



Alimentation, sécurité et contrôles microbiologiques

coordination Alain Branger, Marie-Madeleine Richer, Sébastien Roustel

Educagri, Dijon

ISBN: 978-2-84444-616-9

Table des Matières

Alimentation, sécurité et contrôles microbiologiques

Alain Branger

Marie-Madeleine Richer

Sébastien Roustel

Introduction	7
Préambule	9
Partie1: Les contrôles: cadres et organisation	13
Chapitre1: Les objets microbiens	15
1.Les micro-organismes dans le monde vivant	15
1.1.Principes généraux	15
2.Les virus	19
2.1.Le cycle viral	20
2.2.Éléments de classification des virus	21
3.Les bactéries	23
3.1.Les critères de classification	23
3.1.1.Les critères phénotypiques	23
3.1.2.Les critères génétiques	25
3.2.Quelles classifications utiliser en bactériologie?	26
3.2.1.Adaptation de la classification à l'identification	26
3.2.2.Adaptations aux industries alimentaires	28
4.Les champignons ou Mycètes	29
4.1.Un règne très particulier	29
4.1.1.Qu'appelle-t-on champignon?	29
4.1.2.La reproduction chez les champignons	30
4.1.3.Importance dans les bio-industries	34
4.2.Classification des champignons	37
4.3.Culture et identification des micromycètes	38
4.3.1.Méthodes de culture	38
4.3.2.Identification des micromycètes	39
4.3.3.L'application aux contrôles des ferments fongiques	43
Chapitre2: L'analyse au laboratoire	45
1.L'analyse, étapes et problèmes	45
1.1.Observation de deux analyses au laboratoire	45
1.2.Analyse des différentes étapes	45
1.2.1.Choix de la technique à utiliser	45

1.2.2.Préparation des réactifs et du matériel	46
1.2.3.Échantillonnage	47
1.2.4.Préparation des individus à analyser	48
1.2.5.Réalisation de la manipulation et lecture	50
1.2.6.Présentation des résultats	50
1.2.7.Conditions de travail	50
2.Les lieux d'analyse: les laboratoires	50
2.1. Les laboratoires extérieurs	51
2.2. Qu'est-ce que l'accréditation?	52
2.3. Conception des laboratoires	55
2.3.1. Démarche générale	55
2.3.2. Exemple d'étude pour un laboratoire d'entreprise	55
3.La métrologie: une nécessité	57
3.1. Le vocabulaire de la métrologie	57
3.2. La fonction métrologique	59
3.3. Inventaire des équipements	60
3.4. Besoins métrologiques	60
3.5. Opérations métrologiques	61
3.6. Sous-traitance métrologique	61
3.7. Suivi des équipements	63
Chapitre3: Pour une analyse de qualité	65
1.Qu'est-ce qu'une méthode ou une technique?	65
2.Évaluation des méthodes d'analyse	67
2.1. Critères pratiques	67
2.2. Critères économiques	67
2.3. Le principe	67
2.4. Critères analytiques	68
3.Les incertitudes attachées aux résultats	69
3.1. Expression générale de l'incertitude	69
3.2. Estimation de l'incertitude d'un système d'analyse	70
3.3. Analyse en double	72
3.4. Évaluation analytique d'une méthode	72
3.4.1. Estimation de la fidélité	73
3.4.2. Estimation de la justesse	73
3.5. Cas particuliers des dénombrements en microbiologie	75
3.5.1. Imprécision des méthodes de numération en milieu liquide	75
3.5.2. Imprécision de la numération sur boîtes de Petri	75
3.6. Les essais interlaboratoires	75
Partie2: Contrôler pour évaluer la qualité	79
Chapitre4: L'analyse en microbiologie	81
1.Les méthodes microscopiques	82
1.1. Observations qualitatives	83

1.2.Quantification par comptage visuel	84
1.2.1.Utilisation de lames de comptage	84
1.2.2.Utilisation de la lame de Breed	85
1.2.3.La technique DEFT	86
1.3.Quantifications par comptages automatisés	87
1.3.1.Le COBRA	87
1.3.2.La cytométrie en flux	88
2.Méthodes de recherche de traces d'activité ou de présence microbienne	90
2.1.Présentation générale	90
2.2.Détections de métabolites	92
2.2.1.Généralités	92
2.2.2.Analyses d'une méthode: le dosage de l'ATP	92
2.3.Mesure ou dosage des modifications chimiques, physico-chimiques ou physiques du milieu sous l'effet du développement microbien	95
2.3.1.Généralités	95
2.3.2.Exemples	95
2.4.Détection des molécules de structure	96
2.4.1.Utilisation de la spectroscopie infrarouge (IRTF)	97
2.4.2.Techniques immunologiques	97
3.Les méthodes de culture	99
3.1.Les milieux de culture	100
3.1.1.Les types de milieux	100
3.1.2.Utilisation des milieux de culture	101
3.2.Techniques de dénombrement	102
3.2.1.Exemples de milieux différentiels d'isolement	104
Chapitre5: Les apports de la biologie moléculaire	107
1.L'hybridation moléculaire	108
1.1.Présentation générale	108
1.2.Caractéristiques physico-chimiques de l'hybridation	108
1.2.1.Facteurs influençant la Tm	108
1.2.2.Facteurs influençant l'hybridation	109
1.2.3.La spécificité des amorces et des sondes moléculaires	109
1.3.Les acteurs d'une hybridation	110
1.3.1.Séquences nucléotidiques cibles	110
1.3.2.Les sondes	110
1.3.3.Les amorces	111
1.4.Les différents types d'hybridation	111
1.4.1.L'hybridation sur support	112
1.4.2.L'hybridation <i>in situ</i>	115
2.Les techniques d'amplification	116
2.1.La PCR conventionnelle	116
2.1.1.Principe de la PCR (<i>polymerase chain reaction</i>)	116

2.1.2.Spécificité de la PCR	117
2.1.3.Les principaux composants de la réaction	118
2.1.4.Limites et problèmes de la technique PCR	119
2.1.5.Utilisation de la PCR conventionnelle pour l'identification ou le typage	121
2.2.Autres types de PCR	121
2.2.1.La PCR-RFLP	121
2.2.2.La PCR-ELISA	121
2.2.3.La PCR quantitative en temps réel (QRT-PCR)	122
3.Les techniques de séparation	125
3.1.Les techniques électrophorétiques	125
3.2.La chromatographie	127
Chapitre6: Méthodes et techniques en analyse sensorielle	129
1.L'analyse sensorielle en agroalimentaire	129
1.1.Définition de l'analyse sensorielle	129
1.2.Intérêts de l'analyse sensorielle dans l'agroalimentaire	129
2.Les bonnes pratiques de l'analyse sensorielle	130
2.1.Définition de la problématique	130
2.2.Le jury	130
2.3.L'analyste sensoriel	131
2.4.Le lieu d'interrogation des dégustateurs	131
2.5.Les produits étudiés	131
2.6.Méthodologie du choix du test sensoriel	133
2.7.Le questionnaire	133
2.8.Le traitement des données	134
3.Premier cas concret d'épreuve analytique: le test triangulaire	134
4.Deuxième cas concret d'épreuve analytique: le test de classement analytique	137
Partie3: Les bases de la sécurité alimentaire	143
Chapitre7: La sécurité sanitaire des aliments	145
1.Définitions et cadre réglementaire	145
1.1.Le paquet hygiène	146
1.2.Le plan de maîtrise sanitaire	146
1.3.La traçabilité, un outil de gestion de la crise	148
1.3.1.Concept	148
1.3.2.Historique	149
1.3.3.Réglementation	149
1.3.4.Vocabulaire	149
1.3.5.Mise en place en entreprise	150
2.Étude de cas	153
2.1.Contexte	153
2.1.1.L'entreprise	153
2.1.2.Le diagramme de fabrication	153

2.2.Analyse des dangers	154
3.Description des différents dangers	157
3.1.Le danger microbiologique	157
3.2.Le danger allergène	160
3.2.1.L'intolérance alimentaire	160
3.2.2.Allergies alimentaires	161
3.3.Le danger chimique	168
3.4.Le danger physique	168
4.Gestion de la crise et responsabilités	171
4.1.Alerte et évaluation de la situation	171
4.2.Gestion proprement dite de la situation d'alerte	171
4.3.Sortie de la situation d'alerte	172
5.Conclusion	173
Chapitre8: Une voie biologique de prévention: les vaccins	175
1.Qu'est-ce qu'un vaccin?	175
2.Les différents types de vaccins et leur fabrication	177
2.1.Vaccins classiques	179
2.1.1.Les vaccins vivants bactériens et viraux	179
2.1.2.Les vaccins inactivés bactériens ou viraux (appelés aussi vaccins tués)	180
2.1.3.Les vaccins inactivés détoxifiés (toxines détoxifiées)	181
2.2.Les nouveaux vaccins	181
2.2.1.Vaccins sous-unitaires obtenus par purification directe de sous-unités virales	181
2.2.2.Les produits d'ADN recombinants ou fractions antigéniques élaborées à l'aide du génie génétique	184
2.3.Critères de qualité et composition des vaccins	187
2.3.1.Caractères recherchés	187
2.3.2.Les adjuvants	188
2.4.Les vaccins de demain et du futur	189
2.4.1.L'avenir proche	190
2.4.2.La vaccination par l'ADN	190
2.4.3.Des vaccins préventifs aux vaccins thérapeutiques	191
2.4.4.Espoirs et prudence	191
Bibliographie	193
Index	197
Table des matières	201
Crédits photographiques	205