines

##### • Nature des toxines botuliniques

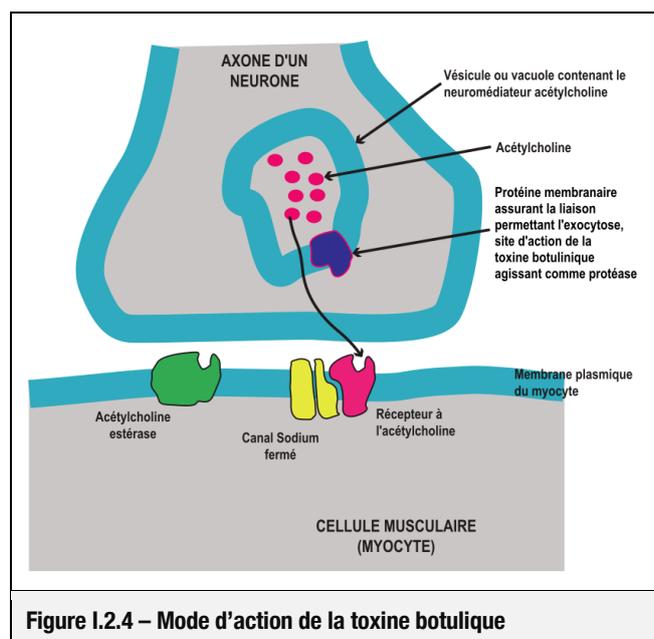
Ce sont des protéines de masse molaire élevée ( $160\ 000\ \text{g mol}^{-1}$ ). Comme la plupart des protéines, elles sont dénaturées par la chaleur, et l'altération irréversible de leur structure leur fait perdre leur caractère toxique. On peut, comme pour la toxine tétanique, conduire une dénaturation ménagée permettant l'obtention d'anatoxines au pouvoir antigénique conservé mais ayant perdu le pouvoir toxique. Cependant, ces toxines résistent aux enzymes digestives (la trypsine activant la toxine par hydrolyse partielle) et à l'acidité gastrique. La synthèse des toxines est sous la dépendance de bactériophages persistant dans les souches toxigènes sous forme prophagique (DNA viral intégré au génome microbien).

##### • Effets des toxines (figure I.2.4)

La cible de ces toxines est essentiellement les jonctions neuromusculaires : les toxines botuliniques entraînent une paralysie flasque qui, atteignant les muscles respiratoires, provoque la mort. Le système nerveux central n'est pas affecté. Les toxines empêchent la liaison des vacuoles contenant l'acétylcholine à la membrane plasmique du neurone en clivant des protéines assurant la liaison provoquée par le potentiel d'action : l'acétylcholine ne pouvant être libérée dans l'espace intersynaptique, la transmission du potentiel d'action du neurone au muscle et donc la contraction de ce dernier sont bloquées.

Les toxines agissant sur le système nerveux sont dites neurotoxines.

Les effets des toxines botuliniques se manifestent pour des doses extrêmement faibles : la dose minima mortelle est de l'ordre de  $30\ \text{pg/kg}$ . Il faut 10 fois plus de toxine tétanique et  $40\ 000\ 000$  de fois plus de cyanure pour atteindre une telle toxicité. Les toxines botuliniques sont les poisons les plus efficaces connus.



### • **Les différentes toxines**

On les distingue uniquement sur des critères antigéniques, grâce à la fabrication d'anticorps contre les anatoxines dérivées des toxines. Le pouvoir toxique des 8 types A, B, C1, C2, D, E, F, G est comparable et, en pathologie humaine, les types A, B, E sont les plus fréquents. De très rares souches produisent deux types de toxines (A et B par exemple).

### • **Conditions de la toxinogénèse**

Pour qu'il y ait toxinogénèse, il est indispensable que la bactérie toxigène se multiplie dans l'aliment, ce qui suppose au moins quatre conditions :

- anaérobiose ;
- pH du milieu supérieur à 4,5 (en général) ;
- concentration en NaCl du milieu inférieure à  $10 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$  ;
- absence de nitrites.

### **Aliments et toxines botuliques**

Le botulisme est rare en France : on peut estimer le nombre de cas à une trentaine par an dans une vingtaine de foyers. L'incidence est de l'ordre de 0,5 cas par million de personnes et les décès sont rarissimes. Les aliments concernés sont :

#### • **Conserves mal stérilisées (en particulier les conserves familiales)**



Après une stérilisation mal conduite (température insuffisante) les seules bactéries pouvant être présentes sont sous forme de spores. Comme le chauffage a entraîné l'élimination des gaz dissous, en particulier le dioxygène, et fragilisé les enveloppes de la spore, il déclenche souvent la germination des spores. Il est donc facile de comprendre que les conserves non acides puissent provoquer des intoxications botuliques si des spores ou des formes végétatives (ayant donné des spores avant le chauffage) ont contaminé l'aliment.

Les conserves industrielles de poissons ou de crustacés sont souvent impliquées dans des cas de botulisme (sérotypage E), la contamination étant liée à la présence des bactéries dans les sédiments marins. Une des raisons de leur survie dans le produit peut être que la température maximale admissible par l'aliment est inférieure à celle permettant la destruction des spores de *C. botulinum*.

#### • **Jambons crus**



Ils sont fréquemment mis en cause, la multiplication des *Clostridium* se faisant dans les zones internes anaérobies (près de l'os). Il s'agit souvent de jambons artisanaux sans les nitrites qui, ajoutés au sel nécessaire à la fabrication, empêchent semble-t-il la multiplication de *C. botulinum*. L'abattage de porcs qui ne sont pas à jeun peut être en cause : des *Clostridium botulinum* intestinaux pourraient passer de l'intestin à la viande.

Voici un exemple de scénario classique de l'intoxication botulique.

#### **EXEMPLE D'UNE INTOXICATION BOTULINIQUE**

Une conserve, d'asperges par exemple, est « stérilisée » par une ménagère dans une cocotte-minute par ébullition prolongée. Malheureusement, des spores provenant de la terre où poussent les asperges ont résisté à ce traitement prolongé. Elles trouvent dans la conserve un milieu favorable à leur développement, d'autant plus qu'il n'y a pas de concurrence. Ce développement n'est toutefois pas massif : la surpression provoquée par les gaz de fermentation attirerait l'attention de la ménagère au moment de la consommation. Et de toutes façons, le développement limité du germe suffit.

En se multipliant, la bactérie produit la toxine. Au moment de la consommation, si l'aliment est mangé non réchauffé, la toxine est ingérée puis absorbée et provoque les troubles classiques et la mort si aucun traitement n'est entrepris à ce moment-là. Si l'aliment est consommé réchauffé, la toxine est détruite et l'ingestion des spores botuliques forcément présentes ne provoque aucun trouble.

Alors que les convives ne seront pas atteints, la personne préparant le repas le sera si elle goûte les asperges avant le réchauffage.

## Traitement et prévention

La fréquence du botulisme en France est très faible. Le traitement des malades met en jeu :

- **une immunothérapie** (sérothérapie) polyvalente qui sera aussi rapidement que possible dirigée contre un seul type antigénique de toxine, identifiée par **toxintypie** : les lots de souris sont injectées par la solution toxique (aliment broyé et filtré), additionnée ou non de solutions d'anticorps neutralisants connus qui protégeront ou non, selon le type de toxine présente, les souris, permettant ainsi l'identification ; (*voir* Dictionnaire des techniques – Toxintypie) ;
- **une « anatoxinothérapie »**, c'est-à-dire une vaccination par injection d'anatoxines botuliques obtenues par la technique classique de Ramon (détoxification au méthanal à 40 °C durant 1 mois) ;
- **des soins intensifs** (réanimation si détresse vitale...).

L'isolement de la bactérie n'est, en général, pas entrepris.

### REMARQUE

L'ingestion de la toxine thermolabile est toujours accompagnée de celle de la bactérie thermorésistante qui ne semble pas capable de produire la toxine dans l'intestin. Toutefois, cette production pourrait être possible chez le nourrisson, avec le miel comme vecteur éventuel des *C. botulinum*, et provoquerait des cas de mort subite du nourrisson.

## DOCUMENTS

### EMPOISONNEMENT PAR DES HARICOTS VERTS

En 1943, une famille est gravement intoxiquée par une salade de haricots verts provenant de conserves familiales. Douze heures après le repas, des vomissements et une diarrhée font penser à une indigestion banale. Deux jours après, apparition alarmante de troubles visuels, avec surdité, crampes musculaires, impossibilité de mastiquer. Le plus jeune enfant meurt asphyxié par paralysie respiratoire.

Les autres membres, transportés à l'hôpital, sont sauvés grâce au masque à oxygène, à l'injection de sérum et d'anatoxine botulique (séroanatoxinothérapie).

Le contenu d'un bocal de ces mêmes conserves donné à des souris les a rapidement tuées. Il s'agissait d'une intoxication par la toxine botulique. Cette famille avait déjà consommé sans accident d'autres bocaux de la même conserve, mais après cuisson de dix à vingt minutes.

De deux à trois semaines de soins auront été nécessaires pour obtenir la guérison.

*Extraits de Anatomie, physiologie, hygiène, par M. Oria et J. Raffin classe de 3<sup>e</sup> (programme d'octobre 1958), Hatier*

### BOTULISME : LE CAS DU HAINAUT BELGE EN 1895

Un enterrement du président de la société de musique est l'occasion d'un copieux repas de funérailles, comme il est de tradition. Parmi les mets un magnifique jambon particulièrement apprécié.

Dans la nuit, le médecin est appelé en urgence dans plusieurs maisons auprès de musiciens atteints de violentes douleurs abdominales, de diarrhée, de vomissements.

Le lendemain matin ce n'est plus la fête... La plupart des musiciens présentent des symptômes curieux : troubles de la vue, regard fixe, impossibilité de relever les paupières supérieures : des paralysies oculaires bilatérales et symétriques. Ajoutons une soif ardente, un étranglement de la gorge : quand ils essayaient de boire, le liquide était rejeté par le nez, une voix sourde, une peine à avaler. » Les praticiens parlaient d'inhibition des sécrétions muqueuses, de paralysies du voile du palais, des muscles du pharynx et du larynx, de l'œsophage ». Certains présentent un météorisme ou des troubles urinaires : la paralysie semble gagner les muscles du bassin. D'autres une paralysie légère de la racine des membres. Tous sont atteints d'une grande fatigue mais aucun ne présente de fièvre.

On pense évidemment à un empoisonnement criminel amplifié par le qu'en-dira-t-on.

Trois morts surviennent. Une enquête est diligentée en haut lieu et c'est Van Ermengen qui en est chargé. Il exclut le crime devant l'absence de motif possible « *qui pourrait en vouloir à toute une société de musique ?* »

En interrogeant la population, il établit que tous les malades ont mangé du jambon : « *Aucun de ceux qui avaient laissé d'en prendre n'avait été indisposé* ». Pourtant, quelques habitants n'ayant pas participé au banquet sont malades. Van Ermengen constate que ces malades ont goûté le jambon incriminé. Par contre, un tiers des musiciens ne sont pas malades : il s'avère qu'ils n'ont pris que du lard ou une quantité minimale de maigre. Pourtant, de gros consommateurs sont aussi indemnes : il s'avère pour eux qu'ils avaient vomi leur repas ! car « ces convives avaient usé largement de vins et de spiritueux divers ; et tous les musiciens, à la fin de ce repas de funérailles, se trouvaient en état d'ébriété manifeste ».

(suite en page suivante)

Le jambon semble donc clairement la cause de l'empoisonnement. L'analyse ne montre aucun toxique connu tant chez les morts autopsiés que dans le jambon. Mais de nombreux bacilles sont découverts dans le jambon. Van Ermengen arrive à cette conclusion : « Il est hautement vraisemblable qu'un poison a pris naissance sous l'influence de ces microorganismes spécifiques, qui ont végété dans le jambon, pendant qu'il plongeait dans la saumure, laquelle offrait des conditions favorables pour le développement des espèces anaérobies. »

### Compléments

Avant Van Ermengen découvreur du bacille, des médecins allemands, au XVIII<sup>e</sup> siècle ont rapporté de telles intoxications liées à du boudin avarié, donnant son nom à la maladie (en latin *botulus* : boudin).

Le botulisme est partout dans le monde, lié à des conserves de végétaux (USA), de viande (Allemagne), poissons séchés (Russie).

Une recrudescence a été observée en France durant la guerre de 1940-1945 en raison des conserves familiales mal préparées dans la clandestinité.

Les formes de la maladie peuvent être frustrées : un cas classique : « une maîtresse de maison ouvre un bocal contenant une conserve d'asperges qu'elle avait préparée au printemps précédent ; elle la goûte ; ne la trouvant pas savoureuse, elle charge le jardinier de la jeter ; celui-ci, moins délicat, mange les asperges ; il meurt dans la nuit ; le surlendemain, sa patronne le suit dans la tombe ».

*Extrait de Bactériologie médicale, R. Fasquelle, Éditions médicales Flammarion, 1969*

## DEUX CAS FAMILIAUX DE BOTULISME SÉVÈRES EN ILLE-ET-VILAINE LIÉS À LA CONSOMMATION D'ENCHILADAS INDUSTRIELLES

Deux cas de botulisme familiaux sévères ont été déclarés à la Direction départementale des affaires sanitaires et sociales (Ddass) d'Ille-et-Vilaine le 11 août 2008.

Les deux cas (mère et fille) ont débuté leurs symptômes le samedi 9 août et ont été hospitalisés le jour même. Les deux patientes présentent une forme sévère de botulisme nécessitant des soins en réanimation.

Les tests biologiques sur souris réalisés au Centre national de référence (CNR) des bactéries anaérobies et du botulisme ont confirmé la présence de toxine botulique de type A dans les sérums des patientes.

Les deux patientes avaient consommé le 8 août au soir un plat mexicain d'origine industrielle : « Enchiladas au poulet » de marque Companeros. Ce plat composé de trois ingrédients : 2 galettes, un sachet avec du fromage et un sachet contenant la préparation avec du poulet a été reconstitué puis réchauffé au micro-onde. Ce produit frais qui doit être conservé au froid, aurait été conservé à température ambiante pendant 15 jours avant sa consommation. La conservation à température ambiante est une condition favorisant la production de toxine par la bactérie *Clostridium botulinum*.

La recherche de toxine botulique réalisée par le CNR dans les restes de la garniture des enchiladas (comprenant des légumes et du poulet) consommés par les patientes est très fortement positive pour la toxine de type A.

Le lot d'« Enchiladas au poulet » contaminé porte le numéro 08/190 avec une date limite de consommation au 7 août 2008. Ce produit est distribué dans les rayons frais de la grande distribution. Le lot impliqué n'a pas été distribué hors de France.

Un communiqué de presse commun de la Direction générale de la santé (DGS), la Direction générale de l'alimentation (DGAL) et la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) sur ces deux cas et l'aliment suspecté d'être à l'origine des intoxications botuliniques a été diffusé le 12 août. Des messages d'alerte ont été diffusés par les réseaux d'alerte de la DGS et de l'InVS aux professionnels de santé concernés en leur demandant de notifier toute suspicion clinique de botulisme survenant depuis le premier juillet 2008.

Un rappel du lot 08/190 a été effectué par l'industriel le 13 août. Un retrait et un rappel complémentaires des autres lots d'« enchiladas au poulet » et « fajitas au poulet » de même marque a été réalisé.

Le botulisme est une maladie rare en France qui fait l'objet d'une Déclaration obligatoire. Soixante-quatre cas ont été déclarés de 2004 à 2007 (21 en 2004, 23 en 2005, 9 en 2006 et 11 en 2007). Aucun de ces cas n'est décédé.

Cinq cas ont été déclarés en 2008 (dont les 2 cas d'Ille-et-Vilaine). Un de ces cas avait consommé un produit industriel frais de même type que les Enchiladas consommées par les deux personnes d'Ille-et-Vilaine ; ce produit avait également été conservé à température ambiante.

La survenue de ces cas souligne l'importance pour les consommateurs que les produits achetés au rayon frais soient conservés au froid (entre 0 °C et 4 °C) de l'achat jusqu'à la consommation.

*Point de l'Institut de veille sanitaire, au 14 août 2008*

### 1.3.2. Entérotoxines (immunotoxines) staphylococques

#### Bactéries

De nombreux *Staphylococcus aureus* produisent une entérotoxine.

Ce sont des bactéries sphériques, aéroanaérobies, catalase+, pouvant donner des colonies pigmentées en jaune d'or.

Leur habitat est très variable, très souvent les muqueuses de l'homme et de l'animal, où ces bactéries peuvent être à l'origine d'infections, notamment cutanées. Les souches pathogènes sont entérotoxigènes ou non.

L'intoxication alimentaire à *Staphylococcus aureus* est uniquement due à l'entérotoxine et non au pouvoir invasif (propriété générale chez *Staphylococcus aureus*). Actuellement (2000-2006), le nombre moyen de TIAC à *S. aureus* est estimé à 7000 cas avec une mortalité quasiment nulle.

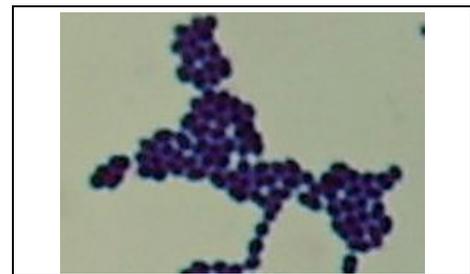


Figure I.2.5 – *Staphylococcus aureus*

#### Toxines

##### • Nature des entérotoxines staphylococques et les différents types

Ce sont des peptides de faible masse molaire ( $28\ 000\ \text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ).

Il existe 8 types antigéniques de toxines staphylococques nommés A, B, C1, C2, C3, D, E, F. Bien que de nature peptidique, elles sont exceptionnellement thermorésistantes : il faut, in vitro, 3 heures à  $100\ ^\circ\text{C}$  et 10 à 40 minutes à  $120\ ^\circ\text{C}$  pour dénaturer l'entérotoxine A, responsable de plus de 70 % des cas de cette intoxication.

Elles résistent également aux enzymes digestives et à l'acidité gastrique. La dose minimale déclenchant les troubles serait de l'ordre de 100 ng dans l'aliment pour les personnes les plus sensibles.

##### • Effets des toxines

Moins de 6 heures après leur ingestion, elles provoquent des vomissements et autres troubles digestifs qui disparaissent spontanément, généralement sans séquelles. Le mécanisme d'action de ces toxines est aujourd'hui toujours controversé :

- le plus probable : les entérotoxines staphylococques agissent comme **superantigènes**, c'est-à-dire provoquent une réaction anormale du système immunitaire qui est la cause des troubles observés. On devrait alors les appeler immunotoxines puisque leur mode d'action n'est pas direct sur l'intestin mais au travers du système immunitaire.
- non exclu : elles agissent plus ou moins directement sur des récepteurs du système nerveux sympathique.

Le mécanisme d'action d'un superantigène est étroitement lié au fonctionnement du système immunitaire : un antigène normal est fragmenté par les cellules phagocytaires (cellules présentant l'antigène ou CPA), puis ces fragments sont « présentés » par ces cellules aux lymphocytes T CD4 auxiliaires par l'intermédiaire d'un récepteur membranaire (TCR) associé au complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH II).

Le TCR du lymphocyte CD4 reconnaît, de façon très spécifique, le complexe formé par l'antigène porté par le CMH II. Le CD4 du même lymphocyte T4 favorise l'union. La qualité de cette union déclenche l'activation du lymphocyte CD4 qui va induire la réaction immunitaire contre l'antigène, c'est-à-dire la multiplication active du lymphocyte et la formation de plasmocytes.

Dans le cas des superantigènes, cette même union s'effectue, mais mobilise de très nombreux lymphocytes CD4 proinflammatoires. L'activation déclenche la production de nombreux médiateurs (Interleukine 2 ou IL2 qui stimulerait la production d'interféron  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) et de facteurs de nécrose de tumeurs (TNF $\alpha$ ) qui semblent être les responsables effectifs) qui causent les troubles.

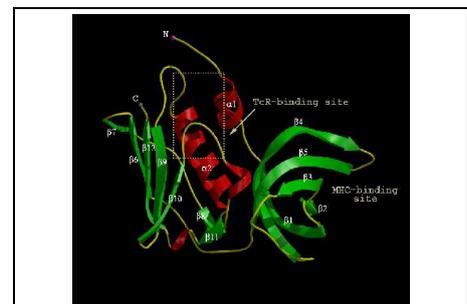
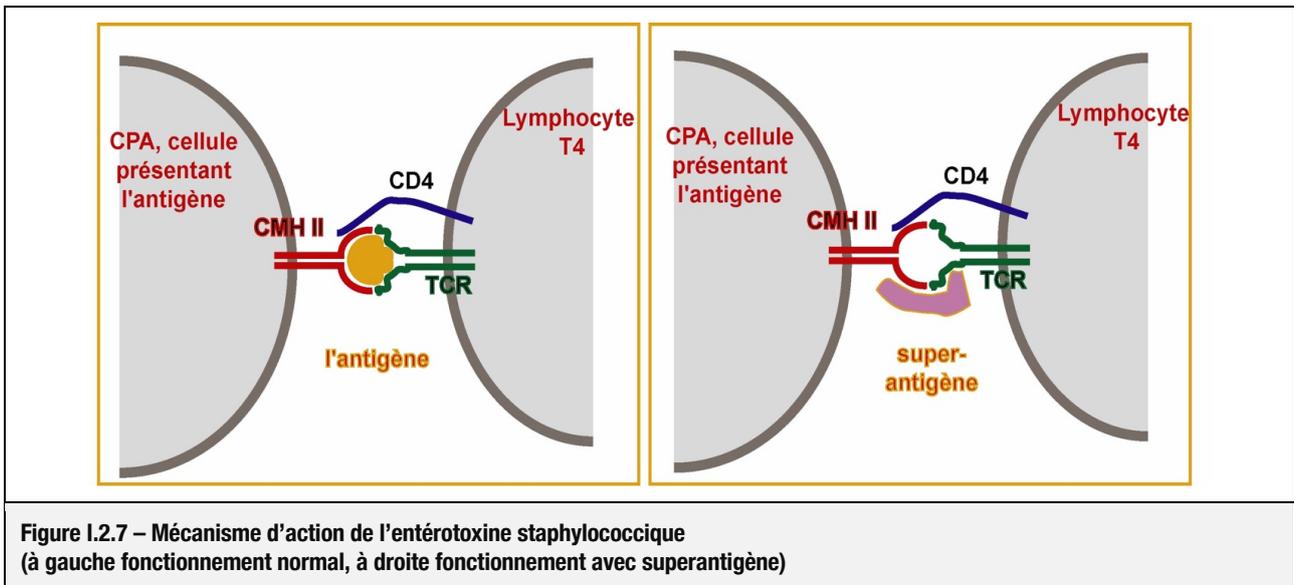


Figure I.2.6 – Structure de l'entérotoxine C2



• **Conditions de la toxinogénèse**

Les *Staphylococcus* producteurs sécrètent la toxine lors de leur multiplication. Il suffit donc que les conditions soient favorables à la culture des *Staphylococcus* pour que l'on retrouve l'entérotoxine dans l'aliment. Ces conditions sont :

- la disponibilité en nutriments,
- et une température comprise entre 10 °C et 50 °C environ.

**Aliments et toxines staphylococciques**

L'aliment provoquant l'intoxication contient de grandes quantités de la toxine. C'est dans l'aliment que les staphylocoques ont produit la toxine. Ils sont donc présents en grande quantité si le chauffage de l'aliment ne les a pas tués.

Les aliments en cause sont très variés, en particulier les pâtisseries et crèmes, et souvent consommés 12 à 24 heures après leur fabrication, ce qui laisse aux staphylocoques le temps de se multiplier et de produire leur entérotoxine.

L'origine des staphylocoques est le plus souvent une infection cutanée du personnel de cuisine ou une contamination liée au portage rhinopharyngé.



**DOCUMENTS**

**COMPTE RENDU D'UNE INTOXICATION ALIMENTAIRE À STAPHYLOCOQUES**

Le 25 juillet, une toxiinfection alimentaire collective comportant 78 malades s'est produite dans une collectivité d'enfants à Perpignan. 73 enfants c'est-à-dire la totalité des rationnaires ainsi que 5 membres du personnel ont été atteints de diarrhée avec vomissement à partir de 15 h. Les analyses des aliments mettaient en évidence la présence de staphylocoques pathogènes dans des gâteaux (choux à la crème).

La crème des choux avait été préparée la veille au matin (le samedi), mise au réfrigérateur et sortie le dimanche matin, les choux étant garnis à ce moment pour être servis à midi. Parmi le personnel de la cuisine, les analyses permettaient le dépistage de 7 porteurs de staphylocoques pathogènes dont 5 présentaient à la fois un portage rhinopharyngé et digestif. Ce personnel a été mis en traitement et les consignes d'hygiène ont été rappelées.

Laboratoire coop. n° 125 mars/avril 1979

## « ÉTUDE D'UNE TOXI-INFECTION ALIMENTAIRE FAMILIALE À *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* »

### Résumé

Nous rapportons un épisode de toxi-infection alimentaire à staphylocoques ayant affecté quatre personnes dans une famille. Trois enfants sont hospitalisés et se rétablissent dans les vingt-quatre heures. L'analyse d'un plat de viande préparé à la maison et consommé trois heures avant l'apparition des symptômes permet de confirmer le diagnostic. La viande contient  $7,5 \times 10^9$ /g *S. aureus* producteurs d'entérotoxine A. La présence de 320 ng d'entérotoxine A par gramme de viande est mise en évidence par radio-immunologie. La denrée a dû être manipulée après cuisson par un individu porteur de staphylocoques entérotoxigènes. Le maintien du plat cuisiné à température ambiante pendant plusieurs jours avant sa consommation peut expliquer la prolifération bactérienne et la quantité de toxine importante observée. La prévention de ce type d'intoxication réside dans le respect de simples règles d'hygiène.

Mots Clés : *Staphylococcus aureus* - Entérotoxines - Viande - Toxi-infection alimentaire

De nombreuses toxi-infections alimentaires (T.I.A.) sont dues à la présence d'entérotoxines staphylococciques dans les aliments. Ces toxines sont sécrétées par certaines souches de *Staphylococcus aureus* placées dans des conditions favorables à leur multiplication et à la toxinogénèse. La symptomatologie caractéristique de ce type d'intoxication - vomissements répétitifs suivis ou non de diarrhée, accompagnés parfois de signes généraux et survenant dans un délai d'une heure à sept heures après le repas - permet d'orienter le diagnostic. Cependant, le praticien a souvent besoin d'une confirmation par le laboratoire et l'analyse de l'aliment suspect constitue alors un des moyens disponibles pour répondre à une telle demande.

L'analyse bactériologique permet de rechercher et de dénombrer les *S. aureus* revivifiables dans l'aliment. Lorsqu'un nombre élevé de ces bactéries, de l'ordre de  $10^6$ /g peut être détecté, il y a de fortes présomptions pour que l'aliment renferme des entérotoxines staphylococciques et soit à l'origine de l'intoxication. Cependant, une absence de germes revivifiables ne signifie pas toujours qu'il n'y ait pas de toxine dans l'aliment. Les staphylocoques peuvent en effet avoir été détruits par un traitement thermique ou un séjour prolongé dans un milieu acide défavorable, alors que les entérotoxines sont capables de résister à une température ou à une acidité élevée.

La preuve la plus formelle de la toxicité de l'aliment est donc apportée par la détection des entérotoxines dans celui-ci. Nous rapportons un épisode de T.I.A. dont l'étiologie a pu être confirmée de cette manière.

### Observation clinique

Le 7 mai 1983, deux familles d'origine asiatique sont réunies pour le repas du soir (4 adultes, 3 enfants). Trois heures après, les enfants, des fillettes âgées de 7, 4 et 2 ans et leur mère, sont prises de vomissements. Les enfants sont admis le 8 mai au centre hospitalier de Creil et présentent un malaise général sans déshydratation importante. Seule l'aînée des fillettes est fébrile (38,5 °C). L'examen clinique est normal. Le rétablissement est rapide sous traitement symptomatique et la sortie de l'hôpital s'effectue dans un délai très court (24 heures).

Les coprocultures réalisées le lendemain de l'apparition des signes cliniques n'ont pas révélé la présence de bactéries pathogènes sauf chez la plus jeune des fillettes qui présentait à ce moment un épisode diarrhéique et chez laquelle une souche de *Salmonella* Typhimurium a pu être isolée. L'interrogatoire de la mère des enfants fait suspecter le plat de viande consommé au repas du soir. En effet, il avait été préparé à partir d'un morceau de bœuf décongelé et recongelé à plusieurs reprises. La viande a été ensuite cuite en sauce selon une recette asiatique et laissée à température ambiante pendant plusieurs jours. Parmi les convives, le père des enfants s'est abstenu de manger du plat de viande et n'a pas présenté de symptômes. Les deux autres personnes chez lesquelles s'était effectué le repas, ont consommé cette préparation et n'ont pourtant pas signalé avoir été incommodées. Il est à noter qu'elles avaient déjà mangé de cette viande au cours des repas précédents.

### Étude bactériologique et toxicologique

Un échantillon de 40 g de viande cuite restant du repas est adressé pour analyse au L.C.H.A., sous réfrigération. Ses caractères organoleptiques ne permettent pas d'observer une quelconque altération. L'analyse bactériologique habituelle est réalisée et les staphylocoques sont recherchés par isolement sur milieu de Baird-Parker. Les dénombrements indiquent la présence de 105 coliformes fécaux et de  $7,5 \times 10^9$  *S. aureus* par gramme de produit. Aucun germe anaérobie sulfitoréducteur et aucune salmonelle ne sont mis en évidence.

La souche de *S. aureus* isolée répond positivement aux tests suivants : coagulase liée, coagulase libre, DNase thermostable, protéine A. Elle possède une fibrinolyse et une hémolyse de type delta. Elle développe un pigment orange. La lysotypie permet de la classer dans les groupes I, III et V du pool international de phages humains. Elle est cultivée selon la méthode du sac de culture de Donnelly afin d'étudier son pouvoir entérotoxigène. Les entérotoxines A, B, C, D, E et F sont recherchées dans le surnageant de culture par la méthode d'immunodiffusion en gélose sur lame. Les entérotoxines de référence et leurs antisérums spécifiques sont fournis par le Pr Bergdoll (*Food Research Institute*, Madison, Wisconsin, USA). La souche se révèle productrice d'entérotoxine A. La détermination quantitative des entérotoxines A, B et C est effectuée par une méthode radio-immunologique, après extraction à partir de 10 g d'aliment. La présence de 320 ng d'entérotoxine A par gramme de viande est ainsi mise en évidence. Les entérotoxines B et C ne sont pas détectées. (suite en page suivante)

## Discussion et conclusion

L'isolement d'une salmonelle à l'exclusion de tout autre germe pathogène à partir des selles d'un des malades pourrait justifier une interrogation sur l'étiologie de cet accident. Toutefois, la rapidité de l'apparition des symptômes incite à rejeter l'éventualité d'une salmonellose et l'analyse d'un aliment suspect constitue l'élément décisif apportant la preuve de l'origine staphylococcique de la T.I.A. Ceci souligne combien il faut être prudent dans ce domaine face à certaines constatations.

Lors de contrôles bactériologiques, il arrive de rencontrer des denrées fortement contaminées par *S. aureus*. Leur toxicité ne peut alors être que présumée car les souches de *S. aureus* ne sont pas toutes productrices d'entérotoxines. La proportion de souches entérotoxigènes isolées à partir d'aliments non impliqués dans des T.I.A. varie de 9 à 62,5 % selon différentes enquêtes.

Dans le cas présent, les résultats observés confirment que le plat de viande est bien l'aliment responsable de cette T.I.A. familiale. Sa toxicité est due à une multiplication très importante de *S. aureus* producteurs d'entérotoxine A. Le sérotype A est le plus fréquemment rencontré lors des T.I.A. à staphylocoques. La quantité d'entérotoxine A détectée est élevée car Bergdoll estime que l'ingestion de 100 ng d'entérotoxines staphylococciques suffit à indisposer les individus les plus sensibles et il indique que les aliments impliqués dans des T.I.A. contiennent généralement de 10 à 100 ng/g d'entérotoxines. Il faut remarquer cependant qu'au moment où la viande a été consommée, la quantité d'entérotoxine A était peut-être inférieure à celle qui a été détectée puisque la viande n'a été réfrigérée que pour l'envoi au L.C.H.A. Il reste à expliquer pourquoi, dans cet exemple de T.I.A. familiale, deux personnes ayant pourtant consommé d'un plat dont la toxicité a été démontrée au laboratoire n'ont pas, à notre connaissance, présenté de symptômes digestifs. Trois hypothèses peuvent être formulées : soit la toxine était irrégulièrement distribuée dans le plat de viande, soit ces personnes sont insensibles à l'action de l'entérotoxine A, soit enfin elles n'ont pas jugé bon de signaler une quelconque indisposition.

La source de contamination de la denrée n'a pu être établie, mais la souche de *S. aureus* isolée présente un ensemble de caractères laissant présumer une origine humaine, d'après Hajek : production de fibrinolysine, absence d'hémolysine  $\beta$ , typage par le pool de phages humains, pigmentation orange. 20 à 30 % des individus sont porteurs chroniques ou occasionnels de *S. aureus*, d'après une enquête réalisée sur une période de 5 ans et concernant le personnel de cuisines de collectivités. De 40 à 60 % des souches de *S. aureus* isolées chez les porteurs sains sont entérotoxigènes. Les T.I.A. à staphylocoques sont souvent provoquées par l'ingestion de denrées manipulées après cuisson par des porteurs sains de *S. aureus* entérotoxigènes. Il est vraisemblable que dans le cas présent, la viande ait été contaminée une fois cuite. En effet, il a été dénombré un assez grand nombre de coliformes fécaux, germes témoins de contamination fécale apportés généralement par des manipulations et très sensibles à la chaleur. Le nombre de *S. aureus* mis en évidence est en faveur également d'une contamination après cuisson et d'une croissance importante de la bactérie au cours de la conservation à température ambiante, qui a permis l'expression du pouvoir toxigène de cette souche. Rappelons que la réfrigération insuffisante des aliments ainsi que leur préparation trop longtemps à l'avance sont les deux premières causes de T.I.A. d'après Bryan.

Cet épisode souligne une fois de plus l'importance des bonnes pratiques alimentaires : une contamination faible des aliments par des porteurs sains de *S. aureus* entérotoxigènes ne peut pas toujours être évitée mais le maintien des denrées à une température inférieure à 10°C est primordial pour arrêter la multiplication des germes et la production d'entérotoxines.

par M.L. De Buyser\*, F. Janin\*, F. Dilasser\* et F. Nocton\*\*, Médecine et maladies infectieuses, n° 6, 1984, p. 360 à 363

\* Laboratoire central d'hygiène alimentaire, ministère de l'Agriculture, Direction de la Qualité, services vétérinaires, 43, rue de Dantzig, 75015 Paris

\*\* Centre hospitalier de Creil, service de pédiatrie

### 1.3.3. Toxine émétique de *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* peut produire une toxine très proche dans ses effets de la toxine staphylococcique.

Son mode d'action n'est pas clair : une activation de récepteurs cellulaires pourrait conduire aux troubles. Il n'est pas sûr que cette toxine soit un superantigène.

Cette toxine, appelée céréulide, est un dodécapeptide cyclique [(D-O-Leu-D-Ala-L-O-Val-L-Val)<sub>3</sub>] de structure semblable à la valinomycine produite par *Streptomyces griseus*. Elle n'est pas synthétisée par le mécanisme habituel à partir d'un ARN messager, mais par assemblage des acides aminés par des enzymes spécifiques.

Elle agirait en provoquant la formation d'un canal ionophore du potassium au travers de la membrane des mitochondries ce qui bloque la phosphorylation oxydative. La toxine émétique stimule le nerf X ou pneumogastrique déclenchant alors les troubles.

Elle est :

- thermostable (résistant plus de 30 minutes à 121 °C) ;
- résistante à la protéolyse (insensibilité à la trypsine et à la pepsine) ;
- stable à des pH compris entre 2 et 11 ;
- produite exclusivement par des souches isolées du riz, des pâtes et parfois de lait en poudre ;
- synthétisée entre 25 et 30 °C mais pas à 40 °C.

### 1.3.4. Toxines de dinoflagellés

Des dinoflagellés (Eucaryotes photosynthétiques) des coquillages (*Dinophysis acuminata* et *Alexandrium minutum*), peuvent entraîner des diarrhées pour les premiers, un choc toxique pour les seconds.

#### Neurotoxine paralysante

*Alexandrium minutum* est plus rare que *Dinophysis* mais aussi plus dangereux. Ce dinoflagellé, mû par deux filaments, relâche différentes toxines paralysantes, dont la saxitoxine et les gonyautoxines, qui se retrouvent, concentrées, dans tous les coquillages (huîtres comprises) et qui engendrent très rapidement - moins de trente minutes après ingestion - des symptômes allant des simples fourmillements et vertiges jusqu'à la perte de coordination motrice et, dans les cas les plus graves, aux troubles respiratoires et à la paralysie. D'autres espèces du genre *Alexandrium*, particulièrement toxiques, ont ainsi été impliquées dans des décès survenus ces dernières années en Espagne, aux États-Unis ou au Canada. Toutes ces toxines sont thermostables, c'est-à-dire résistantes à la chaleur, si bien que la cuisson ne diminue en rien leurs effets néfastes.

Les risques d'intoxication associés à l'espèce *Alexandrium minutum*, qui n'est observée que depuis dix ans dans les eaux françaises, restent pour l'essentiel localisés à quelques secteurs du nord de la Bretagne (abers, baie de Morlaix, Rance). Toutefois, il semble que cette espèce gagne du terrain, puisque, pour la première fois, elle a été également repérée, à des concentrations assez importantes, en Poitou-Charentes. Ces toxines agissent en bloquant les canaux sodium des cellules excitables.

D'après un courrier électronique de Bruno Peiffer (liste internet Hygiène, 2007)

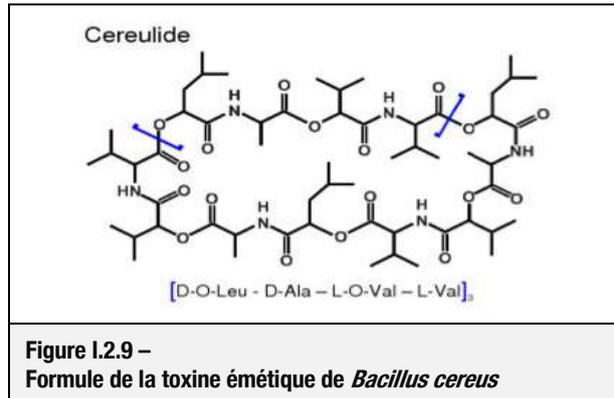


Figure I.2.9 –  
Formule de la toxine émétique de *Bacillus cereus*

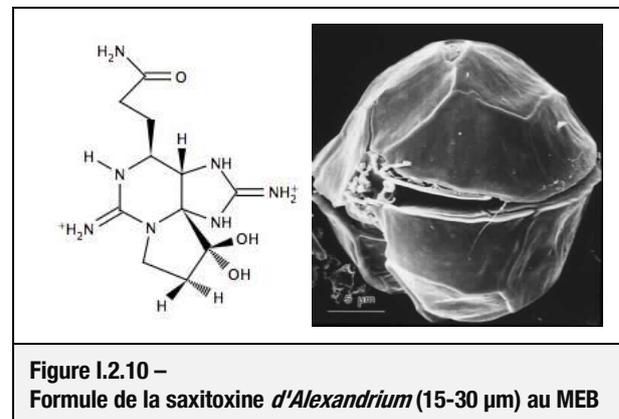


Figure I.2.10 –  
Formule de la saxitoxine d'*Alexandrium* (15-30 µm) au MEB

### Entérotoxine diarrhéique

Les moules sont le principal vecteur de cette contamination par *Dinophysis acuminata*, qui peut également être transmis par les palourdes, clams, tellines et autres coquilles Saint-Jacques. Seules les huîtres se voient, à ce jour, lavées de tout soupçon.

Les *Dinophysis* toxiques sévissent à l'état endémique sur les côtes françaises, dans le Finistère et dans le Morbihan, mais aussi, à un moindre degré, en Normandie, dans la partie ouest de la Méditerranée, ainsi qu'en Corse. Le nombre d'intoxications, élevé au début (4000 en 1983 et 2000 en 1984) a baissé rapidement (moins de 10 à partir de 1985) après la mise en place d'un réseau de surveillance IFREMER CSRU et la fermeture préventive des zones contaminées.

Les douleurs abdominales avec diarrhée associée sont les symptômes prédominants et constants des « gastro-entérites » à *Dinophysis*. Ils apparaissent toujours en moins de 12 heures après le repas toxique de coquillages et il n'y a pas de fièvre associée, ce qui permet de les distinguer des autres gastro-entérites. Ces intoxications sont saisonnières et ont été reliées à la présence de divers *Dinophysis* dans l'eau de mer, en l'absence de toute efflorescence forte, et dans les coquillages consommés.

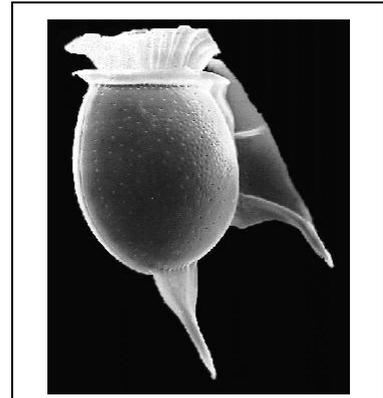


Figure I.2.11 –  
*Dinophysis acuminata* au MEB  
(taille de 30 à 100 µm)

### 1.3.5. Aflatoxines de champignons

Les aflatoxines sont des toxines produites par des champignons, et plus particulièrement par des moisissures de type *Aspergillus (flavus, parasiticus, nominus...)*. Ces toxines sont de petites molécules lipophiles très stables en absence de lumière et résistantes à plus de 100 °C. Elles sont essentiellement cancérogènes sans toxicité immédiate sur le foie et le rein.

Elles sont dosées par HPLC (chromatographie liquide haute performance) après extraction éventuelle sur des colonnes d'immunochromatographie.

D'autres mycotoxines, rares, peuvent avoir des effets sur le système immunitaire, sur le système nerveux, le rein... Elles ne seront pas développées ici.

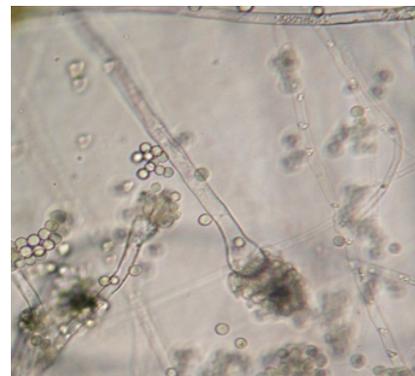
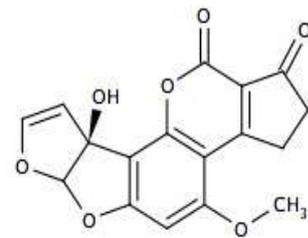


Figure I.2.12 – Formule de l'Aflatoxine M1 et  
*Aspergillus flavus*

## 2. Infections d'origine alimentaire (toxiinfections)

Les infections d'origine alimentaire sont caractérisées par une multiplication des microorganismes chez le malade, parfois accompagnée de production de toxine.

Hormis dans certains cas particuliers, les syndromes digestifs sont la règle. L'étude des infections d'origine alimentaire est particulièrement délicate en raison de nombreux problèmes techniques et du coût financier, que ne justifie pas leur faible gravité générale.

Un genre, *Salmonella*, domine les infections d'origine alimentaire par la gravité des troubles observés. La place de certains germes, comme *Campylobacter*, est très certainement sous-estimée.

### 2.1. Salmonelloses

Les *Salmonella* sont des entérobactéries. Ce genre est divisé en deux espèces, *Salmonella enterica* et *Salmonella bongori*. L'identification immunologique différencie environ 2 500 sérovars en 2004.

Elles sont le plus souvent pathogènes pour l'homme comme pour l'animal et sont généralement d'origine alimentaire. Les Salmonelles sont le principal agent de TIAC actuellement en France (voir statistiques Annexe 3).

Le pouvoir pathogène chez l'homme amène à distinguer deux catégories de *Salmonella* :

- celles donnant les **salmonelloses spécifiquement humaines** : les fièvres typhoïde (*S. Typhi*) et paratyphoïdes (*S. Paratyphi A, B, C*), maladies graves de longue durée ;
- celles donnant des **salmonelloses humaines et animales** provoquant le plus souvent une gastroentérite d'évolution rapide pouvant toutefois être redoutables.



Figure I.2.13 – *Salmonella enterica* Typhimurium envahissant culture de cellules (MEB) (Rocky Mountain Laboratories, NIAID, NIH)

La localisation digestive des salmonelloses entraîne la contamination des matières fécales : les malades, les porteurs asymptomatiques (porteurs sains), souvent d'anciens malades, éliminent les *Salmonella* dans leurs selles. Ainsi les aliments, à l'occasion d'une contamination fécale, pourront être eux-mêmes pollués par les *Salmonella*. La dose infectieuse serait de l'ordre de  $10^6$  bactéries pour des *Salmonella* « banales » mais les variations individuelles sont considérables.

D'autre part, les *Salmonella* peuvent parfois se développer dans l'utérus de la poule et contaminer l'intérieur de l'œuf en y persistant sans détruire l'œuf. Elles peuvent aussi pénétrer à la suite d'une diminution de perméabilité des membranes et de la coquille.

Les aliments dangereux sont donc très variés, avec un danger particulier présenté par les œufs.

Les sérovars trouvés dans les intoxications alimentaires sont principalement :

- ***Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* 1,4,[5] i –** (ce dernier sérovar est de formule identique à *S. Typhimurium* sans H phase 2 1,2)
- ***S. Livingstone***
- ***S. Enteritidis***,
- *S. montevideo*, Dublin, Indiana, Derby...

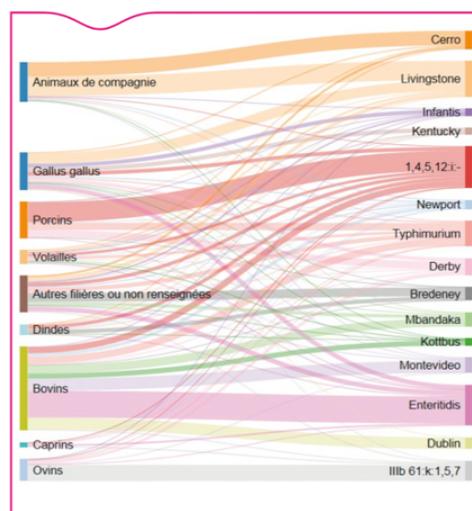
Une contamination relativement massive semble le plus souvent nécessaire pour que les troubles surviennent.

La mise en évidence des *Salmonella* est difficile.

Les critères de sécurité sont rigoureux pour les aliments et leur présence absolument anormale.

Les tableaux suivants montrent les sérovars en fonction de l'origine (2015) et en fonction des espèces.

Alimentation humaine (n=1503)	Alimentation animale (n=619)	Santé animale (n=136)	Écosystème (n=107)
S. 1,4,[5],12 i:-	224 S. Livingstone	162 S. Enteritidis	154 S. Veneziana
S. Typhimurium	135 S. Cerro	113 S. Livingstone	71 S. 1,4,[5],12 i:-
S. Enteritidis	131 S. 1,3,19:z27:-	19 S. 1,4,[5],12 i:-	64 S. Enteritidis
S. Derby	111 S. Hadar	19 S. Montevideo	56 S. Typhimurium
S. Bredeney	98 S. Mbandaka	18 S. IIIb 61:k:1,5,7	55 S. Alabany
S. IIIb 61:k:1,5,7	93 S. Anatum	16 S. Mbandaka	45 S. Newport
S. Dublin	66 S. Havana	13 S. Kottbus	42 S. Bovismorbificar
S. Montevideo	49 S. Tennessee	13 S. IIIa 48:z4,z23:-	38 S. Livingstone
S. Mbandaka	41 S. Agona	12 S. Lille	35 S. London
S. Infantis	38 S. Newport	12 S. Typhimurium	35 S. Napoli
S. Kentucky	28 S. Indiana	11 S. Llandoff	33 S. Weltevreden
S. Livingstone	27 S. Infantis	11 S. Tennessee	28 S. Agona
S. Newport	27 S. Llandoff	10 S. Give	25 S. Ajiobo
S. Anatum	26 S. Montevideo	10 S. Newport	25 S. Durban
S. Rissen	25 S. Typhimurium	10 S. Veneziana	21 S. Infantis
S. Kedougou	25 S. 1,4,[5],12 i:-	10 S. Dublin	20 S. IIIb 38:r:z



**Principaux sérovars des souches reçues au Laboratoire de sécurité des aliments selon le secteur d'activité dans le cadre du réseau *Salmonella* en 2015**

**Distribution des 15 principaux sérovars de *Salmonella* (n = 2100, 61 %) recensés parmi les souches adressées au laboratoire de sécurité des aliments du réseau *Salmonella* en 2015**

Extrait de *Bulletin épidémiologique Santé animale Alimentation*, numéro 77, numéro spécial *Surveillance sanitaire des aliments*, janvier 2017

**DOCUMENTS**

**L'HISTOIRE DE MARIE TYPHOÏDE**

Un cas célèbre de porteurs de germes est celui de l'Américaine Mary MALLON, morte en 1938 à 70 ans, dans une île où elle avait été internée sous le nom de « Marie-Typhoïde ». Guérie d'une typhoïde contractée dans sa jeunesse, elle était restée contagieuse toute sa vie. Engagée comme cuisinière dans diverses maisons, pensionnats... elle fut à l'origine d'une épidémie dans toutes ces places.

Dépiquée comme porteuse de germes, elle récidiva malgré sa promesse de ne plus servir comme cuisinière et causa la mort de plusieurs personnes. On décida de l'interner dans une île jusqu'à la fin de ses jours.

*Extraits de Anatomie, physiologie, hygiène, par M. Oria et J. Raffin, classe de 3<sup>e</sup> (programme d'octobre 1958), éditions Hatier*



**L'ÉPIDÉMIE DE LA BRUCHE**

En septembre 1947, dans la région strasbourgeoise, vingt et un villages de la vallée de la Bruche sont atteints par une épidémie de fièvre typhoïde. L'information a été fournie dès les premiers cas, le même jour, par les sept médecins desservant la vallée.

Grâce à leur célérité et à la précision de leurs renseignements, le directeur de la Santé de Strasbourg peut organiser les mesures appropriées et déceler l'origine du contagion (cause matérielle de la contagion).

L'enquête révèle que les 137 cas concernent des jeunes filles et des enfants, la période de contamination remontant à deux dimanches pendant lesquels avaient eu lieu des matchs de football sur les terrains de trois villages de la vallée.

Ces indications permettent d'établir que les sujets contaminés avaient tous consommé des sorbets provenant du même fabricant et distribués en plein air ces dimanches. Les sorbets avaient été contaminés au laboratoire du fabricant par un employé porteur de germes paratyphiques B.

*Extraits de Anatomie, physiologie, hygiène, par M. Oria et J. Raffin, classe de 3<sup>e</sup> (programme d'octobre 1958), éditions Hatier*

## À PROPOS D'UNE TOXIINFECTION SURVENUE DANS UNE CANTINE EN ÎLE-DE-FRANCE

Plus de mille cas d'intoxication alimentaire surviennent dans les écoles de Champs sur Marne. La guérison des malades est heureusement rapide ce qui n'avait pas été le cas en Angleterre avec le décès de 26 patients d'un hôpital psychiatrique. Vient alors le temps de la justice... pour établir les responsabilités.

La source de la contamination à *Salmonella* Enteritidis semble être une mayonnaise contaminée. La chaîne entre les œufs contaminés et les consommateurs atteints est longue avec de multiples intervenants. Les étapes de l'enquête, supposant que ce sont bien les œufs en cause, seront donc :

La poule : des œufs sont saisis chez le traiteur pour détecter la présence des bactéries.

La cuisine de préparation : 12 000 repas sont préparés chaque jour. Le contrôle va donc porter sur l'hygiène de fabrication en vérifiant que toutes les étapes sont conformes aux règles. Dans ce cas elle ne présente pas d'anomalies dans le passé d'après les services vétérinaires régionaux.

Lors de la visite des experts, ceux-ci constatent que la cuisine ressemble à un bloc opératoire, avec des tenues complètes du personnel (calot, masques, gants jetables, blouses changées chaque jour...). Après cuisson les plats sont conditionnés dans des barquettes carton puis scellées et immédiatement refroidies à +8 °C en 20 min maximum. Ils sont ensuite stockés en chambre froide à +3 °C et ne seront réchauffés qu'après leur arrivée au lieu de consommation. Cette chaîne du froid doit être rigoureuse pour éviter toute multiplication microbienne. Pour les plats froids ou crus la situation est plus délicate et mérite une attention plus importante pour le maintien du froid et pour éviter les contaminations croisées.

Le suivi du personnel : il révèle que deux employés ayant consommé les mêmes repas ont été malades en même temps que les élèves. La contamination des œufs ayant servi à faire la mayonnaise devient très probable et exclut donc une contamination par le personnel lors de la fabrication.

Le nombre de malades et l'impact sur les parents d'élèves ont conduit le maire à rompre très rapidement le contrat avec l'entreprise fournissant les repas : la rapidité de la décision, sous la pression des parents, est très contestable car la responsabilité de l'entreprise n'est pas établie, et ne le sera pas. Une quinzaine d'employés risquent d'être licenciés.

Pour éviter une telle infection, l'entreprise envisage la suppression de la mayonnaise et son remplacement par un produit industriel pasteurisé. Plus sûr mais gustativement discutable...

D'après Le Monde du 7 octobre 1984.

## 2.2. Infections d'origine alimentaire à *Clostridium perfringens*

Certains *Clostridium perfringens* (de type A) sont capables de produire une toxine protéique.

Dans un aliment cuit en bouillon, la destruction des spores n'a pas lieu. Si la conservation ensuite n'est pas faite correctement, il y a germination et les bacilles anaérobies stricts peuvent se multiplier abondamment dans le milieu anaérobie.

Un réchauffage insuffisant laisse intacts bacilles et toxine. La toxine comme les formes végétatives, sont détruites dans l'estomac, tandis que les spores des bacilles passent sans encombre dans l'intestin. Après germination, les bacilles formés se multiplient et produisent, en sporulant à nouveau, la toxine correspondant probablement aux enveloppes sporales en excédent.

Cette toxine protéique, de masse molaire 50 kg/mol, provoque sur les entérocytes la formation de pores au niveau de l'iléon, segment distal de l'intestin grêle, et déclenche ainsi la diarrhée. Les souches en cause sont hypersporulées et dérégulées pour la synthèse des enveloppes sporales. Les troubles digestifs (diarrhée) disparaissent spontanément et rapidement.

**Le nombre de cas en France est de l'ordre de 6000 ± 3000 avec de 2 à 6 décès par an.**

Remarque : l'aliment en cause est généralement une viande contaminée par les manipulateurs.

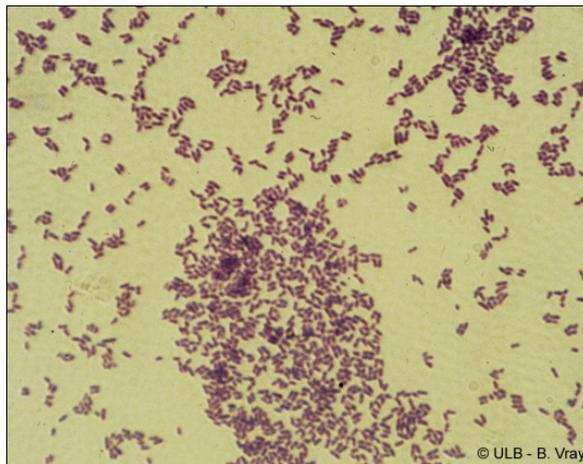
## 2.3. Infections à *Listeria monocytogenes*

*Listeria monocytogenes* est un pathogène rare mais redoutable car il peut provoquer le décès des personnes contaminées fragiles.

En effet, ce bacille Gram + banal de l'environnement peut, dans certains cas, provoquer des infections graves chez des personnes affaiblies (personnes âgées, intoxiqués par l'alcool et le tabac), chez les fœtus des femmes enceintes (fort risque d'avortement), et chez les nouveau-nés (méningites néonatales gravissimes).

Chez la plupart des individus, la bactérie ne s'implante pas dans l'intestin. Chez certaines personnes, elle pénètre, grâce à une protéine, **l'internaline**, dans les entérocytes par endocytose, puis détruit la vacuole grâce à la **listériolysine**. Elle se multiplie dans les cellules et peut infecter directement les cellules voisines, échappant au système immunitaire. Les troubles sont, à ce stade, mineurs. Mais, comme pour les *Salmonella* invasives, *Listeria monocytogenes* peut gagner les macrophages et passer dans la circulation sanguine. Échappant à la digestion lysosomiale, la bactérie va pouvoir s'implanter à distance, notamment dans le LCR (liquide céphalorachidien), provoquant une méningite, ou dans le placenta, provoquant une infection du fœtus.

On recense environ 250 cas hospitalisés par an en France avec une mortalité d'environ 30 %. 25 % sont des cas maternels-fœtaux et 75 % des immunodéprimés.



Listeria au Gram

### • DOCUMENTS

#### LISTÉRIOSE NEURO-MÉNINGÉE ASSOCIÉE À LA CONSOMMATION DE CRÈME GLACÉE

##### Résumé

Un cas sporadique de listériose neuroméningée (*L. monocytogenes* sérovar 4b) est décrit chez un homme de 62 ans, apparemment immunocompétent. Quatre jours auparavant, le malade avait consommé de la crème glacée dans laquelle *L. monocytogenes* sérovar 4b, du même lysovar et du même profil électrophorétique a été isolée à concentration moyenne de  $10^4$  UFC/g.

Au cours de la dernière décennie, des denrées alimentaires ont été impliquées à plusieurs reprises dans diverses épidémies de listériose. Cependant dans la grande majorité des cas, la listériose demeure une affection d'apparence sporadique, dans laquelle la contamination d'origine alimentaire n'a pu être que rarement démontrée.

La présente observation relate un cas de listériose neuroméningée chez un adulte masculin, apparemment immunocompétent, après consommation de crème glacée contaminée.

##### Cas clinique

M. M. J. a été admis en urgence le 4/11/1989 en neurologie à la clinique Imelda de Bonheiden. Il avait manifesté dans les trois jours précédents des céphalées accompagnées de somnolence, de fatigue excessive et de fièvre. Le médecin traitant l'avait soigné pour un épisode grippal, mais étant donné la persistance et l'aggravation des symptômes, avait conseillé l'hospitalisation.

Examens pratiqués lors de l'admission

- Examen neurologique : patient somnolent mais bien orienté. Nerfs crâniens : sans particularité. Fond d'œil : pas de congestion papillaire. Importante raideur de la nuque. Pas de signes cliniques de latéralisation. Température : 38 °C.
- Pression sanguine : 160/90 mmHg (21,3/12 kPa). Pouls : 92/mn.
- Sang : vitesse de sédimentation : légèrement augmentée. Leucocytose : légèrement augmentée. Hypokaliémie. CRP (protéine C réactive) : augmentée.
- Liquide céphalo-rachidien : cytose 737 cellules/mm<sup>3</sup> (9 % mononucléaires, 91 % granulocytes). Protéines : 2,96 g/L. Glucose (0,82 g/L).
- Radiographie thorax : pas de pathologie pulmonaire évolutive.
- Tomodensitométrie cérébrale : normale.
- Bactériologie : présence de *Listeria monocytogenes* hémolytique dans le LCR et le sang. Souche sérotypée sérovar 4b par le Centre national belge de référence pour *Listeria*.

(suite en page suivante)

Dans l'attente des résultats de l'examen bactériologique et de l'antibiogramme, le traitement suivant avait été institué : 24 millions U. pénicilline G et 3 g de chloramphénicol/24 h. Un jour après l'admission, l'état du patient avait empiré et il présentait un état de mal épileptique qui nécessitait un traitement au pentothal. Entre temps, les résultats de l'antibiogramme avaient fait remplacer pénicilline G et chloramphénicol par Pentrexyl 12 g/24 h associés à des corticoïdes et à la diphantoïne. L'évolution fut compliquée par l'apparition d'une pneumonie à *Aspergillus*, traitée avec succès par l'itraconazole.

Trois semaines après l'admission, le patient put être progressivement mobilisé et l'alimentation parentérale fut remplacée par l'alimentation per os. Huit semaines après l'admission, le patient quittait la clinique avec une démarche légèrement ataxique, une maladresse diffuse, une amnésie d'une période de 3 semaines et une voix rauque. Un contrôle effectué 2 mois plus tard montrait la disparition de tous ces symptômes.

### **Relation avec les aliments consommés**

M. M. faisait partie d'un groupe de douze adultes qui, quatre jours auparavant, avaient consommé dans un restaurant de camping un repas comportant comme dessert une portion de crème glacée de fabrication industrielle, agrémentée de crème fraîche également de fabrication industrielle. Plusieurs convives s'étaient plaints du goût anormal de la crème fraîche et ne l'avaient pas consommée. Dans les deux jours qui ont suivi, l'ensemble des douze convives avait manifesté des douleurs diverses d'allure grippale, en particulier des maux de gorge. Ces symptômes avaient disparu en 2 à 4 jours chez tous, à l'exception du patient hospitalisé. Une plainte en justice ayant été déposée par la famille du malade dès les premiers signes de la maladie, une enquête administrative approfondie a été très rapidement menée et a permis le prélèvement de diverses denrées dans les installations du restaurateur. Ont ainsi été examinés :

- un récipient entamé de 5 L de crème glacée ayant été servie aux convives ;
- une bombe de 500 g de crème fraîche surgelée, non entamée, du même lot que celle ayant été servie.

*Listeria monocytogenes*, hémolytique, sérovar 4b, a été mise en évidence dans la crème glacée en quantité variant entre  $10^2$  et  $10^6$  UFC/g suivant l'endroit du prélèvement, et dans la bombe de crème fraîche neuve, en quantité variant entre  $10^2$  et  $10^3$  UFC/g. Toutes les souches isolées de la crème glacée et de la crème fraîche ont été sérotypées par le Centre national belge de référence pour *Listeria* et appartiennent au sérovar 4b. L'ensemble des souches isolées chez le malade et dans les denrées a été transmis pour lysotypie à l'Institut Pasteur de Paris (Dr J. Rocourt). Elles appartiennent au même lysovar. Elles ont également été transmises à l'*Istituto Cantonale Batteriosierologico Lugano* (Dr J.C. Piffaretti) pour caractérisation par électrophorèse iso-enzymatique. Elles présentent le même profil électrophorétique et ne sont pas différenciables.

De nombreux contrôles ultérieurs ont été effectués à la fabrique de crème glacée et dans l'entreprise conditionnant la crème fraîche. Tous les prélèvements ont été négatifs. Il ne paraît cependant pas douteux que la crème fraîche ait été à l'origine de cette contamination. L'isolement d'une souche de *Listeria* non différenciable de celle isolée chez le patient à concentration de  $10^2$ - $10^3$  UFC/g dans une bombe de crème fraîche non ouverte et surgelée, du même lot que la boîte consommée, reste déterminant. En revanche, l'origine de la teneur importante en *Listeria* dans la crème glacée est plus mystérieuse.

En l'absence d'explication du restaurateur poursuivi en justice, beaucoup de suppositions sont possibles. Il paraît cependant vraisemblable que le restaurateur ait incorporé de la crème fraîche à ce récipient de crème glacée. En effet, la teneur en matières grasses de cette boîte entamée était de 15,2 % alors que la teneur des boîtes non entamées sortant de production est de 9,2 %.

### **Discussion**

Le caractère ubiquitaire de *Listeria monocytogenes* et sa faculté à se multiplier aux températures habituelles de réfrigération rendent inévitable la contamination de beaucoup de produits alimentaires. Dans le cas présent, la bombe de crème fraîche provient d'une fabrique qui n'effectue que le conditionnement et la mise sous pression, et à qui la crème fraîche est livrée pasteurisée en container. À divers stades, ce type de fabrication présente pour les *Listeria* des possibilités de survie et de multiplication (pasteurisation insuffisante, transport en container insuffisamment réfrigéré, recontamination lors du conditionnement). Il n'est dès lors pas surprenant que puisse exister en fin de fabrication une contamination initiale en *Listeria* de l'ordre de  $10^2$  à  $10^3$  UFC/g, telle que nous avons pu la constater. Le fabricant autorisant dans le mode d'emploi une conservation de 3 semaines au réfrigérateur après décongélation, le risque de teneur plus importante devient très réel. Dans l'esprit du consommateur, ce type d'aliment pasteurisé et présenté en emballage hermétique est assimilé à une semi-conserve. L'absence totale de *Listeria* devrait y être exigée. En effet, même le strict respect du mode d'emploi et des conditions d'entreposage ne peut apporter de garantie de non-multiplication en cas de présence même faible.

Le cas décrit ici est probablement à l'image de ce qui se passe souvent, mais de façon obscure. Nous en avons eu connaissance parce que le hasard a fait consommer en même temps par un groupe de 12 personnes qui se connaissaient très bien un aliment fortement contaminé. Un seul sujet a développé une listériose grave. Les autres ont manifesté un syndrome grippal pour lequel ils n'ont pas tous consulté et qui, dans d'autres circonstances, n'aurait peut-être même pas été signalé, ou aurait été attribué à autre chose.

(suite en page suivante)

Dans notre pays la morbidité de la listériose reste faible. Pourtant, il est à croire que des quantités souvent considérables sont absorbées, au moins épisodiquement, par le consommateur moyen. En effet, des fromages ou des charcuteries prélevés dans le commerce de détail et destinés à être consommés tels quels, sans cuisson supplémentaire, peuvent parfois contenir de  $10^2$  à  $10^5$  et même jusqu'à  $10^7$  UFC de *Listeria monocytogenes* hémolytique par g, portant la quantité totale ingérée à des chiffres bien supérieurs. Par ailleurs, les relevés établis sur les cinq dernières années indiquent une discordance entre les sérovars présents dans les denrées alimentaires et ceux identifiés dans les cas humains. Au cours de cette période, le sérovar 4b a été responsable de 71,5 % des cas chez l'homme, les 28,5 % restants se répartissant en sérogroupes 1/2 et 3. Dans les aliments, en revanche, le sérovar 4b n'a représenté que 13,5 % des souches isolées, alors que 86,5 % des souches appartenaient aux sérogroupes 1/2 et 3. Ces constatations, confirmées en France notamment, soulignent l'intérêt et montrent la nécessité de mieux comprendre les mécanismes de la pathogénie de cette infection.

P. André\*, H. Roose\*\*, R. Van noyen\*\*, L. Dejaegher\*\*, L. Uyttendaele\*\* et K. de Schrijver\*\*\*

\* Centre national belge de référence pour *Listeria*, Institut d'hygiène et d'épidémiologie, 14, rue Juliette Wytsman, 1050 Bruxelles, Belgique.

\*\* Imelda Ziekenhuis, 2820 Bonheiden, Belgique.

\*\*\* Gezondheidspinctle, Copernicuslaan 1, bus 5, Antwerpen, Belgique

## 2.4. Autres infections d'origine alimentaire

### 2.4.1. Infections bactériennes d'origine alimentaire à manifestations digestives

Les facteurs de pathogénicité sont alors variés. Outre la nécessité de colonisation, les microorganismes en cause peuvent :

- produire des **toxines cytotoxiques** comme la toxine cholérique provoquant une fuite d'ions et donc d'eau ;
- des cytotoxines détruisant ou perturbant les cellules, et pouvant posséder des capacités invasives plus ou moins importantes.

Les principales bactéries en cause sont :

- ***Shigella*** (et notamment *Shigella sonnei* et *flexneri*), ***Escherichia coli*** entérohémorragiques (EHEC) comme *E. coli* O157H7 (O111 et accessoirement O26 et O103, O145...), ou entéro-invasifs (EIEC) et même les EPEC (entéropathogènes *E. coli*) ; la part de la transmission alimentaire pour *Shigella* est estimée à 10 % en France car la transmission est avant tout interhumaine. *Escherichia coli* et *Shigella* sont si proches que le genre *Shigella* devrait disparaître si des confusions n'étaient pas craintes au niveau des thérapeutes.

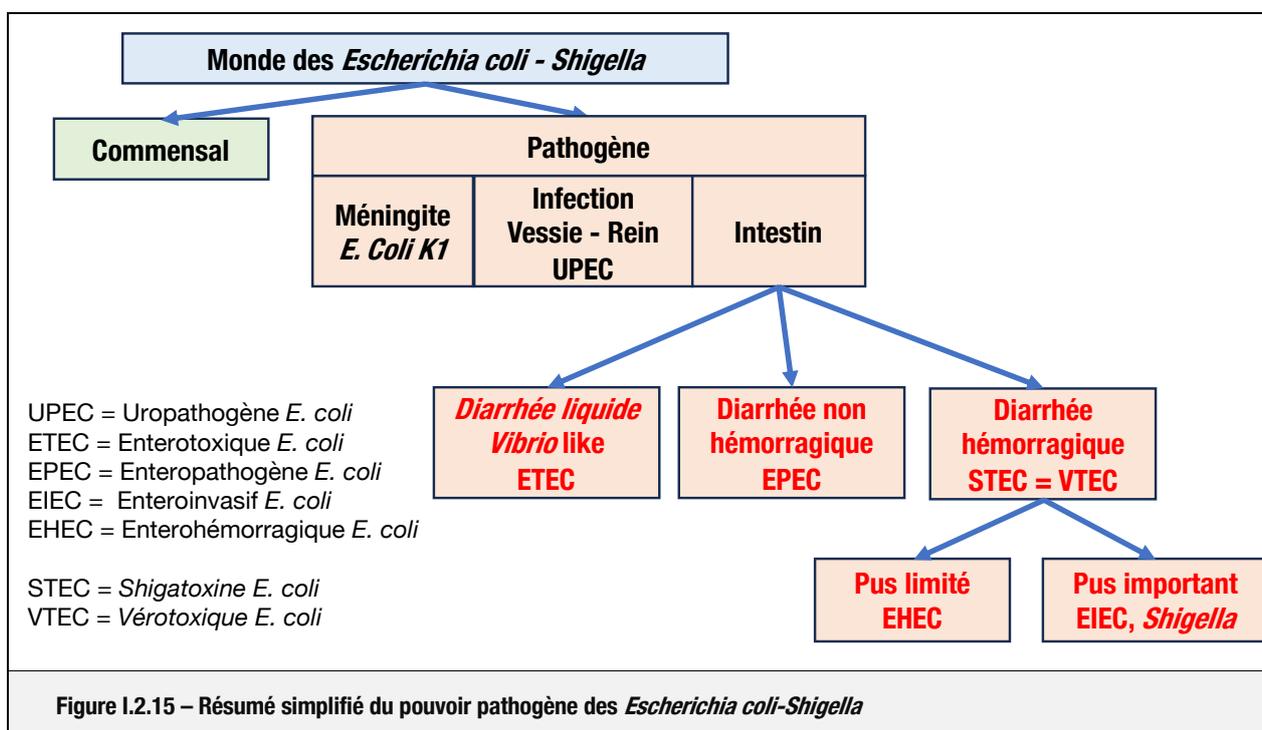
Les différents sigles et un résumé du pouvoir pathogène des *Escherichia coli* sont rassemblés dans la figure I.2.15. Attention : le syndrome hémorragique et urémique (SHU) est lié au *Escherichia coli* et *Shigella* producteurs de shigatoxine (stx). La toxine, absorbée, a des effets délétères par son action directe sur le rein. Il n'y a pas d'infection rénale. Voir tableau de résumé I.2.15.

- ***Yersinia enterocolitica***, bactéries se multipliant à 4 °C ; les sérovars pathogènes sont O3, 8, 9, 5,27 et les biotypes 1 à 4 de *Yersinia enterocolitica* (ainsi que le sérovar O1 de *Yersinia pseudotuberculosis*). Le sérotypage de souches isolées des selles est donc impératif...
- ***Cronobacter sakazakii*** cause de gravissimes infections chez des bébés nourris avec des poudres de lait contaminés par la bactérie, aliment dans lequel elle doit donc être obligatoirement recherchée.
- ***Bacillus cereus***, responsable :
  - soit d'un **syndrome émétique** (vomissements) dû à une toxine émétique thermostable, caractérisé par des nausées et vomissements survenant 20 minutes à 5 heures après l'ingestion de l'aliment (bouillon de viande ou de légumes, viandes, légumes cuits, desserts). Ce syndrome est comparable à l'intoxication staphylococcique mais le mode d'action de la toxine n'est pas clair (agent découplant dans la respiration cellulaire possible). La dose déclenchant les troubles serait de l'ordre de 20 µg (voir intoxications) ;
  - soit d'un **syndrome diarrhéique**, dû à une (ou des toxines) thermolabile(s), avec apparition de diarrhée et de crampes abdominales 6 à 15 heures après l'ingestion de riz bouilli ou grillé consommé dans les restaurants orientaux. Ce syndrome est comparable à l'infection à *Clostridium perfringens*. Ces toxines pourraient agir en provoquant la formation de pores dans les entérocytes.

En France, le nombre de cas est faible. La mortalité est nulle sauf dans le cas d'une TIAC survenue en 1998 au sein d'une population âgée (4 décès pour 9200 malades). Les cas sont confirmés par l'isolement de la bactérie dans les selles ou le dénombrement de plus de  $10^5$  *B. cereus* par g de l'aliment.

- **Campylobacter (jejuni et coli)**, probablement sous-estimé si l'on en croit le rapport « Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France » (juin 2003) qui indique : « L'analyse statistique des cas est d'une grande difficulté en raison des difficultés techniques et de la gravité limitée de l'infection, ne justifiant pas des recherches approfondies. La recherche des Campylobacter n'est donc pas systématique. Des enquêtes régionales montrent une variation du nombre de cas estimés de 1 à 3 et plus... ».  
Pourtant, pour les Suisses, la campylobactériose est responsable de la majeure partie des diarrhées d'origine bactérienne chez l'homme avec 5 000 cas contre 1 800 pour les salmonelloses... (voir *Magazine de l'Office vétérinaire fédéral*, 3, 2007).
- **Vibrio non cholériques (parahaemolyticus, alginolyticus, cholerae non O1, vulnificus...)**, responsables de très rares en France (14 par an dont des cas d'importation) mais qui sont probablement sous-estimés vu la très faible gravité de l'infection. *V. parahaemolyticus* est un vibriion halophile trouvé dans les produits de la mer (rare en Europe). Seules les souches hémolytiques sont pathogènes ;
- **Vibrio cholerae O1** provoquant le choléra, souvent transmis par des aliments, avec de très rares cas importés en Europe, et les **ETEC** (Entérotoxiques *E. coli*) donnant un syndrome comparable.

En outre, certaines intoxications alimentaires peuvent être consécutives à l'absorption de microorganismes variés en quantité importante. Mal connues, elles sont très généralement bénignes.



## 2.4.2. Infections bactériennes d'origine alimentaire à manifestations non digestives

La tuberculose peut avoir pour origine un lait contaminé par un *Mycobacterium* du complexe *tuberculosis* (*tuberculosis*, *bovis* ou *africanum*). La principale voie d'entrée de la bactérie n'est pas alimentaire.

Les brucelloses (*Brucella*) et accessoirement la tularémie (*Francisella tularensis*) sont fréquemment transmises par des laits ou des fromages contaminés par les animaux malades. Elles peuvent aussi pénétrer par voie transcutanée. En 2005, pour la France, la brucellose pouvait être considérée comme éradiquée chez les bovins et quasiment éradiquée chez les ovins et caprins. Sur les 40 cas déclarés cette année, 34 sont d'importation (*Brucella melitensis*) et 6 autochtones dont 5 chez les laborantins et 1 lié au contact avec des réservoirs animaux sauvages (*Brucella suis*).

## 2.4.3. Infections virales d'origine alimentaire à manifestations digestives

Des infections virales peuvent être de véritables intoxications alimentaires : c'est le cas par exemple de la poliomyélite transmise par des eaux contaminées, ou de l'hépatite virale A transmise par des coquillages contaminés. D'autres virus peuvent être mis en cause : *Rotavirus*, *virus de Norwalk*...

Cependant, une maladie comme le sida ne se transmet pas par les aliments.

Les maladies virales transmises par voie alimentaire provoquent souvent des gastroentérites et donc des diarrhées, mais les manifestations sont souvent générales (syndromes respiratoires, infections du foie...) et le virus présent dans de nombreux organes. Une transmission par voie aérienne est probablement souvent en cause en plus de la transmission fécale.

Voici quelques précisions sur les virus de transmission alimentaire chez l'homme, adapté d'un document canadien (non disponible aujourd'hui).

### Calicivirus humains (famille des *Caliciviridae*)

Ils comprennent quatre genres dont :

- genre *Norovirus* appelé précédemment *Norwalk Like Virus* et correspondant aux *Small Round Structured Virus (RRSSV)* de l'ancienne classification ;
- genre *Sappovirus* (ex. *Sapporo like*)

Les infections par les norovirus atteignent les nouveau-nés, les enfants et les adultes. Les effets sur la santé, associés aux infections à norovirus, ont tendance à être bénins et durent habituellement de 24 à 48 heures après une incubation de même durée. Nausées, vomissements, diarrhée, douleurs abdominales et fièvre sont au nombre des symptômes. Les milieux clos (écoles, navires...) favorisent considérablement l'infection.

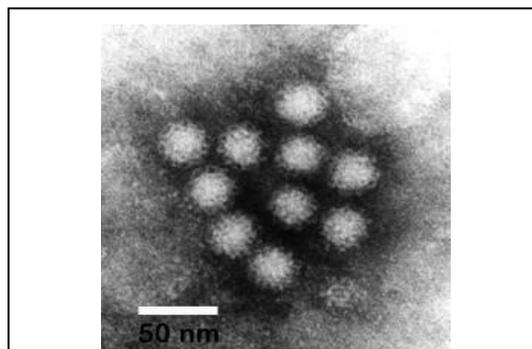


Figure I.2.16 – Norovirus en microscopie électronique, F.P. Williams, U.S. EPA (barre de 50 nm)

### Virus de l'hépatite A (HAV) et de l'hépatite E (HEV)

Il y a cinq types de virus de l'hépatite, dont deux seulement (HAV et HEV) se transmettent notamment par la voie fécale-orale en particulier par l'eau, le virus étant excrété dans les selles durant la période d'incubation de 30 jours environ.

- Dans le cas de **l'hépatite A**, les symptômes de la maladie comprennent de la fièvre, des malaises (fatigue), de l'anorexie, des nausées et une gêne abdominale. La jaunisse, traduisant l'attaque hépatique, suit quelques jours plus tard. La maladie est très invalidante. La dose infectieuse serait de 10 à 100 virions, mais seuls 10 % des contaminés présenteront des troubles.
- Dans le cas de **l'hépatite E** transmise par voie fécale, les symptômes de la maladie sont très proches de ceux de l'hépatite A. La dose infectieuse est inconnue. La période d'infection de l'hépatite E varie de deux à neuf semaines ; l'affection est habituellement bénigne et se résorbe en deux semaines sans laisser de séquelles. Le taux de mortalité s'établit à 0,1-1 %, sauf chez les femmes enceintes où il atteint presque 20 %. La maladie touche le plus souvent des sujets jeunes ou d'âge moyen (15 à 40 ans).

### Rotavirus

La gastro-entérite à rotavirus peut se manifester sous des formes variant de la diarrhée bénigne d'une durée de moins de 24 heures à la gastro-entérite grave pouvant être mortelle. Le sujet peut vomir pendant 48 heures avant l'apparition de la gastro-entérite. La période d'incubation varie d'environ 19 heures à deux jours. La maladie dure en général de 5 à 8 jours. La dose infectieuse serait de 10 à 100 virions.

Le rotavirus du groupe A est endémique dans le monde entier et constitue le groupe le plus courant et le plus répandu. On qualifie les infections qu'il provoque de diarrhée infantile, diarrhée hivernale, gastro-entérite infectieuse non bactérienne aiguë et gastro-entérite virale aiguë. Les enfants de six mois à deux ans, les nouveau-nés prématurés, les personnes âgées et les sujets dont le système immunitaire est déficient sont particulièrement vulnérables. Les rotavirus sont la principale cause de diarrhée grave chez les nourrissons et les enfants et causent environ la moitié des cas de diarrhées virales nécessitant une hospitalisation. Aux États-Unis, sont enregistrés près de 3,5 millions de cas par année. Dans les régions tempérées, la maladie se manifeste principalement au cours de l'hiver.

### Entérovirus

La voie orale est la principale voie d'infection par les entérovirus. La période d'incubation varie de 2 à 35 jours. Les entérovirus peuvent survivre au transit dans l'estomac et infecter le tractus intestinal inférieur. La virémie est fréquente et le passage dans divers organes cibles entraîne tout un éventail de symptômes. La poliomyélite et la méningite sont les maladies les plus graves causées par les entérovirus, mais on a également incriminé ces derniers dans des formes de myalgie, le syndrome de Guillain-Barré, l'hépatite, les maladies fébriles et la conjonctivite. Les entérovirus sont endémiques dans le monde entier, mais peu de cas d'origine hydrique sont signalés. Les entérovirus demeurent un important problème de santé publique dans les pays en développement. Le nombre élevé de sérotypes, la nature habituellement bénigne des infections et le fait que celles-ci sont très transmissibles par contact personnel dans une collectivité expliquent probablement pourquoi on connaît si peu de choses sur leur transmission par voie hydrique.

### Autres virus entériques

#### Adénovirus

Les adénovirus humains peuvent causer des infections respiratoires et gastro-intestinales. La gastro-entérite à adénovirus atteint surtout les jeunes enfants. Sa période d'incubation varie d'un à trois jours et ses symptômes comprennent la diarrhée et les vomissements. Les adénovirus peuvent être transmis par contact direct, par la voie fécale-orale ou par les eaux utilisées à des fins récréatives (piscines, étangs, lacs). L'eau potable n'a pas été incriminée comme voie de transmission.

## Astrovirus

L'infection à astrovirus cause habituellement des symptômes qui ressemblent énormément à ceux observés dans le cas de l'infection à rotavirus. Elle atteint surtout les jeunes enfants. Sa période d'incubation varie d'un à quatre jours. Les astrovirus sont transmis par la voie fécale-orale, par les eaux utilisées à des fins récréatives ou par les aliments. L'eau potable comme voie de transmission, n'a pas été incriminée.

## Parvovirus

Une infection à parvovirus cause habituellement une affection bénigne ressemblant à la grippe, parfois accompagnée d'une éruption (« cinquième maladie »). Les complications, qui comprennent l'anémie et l'arthralgie, peuvent atteindre les femmes enceintes et les sujets dont le système immunitaire est compromis. La période d'incubation varie de 4 à 14 jours. On ne connaît pas trop le rôle des parvovirus dans la gastro-entérite humaine. Des preuves limitées indiquent que le parvovirus est transmis par les aliments (mollusques et crustacés) et les eaux utilisées à des fins récréatives. L'eau potable, comme voie de transmission, n'a pas été incriminée.

[http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/doc\\_sup-appui/enteric-enterovirus/health\\_effects-effets\\_sante\\_f.html](http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/doc_sup-appui/enteric-enterovirus/health_effects-effets_sante_f.html)  
voir document sur les phages fécaux : [www.afssa.fr/Ftp/Afssa/35943-35944.pdf](http://www.afssa.fr/Ftp/Afssa/35943-35944.pdf)

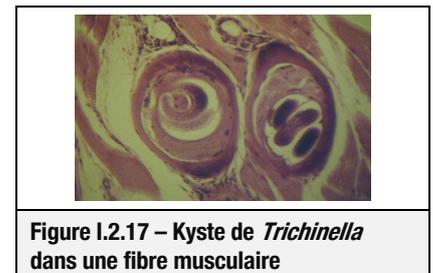
## 2.4.4. Infections (ou infestations) parasitaires liées à des helminthes d'origine alimentaire

Les parasites sont des êtres vivants composés de cellules eucaryotes sans paroi ni chloroplastes comprenant des unicellulaires (protozoaires) traités en 2.4.5. et des pluricellulaires comme les vers ou helminthes, les insectes et arachnides...

Différents parasites peuvent être rencontrés dans les aliments et causer des troubles qui s'apparentent parfois aux infections bactériennes d'origine alimentaire. Leur présence dans un aliment est souvent la conséquence d'une contamination fécale. Ne seront envisagés ici que les parasites rencontrés en Europe.

### 2.4.4.1. Nématodes (vers ronds)

- *Trichinella spiralis* ou trichine, contamine l'homme mangeant de la viande mal cuite renfermant des larves enkystées. Celles-ci se développeront dans l'intestin du consommateur où les femelles pondront de nouvelles larves qui s'enkysteront dans les muscles de l'individu, provoquant de graves myalgies et de la fièvre. De nombreux animaux, même herbivores, sont contaminés et entretiennent la parasitose. Les dernières épidémies sont curieusement dues à de la viande de cheval qui consomme probablement des rongeurs contaminés par les ensilages. Il y a moins de 40 cas confirmés par an en France.



- *Ascaris lumbricoides* est apporté par des aliments contaminés par des œufs. Les œufs éclosent dans l'intestin du consommateur libérant une larve qui va franchir la paroi intestinale et gagner le poumon puis rejoindre l'intestin en remontant la trachée et en passant par l'œsophage pour devenir adulte dans l'intestin. Le ver se développe et la femelle pond des œufs qui, émis avec les selles, peuvent se retrouver dans la terre et sur les légumes cultivés dans les jardins où ont été déposées des matières fécales humaines utilisées comme engrais. Les troubles provoqués par le ver sont généralement mineurs.



- D'autres nématodes peuvent avoir une origine alimentaire : l'oxyure (*Enterobius vermicularis*) et le trichocéphale (*Trichuris trichiura*).
- Un cas particulier : *Anisakis*. Ce nématode parasite de gros mammifères marins qui consomment des poissons, hôte secondaire du parasite (figure I.2.19). Il peut contaminer l'homme, consommateurs de poissons peu cuits ou crus, où il va tenter de s'enkyster dans le tube digestif. Il peut alors provoquer un pseudo-ulcère gastrique, une tumeur à éosinophiles intestinale... La parasitose est rarissime en France et il n'existe pas de système de surveillance des anisakiasés qui peuvent être prévenues par l'éviscération précoce du poisson, la congélation et surtout la cuisson. Les pays les plus concernés, comme l'Europe du Nord ou le Japon, sont ceux où le poisson est souvent mangé cru.



#### 2.4.4.2. Plathelminthes (vers plats)

- Le ténia du bœuf (*Taenia saginata* ou ver solitaire) et le ténia du porc (*Taenia solium*) contaminent l'homme par les larves « cysticerques » contenues dans la viande consommée crue ou insuffisamment cuite. Ces larves se transforment en vers de grande taille qui vivent dans l'intestin de l'homme (hôte définitif). Les œufs contenant l'embryon quittent l'intestin, soit libres dans les selles (*Taenia solium*), soit contenus dans des anneaux franchissant activement l'anus (*Taenia saginata*). Le bœuf ou le porc, hôtes intermédiaires, se contaminent en avalant les œufs qui, après avoir franchi la paroi intestinale, s'enkystent dans les muscles. Le ténia du porc est extrêmement rare en France tandis que le ténia du bœuf est très fréquent. Les troubles, pour le ténia du bœuf, sont très mineurs dans la plupart des cas bien que la sortie des anneaux par l'anus ne soit pas très agréable

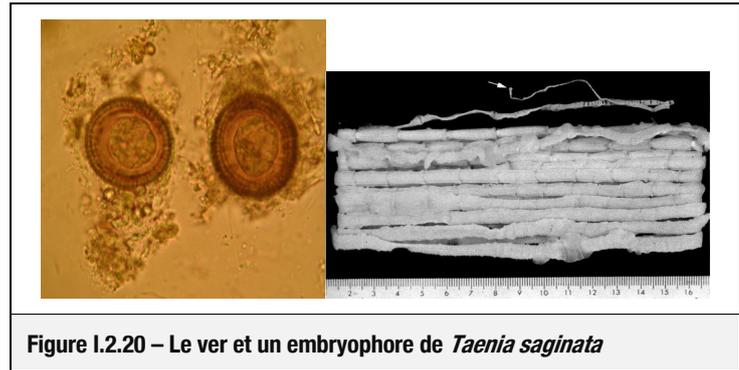


Figure I.2.20 – Le ver et un embryophore de *Taenia saginata*

- Le bothriocéphale (*Diphyllobothrium latum*) est transmis par des larves parasitant des poissons d'eaux douces et froides. Chez l'Homme, elles se transforment en vers de très grande taille (jusqu'à 20 m) qui émettent des œufs operculés. Un crustacé est colonisé par la larve ciliée issue de l'œuf et contamine à son tour les poissons qui le mangent et enfin des animaux, dont l'Homme, mangeant les poissons. Les troubles sont mineurs avec une possibilité d'anémie pernicieuse par carence en cobalamine.
- *Echinococcus granulosus* est un ténia du chien qui se contamine en mangeant les larves contenues dans un herbivore (bovin, dromadaire, ovin...) lui-même contaminé par les œufs présents dans les selles du chien. L'homme peut parfois être infesté comme l'herbivore : les œufs vont donner des larves hépatiques provoquant la formation de kystes hydatiques mortels. C'est « l'échinococcose kystique ». Les aliments en cause sont ceux contaminés par les selles de chien. Les données de la part alimentaire des échinococcoses ne sont pas disponibles pour la France. Les échinococcoses kystiques sont endémiques en Europe du Sud et centrale ; en France la plupart des cas sont importés et concernent des populations immigrées venant des pays de fortes endémie (Maghreb).
- *Echinococcus multilocularis* est un ténia du renard qui se contamine en mangeant les larves contenues dans un rongeur, lui-même contaminé par les œufs présents dans les selles du renard. L'homme peut parfois être infesté comme le rongeur : les œufs donnent des larves hépatiques provoquant la formation de granulomes hépatiques inflammatoires mortels. C'est l'échinococcose alvéolaire. Les aliments en cause sont souvent des fruits sauvages. Les données de la part alimentaire des échinococcoses ne sont pas disponibles.
- La grande douve (*Fasciola hepatica*) est transmise par des larves enkystées sur le cresson. Ces larves se transforment chez l'homme en vers plats qui vivent dans les voies biliaires. Les œufs sont émis dans les selles et contaminent un gastéropode aquatique qui émettra des larves se fixant sur le cresson. Cette parasitose est particulièrement grave chez le mouton. Chez l'homme, l'atteinte se traduit par l'installation d'une hépatite progressive pouvant conduire à la cirrhose.

#### 2.4.5. Infections (ou infestations) parasitaires liées à des protozoaires d'origine alimentaire

Les protozoaires sont ici considérés comme des eucaryotes unicellulaires en excluant les levures. Ne seront envisagés ici que les plus fréquents en Europe.

- Le toxoplasme (*Toxoplasma gondii*) forme, chez les individus parasités (mammifères, oiseaux, invertébrés...), des kystes localisés dans les muscles. Consommés par un prédateur, ces kystes redonnent des toxoplasmes qui s'enkysteront de nouveau. Chez le chat, le toxoplasme peut subir un cycle sexué intra-intestinal donnant des oocystes qui, libérés dans les matières fécales, peuvent contaminer d'autres animaux, en particulier herbivores. Un individu peut donc être infesté soit par des oocystes provenant des selles de chat infecté, soit par la consommation de viande mal cuite contenant des kystes. La congélation ne tue pas les kystes.

La toxoplasmose humaine est redoutée :

chez la femme enceinte (risque d'avortement ou de malformations, risque de toxoplasmose néonatale chez l'enfant pouvant être mortelle ou le rendre aveugle ou « crétin ») ;  
et chez l'immunodéprimé qui peut développer une toxoplasmose cérébrale mortelle.  
La séroprévalence est, en France, de 54 %, et l'incidence par grossesse de 7 grossesses sur 1 000.

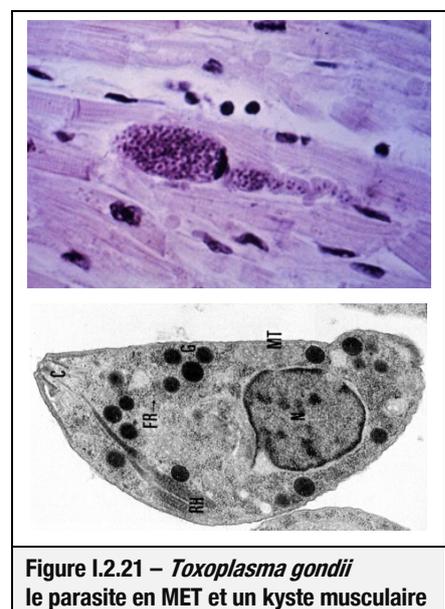


Figure I.2.21 – *Toxoplasma gondii* le parasite en MET et un kyste musculaire