



Article présenté par le département
R&D de CerealVeneta.

L'engagement pour la recherche scientifique et technologique vise à une amélioration constante des processus, des produits et des solutions proposées.

LA CHARGE MICROBIOLOGIQUE:

COMMENT LA GÉRER AVEC DES
TRAITEMENTS THERMIQUES VALIDÉS
PAR DES ANALYSES DE LABORATOIRE



Préface

Aucun aliment dans la nature n'est stérile, c'est la raison pour laquelle il se dégrade après un certain temps. En effet, il se détériore et plus il est riche en eau, en nutriments et en micro-organismes et plus cela se produit rapidement. En agissant sur les protéines, les graisses, les sucres et d'autres substances se trouvant dans les aliments, les micro-organismes en modifient les caractéristiques, l'aspect et la saveur, en provoquant une détérioration de la qualité. Au cours des différentes phases du traitement, l'aliment se confronte, là aussi, aux contaminations avec les bactéries, certaines desquelles peuvent être pathogènes. Il suffit d'avoir seulement quelques bactéries pathogènes dans un aliment pour provoquer lesdites maladies à transmission alimentaire (MTA), par exemple le typhus en présence de *Salmonella Typhi* dans un œuf apparemment sain, tandis que la croissance de grandes quantités de bactéries non pathogènes (charge bactérienne totale, mésophile) gâte le produit de manière irréversible par une dégradation des nutriments et l'introduction d'endotoxines.



Sécurité alimentaire et santé des consommateurs

POUR la sécurité alimentaire et la protection de la santé des consommateurs, la réglementation mentionne deux principales catégories de micro-organismes : pathogènes et d'altération.

Les premiers, qui peuvent avoir des conséquences sur la santé, sont strictement réglementés afin de savoir exactement si un aliment est bon ou pas (la shigellose, la campylobactériose, la salmonellose, le botulisme, la listériose...). L'infection est généralement transmise par des animaux comme les veaux, les poules et les porcs malades, à l'homme qui consomme des œufs, du lait et des viandes « apparemment sains » et la présence bactérienne n'est détectable qu'au moyen d'analyses microbiologiques de laboratoire. Les traitements thermiques et les conditions de conservation à des températures de réfrigération ou de surgélation, réduisent le risque biologique lors de l'absorption de ces aliments.

Chaque produit destiné à l'alimentation humaine doit donc se plier à des règles strictes. L'observance des réglementations imposées n'admet aucune dérogation pour les acteurs économiques du secteur alimentaire.

Une autre approche en revanche concerne les micro-organismes non pathogènes dont aucune limite n'est définie par la loi et qui n'ont parfois aucune fourchette maximale à respecter puisqu'ils ne présentent aucun risque pour la santé humaine. Néanmoins, les micro-organismes non pathogènes présentent un risque d'altération de l'aliment, ce qui peut avoir une influence sur l'acceptabilité du consommateur. L'action des micro-organismes d'altération détermine, selon les caractéristiques intrinsèques du produit et de l'entité de la charge microbienne, une détérioration prématurée de la qualité, ne permettant pas de respecter la durée de conservation déclarée. L'exemple le plus connu est celui du lait qui a « tourné ». Ici, il n'y a aucune présence de germes pathogènes mais une mésophile « normale » rendant inacceptable le produit.

Donc, chaque aliment est doté d'une charge microbienne initiale et les céréales ne sont pas une exception. Bien qu'elles présentent de manière naturelle une faible humidité (10-15%) et une activité de l'eau ($0,5-0,7 a_w$), elles sont toutefois susceptibles de changer à cause des micro-organismes.



L'abattement de la charge bactérienne dans les céréales, les légumineuses et les graines oléagineuses

LE

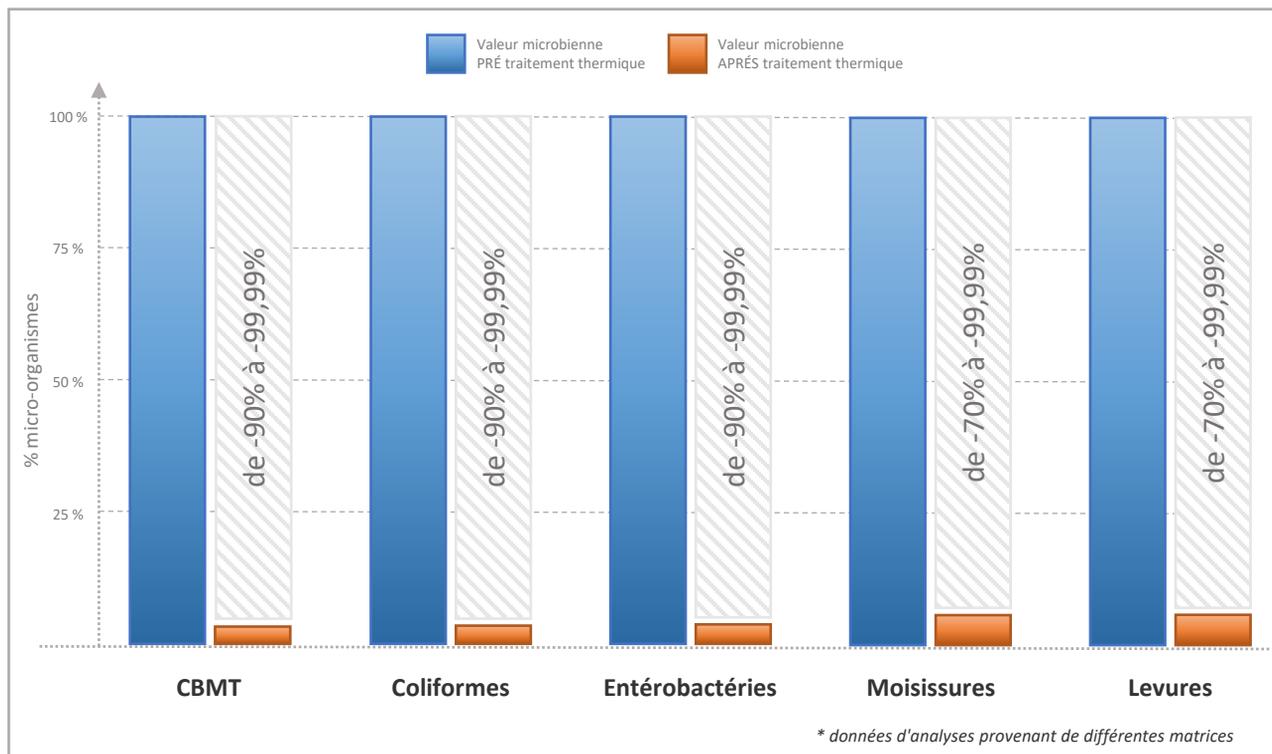
thème de la charge bactérienne est l'un des éléments les plus problématiques pour le traitement des céréales, des légumineuses et des graines oléagineuses, surtout lorsqu'elles sont complètes.

Une charge bactérienne élevée de la matière première et du produit semi-fini se répercute par une diminution de la qualité ou sur l'appétibilité du produit final ou encore en présentant une réduction de la durée de conservation, pour la génération du défaut d'arôme, des phénomènes oxydants, une prolifération bactérienne et fongique.

Dans le secteur céréalier, nous travaillons donc avec des processus de traitement thermique pour désactiver la charge bactérienne naturellement présente dans les matières premières. Les processus les plus avancés ont un effet bactéricide en désactivant la charge enzymatique. En réduisant l'activité de l'eau (jusqu'à 0,3 a_w) et de l'humidité (jusqu'à 6%), nous créons un environnement qui n'est pas favorable à la multiplication microbienne, en améliorant ainsi la stabilité du produit dans le temps. Si chaque phase de traitement est correctement suivie, les traitements thermiques qui accomplissent le mieux l'application de la chaleur et ensuite optimisent la vitesse de refroidissement successive, permettent également l'élimination d'une utilisation d'additifs chimiques de conservation.

La durée et les températures des traitements thermiques doivent être analysés, testés et surveillés de manière spécifique produit par produit. Si l'on prend en considération la charge microbienne initiale se trouvant dans les graines, on peut ajuster l'intensité du traitement en fixant d'excellents résultats de réduction microbienne. La charge bactérienne finale se trouvant dans le produit semi-fini change donc en fonction de l'intensité du traitement mais elle dépend également de la charge initiale se trouvant dans la matière première.

En modulant le temps et la température, on peut avoir un abattement microbiologique de 2 à 6 logarithmes, en gardant un aspect visuel intact de la graine (voir le graphique).



Les matières premières ainsi traitées sont stables d'un point de vue microbiologique et enzymatique. La durée et les températures des traitements thermiques sont spécifiques d'un produit à l'autre car certaines graines sont très résistantes à la chaleur, d'autres foncent rapidement. Néanmoins, les températures très élevées sont toujours déconseillées pour éviter la formation d'acrylamide et d'autres composants toxiques dégradants.

Il est par conséquent très important pour les industries de transformation de pouvoir utiliser des matières premières et des produits semi-finis possédant une charge bactérienne très faible. Avec des ingrédients de qualité, nous obtenons un impact positif sur le produit final destiné au consommateur. La perception de la qualité de la marque sur le marché est plus importante et, facteur essentiel, on diminue les procédures de retour sur des produits présentés en rayon.

Le laboratoire de microbiologie

LE laboratoire de microbiologie est sollicité pour le contrôle et la validation des processus industriels d'abatement de la charge bactérienne. Son importance est absolue. Il détermine la présence ou l'absence d'éventuels espèces pathogènes, l'entité des entérobactéries et la mésophile dans la matière première puis dans le produit semi-fini. D'un point de vue sanitaire, aucun germe pathogène n'est acceptable dans les aliments.



Dans le même temps, la plus grande attention est prêtée à la famille des entérobactéries, car leur habitat naturel dans l'intestin de l'homme et de plusieurs animaux indique une contamination fécale.

Malheureusement, le terrain sélectif officiel de détermination des entérobactéries, utilisé par les laboratoires agréés, n'ont pas une action sélective à 100%. De nombreuses autres espèces bactériennes peuvent donc se développer sans qu'elles puissent être identifiées lors du test de fermentation successif du glucose et négatives à l'oxydase. Il ne s'agit donc pas d'une « erreur » pouvant être attribuée aux différents laboratoires due à une négligence ou à une faute mais d'une limite intrinsèque de l'analyse, bien que la méthode soit internationalement acceptée.

Le thème en pleine évolution de la reclassification des entérobactéries

LE développement impérieux de la recherche moléculaire, donc génétique, amène de grands changements dans la classification des bactéries, qui au départ n'est effectuée qu'en suivant le critère de la forme, la couleur, la présence de certains antigènes et de quelques activités métaboliques comme par exemple la croissance sur un terrain avec de la bile. Prenons l'exemple de la *Listeria*, presque la moitié de la *Listeria spp.* est en cours de changement de famille et, en restant dans les entérobactéries, la *Pantoea agglomerans*, une entérobactérie commune, est aujourd'hui classé dans la famille des *erwiniaceae* (source : NCBI, UniProt). Cela met en évidence les rechutes importantes dans la pratique quotidienne.

En revanche, pour d'autres modifications taxonomiques, comme le passage de l'*Escherichia hermannii* vers l'*Atlantibacter hermannii*, la modification du nom et du genre n'a pas comporté de changement de famille, donc les conséquences pratiques sont quasiment inexistantes. A présent, pour déterminer l'espèce bactérienne qui grandit sur le terrain des entérobactéries, c'est-à-dire pour comprendre s'il s'agit effectivement d'une entérobactérie, il faut effectuer un test de confirmation appelé PCR ou MALDI-ToF.



PCR | MALDI-ToF

LA détermination précise de l'espèce bactérienne impliquée (en cas de doute à ce sujet), s'effectue au moyen d'un PCR ou d'un MALDI-ToF, sur une ou plusieurs colonies s'étant développées sur la plaque avec un terrain sélectif.

Le **PCR** se base sur l'amplification d'un fragment d'ADN spécifique pour une espèce bactérienne donnée (*Polymerase Chain Reaction*).

Il s'agit là de la meilleure technique, mais elle est onéreuse et relativement longue.

Le **MALDI-ToF** (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation - Time of Flight mass spectrometry*) est une technique de spectrométrie de masse, plus économique et rapide, avec la même précision que le PCR, bien que légèrement inférieure.

Dans ce domaine, la recherche scientifique sur la taxonomie microbiologique peut jouer de mauvais tours car la plupart des banques de données microbiologiques pour le PCR et le MALDI-ToF ne sont pas à jour. L'espèce bactérienne identifiée peut donc être associée à une famille qui n'est pas la bonne. A vrai dire, cela se produit assez fréquemment. Il faut donc que le département R&D de l'entreprise demandant ces analyses de référence, estime personnellement auprès des banques de données mondiales les mieux agréées, la position taxonomique effective de la bactérie identifiée par le laboratoire. Les sites officiels de **NBCI** et **UniProt** peuvent simplifier cette recherche.



Conclusions

S' il est vrai que la contamination microbiologique des céréales et des légumineuses pose moins de problèmes que celle du lait ou du poisson, elle présente néanmoins des aspects assez particuliers car la matière première peut provenir notamment d'autres continents et chacun d'eux possède de nombreuses caractéristiques microbiologiques naturelles, ou de contamination humaines, autres que le terrain agricole. Un simple changement d'origine de la matière première suffit donc, même en restant dans le même pays, pour retrouver des espèces bactériennes extrêmement différentes, certaines d'entre elles pouvant interférer lors de la détermination en laboratoire. Sans oublier que, dans certains pays très étendus et où l'attention pour l'environnement est limitée, le contrôle du terrain peut présenter des aspects préoccupants.

Pour prendre conscience de l'extension du problème taxonomique et de la difficulté d'analyse, il suffit de penser qu'un homme sain présente plusieurs milliers d'espèces bactériennes à l'intérieur de son propre corps et on estime que dans le monde il existe environ 1000 milliards d'espèces bactériennes! En revanche on compte une quarantaine d'espèces bactériennes pathogènes chez l'homme.

Les demandes de produits semi-finis, présentant des charges bactériennes ne dépassant pas certaines limites, doivent se tourner vers des processus industriels qui, au moyen de technologies spécifiques et modulées par matrice alimentaire, ont pour but d'abattre la CBMT et les entérobactéries, en mettant en place des procédures de contrôle qui prennent en compte l'évaluation et la validation des résultats d'analyses de laboratoire : une analyse non conforme pour les entérobactéries, après avoir effectué des enquêtes par **PCR** ou **MALDI-ToF**, peut se révéler fautive et positive.

Pour les industries surveillant l'abattement de la charge bactérienne, les meilleurs résultats peuvent donc être obtenus en effectuant correctement des traitements thermiques validés par des analyses de laboratoire.