LABORATOIRE DÉPARTEMENTAL D' ANALYSES

1 – Présentation

Les analyses consistent à vérifier la conformité des produits alimentaires selon des critères bactériologiques et physico-chimiques et à détecter la présence de substances indésirables pouvant représenter un danger pour la santé humaine.

2 - Prélèvement demande d'analyses

Par l'Etat (Direction Départementale de la Cohésion Sociale et de la Protection des Populations, et hygiène alimentaire), dans le cadre de l'Inspection des Denrées Animales et d'Origine Animale (I.D.A.OA.).

Par les industriels et artisans du secteur agro-alimentaire, les établissements de restauration collective, dans le cadre des auto-contrôles de leurs produits.

Les produits concernés sont, de façon non exhaustive:

les viandes,
les produits carnés (exemples : charcuteries, plats cuisinés, conserves),
les pâtisseries,
les produits végétaux,
les produits laitiers.

3 - Principe des techniques utilisées

Le principe est de déterminer pour chaque type d'aliment un groupe de bactéries à dénombrer ou à rechercher, en fonction des risques. Pour chaque bactérie de ce groupe, on détermine un critère d'acceptation quantitatif ou qualitatif. Ensuite on applique ces critères pour interpréter les résultats et définir si la qualité du produit est satisfaisante ou non.
Les critères qualitatifs sont de la forme : absence ou présence de la bactérie dans le produit.
Les critères quantitatifs sont définis sous forme d'une valeur .

Analyses Bactériologiques

Méthodes employées :
Depuis le prélèvement jusqu'au traitement de l'échantillon, il faut tout mettre en œuvre pour stabiliser qualitativement et quantitativement la flore présente au moment du prélèvement. Les conditions idéales pour tendre vers cet objectif sont d'avoir un transport rapide avec température adaptée et un contenant stérile.

Préparation de l'échantillon :
Les analyses s'effectuent toujours sur des suspensions. Pour les aliments solides, une fraction représentative de l'échantillon est prélevée, pesée, broyée et diluée dans un diluant stérile permettant d'obtenir une solution mère . Le diluant utilisé assure la survie de tous les micro-organismes.
Pour réaliser une analyse quantitative, on réalise ensuite des dilutions décimales successives de la solution mère dans le diluant.

Méthodes de dénombrement direct par numération de colonies isolées après ensemencement sur (ou dans) un support nutritif solide : Dans ce type de méthode, les bactéries présentes dans l'échantillon donnent naissance, dans des conditions déterminées (temps, température, composition du milieu), à des colonies isolées les unes des autres qui, de ce fait, peuvent être comptées.

Microflores à incidence technologique
La microflore aérobie totale : c'est l'ensemble des microorganismes aptes à se multiplier en présence d'air aux températures moyennes (25 à 40 °C). Sur le plan technologique, une flore mésophile nombreuse indique que le processus d'altération par les microorganismes est fortement engagé. Les critères d'appréciation sont différents en fonction du type de produit analysé.

- Dénombrement des microorganismes aérobies 30°C
- Dénombrement de la flore lactique
– Dénombrement des levures et des moisissures

Microflores à incidence sanitaire
Les indices de contamination fécale : La présence, dans un aliment, de microorganismes vivant normalement dans l'intestin de l'homme et des animaux, peut traduire une contamination fécale et, corrélativement, un risque de présence de germes pathogènes. Ces microorganismes sont : Coliformes, *Escherichia coli,* Entérobactéries, Streptocoques fécaux, Bactéries anaérobies sulfito-réductrices. Les critères d'appréciation varient selon le type de produits analysés.

Le groupe de coliformes est constitué de bactéries que l'on trouve dans l'intestin mais aussi dans d'autres environnements, leur multiplication dans certains endroits pollués fait de ces lieux des sources de contamination. Les coliformes thermotolérants présentent l'aptitude à se multiplier à 44°C.

- Dénombrement des coliformes 30°C
- Dénombrement des coliformes thermotolérants

Escherichia coli **(E.coli)** est une bactéries très spécifique de la contamination fécale car elle est présente en très grande quantité dans le contenu intestinal, mais l'E.coli est souvent moins résistante que certaines bactéries pathogènes.

- Dénombrement de l'Escherichia coli beta glucuronidase positive

Parfois, il est nécessaire de dénombrer l'ensemble des entérobactéries (qui ont pour habitat l'intestin) quand l'équilibre entre les différentes flores de l'aliment a été perturbé par le procédé mis en oeuvre pour la transformer.

- Dénombrement des Entérobactéries

Le genre *Salmonella* : les *Salmonella* sont présentes chez toutes les espèces animales domestiques ou sauvages, qui constituent avec l'environnement leur véritable réservoir. Le rôle des porteurs sains dans la diffusion des *Salmonella* est déterminant. Les aliments servent de principaux vecteur vers l'homme, spécialement ceux d'origine animale. Dans la majorité des cas, les Toxi-Infections alimentaires communes (TIAC) font suite à des erreurs permettant une croissance bactérienne importante. Lors de TIAC due à la bactérie *Salmonella*, la symptomatologie est celle d'une gastro-entérite fébrile avec évolution favorable en général. Cependant, il peut y avoir des formes sévères et parfois mortelles chez les sujets fragiles.

La recherche comporte quatre étapes successives :
– le pré enrichissement,
– l'enrichissement en milieux sélectifs liquides,
– l'isolement sur milieux sélectifs solides,
– l'identification.

Quel que soit le produit, aucun germe de ce genre ne doit être détecté dans l'échantillon analysé.

- Recherche de Salmonelles
- Recherche de Salmonelles méthode rapide

Le genre *Clostridium perfringens* et les microorganismes anaérobies sulfito-réducteurs :
D'une façon générale, ces bactéries sont considérées comme témoins de contamination de la qualité hygiénique des aliments, elles ont la propriété de se transformer sous une forme résistante (spore) dans des conditions défavorables. Elles sont aussi un indicateur de l'efficacité d'un traitement thermique. Certaines souches (*Clostridium botulinum*) ont la propriété de produire une neurotoxine dangereuse pour l'homme.

L'incubation se fait en anaérobiose(absence d'air), les colonies se développent en présentant une coloration noire.

- Dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs
- Dénombrement de Clostridium perfringens

Les autres indices de contamination : La présence de ces microorganismes (Staphylocoques, *Listeria, Bacillus cereus*) dans un aliment, indique un défaut d'hygiène au niveau des matières premières ou pendant la préparation du produit.

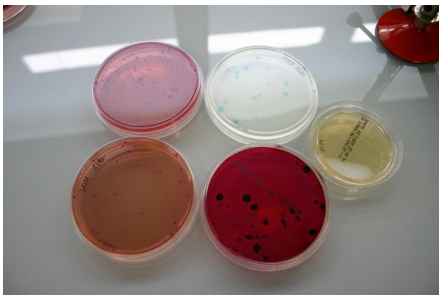
Bacillus cereus : cette bactérie peut provoquer des toxi-infections alimentaires avec des symptômes équivalents à ceux provoqués par les *Clostridium* ou par les staphylocoques. Comme les *Clostridium* ou les staphylocoques cette bactérie peut former des spores, elle peut produire une ou plusieurs toxines. Cette bactérie est une hôte normal du sol, si elle contamine un aliment, elle doit se multiplier abondamment pour être dangereuse, elle est souvent recherchée dans le cas des plats préparés à l'avance et conditionnés.
La recherche est effectuée sur milieu sélectif.

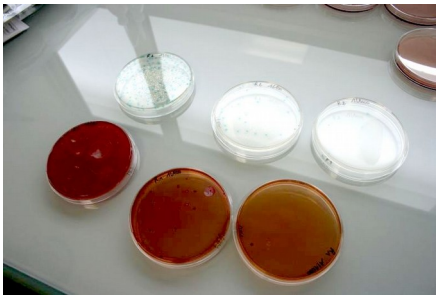
- Dénombrement des *Bacillus cereus*

Les staphylocoques à coagulase-positive : les staphylocoques sont des microorganismes saprophytes de l'homme et de l'animal (peau et muqueuses) dont certaines espèces sont responsables d'infections locales (abcès) ou générales (septicémies). La croissance des staphylocoques dans les aliments constitue un risque pour la santé publique parce que certaines souches appartenant principalement à l'espèce *Staphylococcus aureus* produisent des entérotoxines dont l'ingestion provoque une toxi-infection alimentaire se traduisant par des vomissements violents accompagnés de diarrhées.
La recherche est effectuée sur milieu sélectif. Les critères d'appréciation sont différents selon le type de produit analysé.

- Dénombrement des staphylocoques coagulase positive

Le genre *Listeria* : comprend sept espèces dont seule, la *Listeria monocytogenes* est pathogène pour l'homme. La listériose humaine atteint préférentiellement la femme enceinte chez qui elle peut provoquer l'interruption de la grossesse, le nouveau-né chez qui elle constitue une infection grave, fatale dans un tiers des cas, ainsi que l'adulte immuno-déprimé chez qui elle se traduit le plus fréquemment par des méningites, des encéphalites et septicémies.





Analyses combinées

Les analyses à effectuer et les critères microbiologiques à appliquer sont définis par le **règlement européen n°2073/2005 :**
"Les denrées alimentaires ne doivent pas contenir de microorganismes, ni leurs toxines ou métabolites dans des quantités qui présentent un risque inacceptable pour la santé humaine"

Ce règlement définit deux types de critères :

- critères de sécurité : relatifs à l'acceptabilité des denrées alimentaires, notamment en ce qui concerne la présence de certains microorganismes pathogènes.

- critères d'hygiène des procédés : relatifs à l'acceptabilité des denrées alimentaires et de leurs procédés de fabrication, de manutention et de distribution.

Le principe est de déterminer pour chaque type d'aliment un groupe de bactéries à dénombrer ou à rechercher, en fonction des risques. Pour chaque bactérie de ce groupe, on détermine un critère d'acceptation quantitatif ou qualitatif. Ensuite on applique ces critères pour interpréter les résultats et définir si la qualité du produit est satisfaisante ou non.
Les critères qualitatifs sont de la forme : absence de la bactérie dans le produit.

Les critères quantitatifs sont définis sous forme d'une valeur .
Interprétation : la qualité du produit est satisfaisante si toutes les valeurs sont inférieures à la limite pour les dénombrements et absence pour les recherches.
La qualité du produit est non satisfaisante si au moins une valeur est supérieure à la limite pour les dénombrements ou présence pour une recherche.

Les principales bactéries recherchées et dénombrées sont les suivantes :

- **Microorganisme aérobies 30°C**
- **Flore lactique**
- ***Escherichia coli***
- **Entérobactéries**
- ***Staphylococcus* à coagulasse positive**

- **Anaérobies sulfitoréducteurs** (voir photo ci-contre)
- ***Clostridium perfringens***
- ***Bacillus cereus***
- **Levures moisissures**
- **Salmonelles**
- ***Listeria monocytogenes***

Le délai de transmission du résultat est en moyenne de une à deux semaines.

Analyses diverses

Conserves :

Pour vérifier le procédé du conditionnement et de la stérilisation des conserves, 3 ou 5 spécimens d'un lot sont choisis, un spécimen sert de témoin, un ou deux autres sont mis à l'étuve à 37°C et le ou les derniers sont incubés à 55°C pendant 7 jours. A la fin de cette période on compare les caractéristiques physiques des boîtes ou des bocaux (bombage, fuitage et autres défauts éventuels), on vérifie l'odeur, la texture et les modifications d'aspect puis on mesure le pH.
Si on observe une dérive, on effectue un contrôle microscopique.

Contrôles de surfaces:

Lors de la préparation d'un produit alimentaire, le respect de l'hygiène est un facteur important et les différentes causes potentielles de contamination doivent être maîtrisées. On effectue des contrôles de la qualité microbiologique des surfaces entrant en contact avec les aliments (plans de travail, planches à découper, couteaux, hachoirs…).

- **Contrôle microbiologique des surfaces sur boîte contact (flore totale)**
- **Contrôles microbiologiques des surfaces par écouvillons (flore totale)**