

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE-ALGER

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة - الجزائر

**MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTERE EN SCIENCES
VETERINAIRES**

OPTION : CONTROLE QUALITE ET ANALYSES ALIMENTAIRES

Thème

**Contribution à l'étude quantitative et qualitative de
l'aérobiocontamination de l'ambiance d'unités
agroalimentaires de la Wilaya d'Alger**

Présenté par : Dr BENDEDDOUCHE Esma.

Le jury :

Président :	Dr KHELEF D	(Maitre de Conférences A, ENSV)
Promoteur :	Dr BENDEDDOUCHE B	(Maitre de Conférences A, ENSV)
Examineurs :	Dr HAMDY T-M	(Maitre de Conférences A, ENSV)
	Dr HARHOURA K	(Maitre Assistant A, ENSV)
	Dr LEBRES H A	(Maitre de Recherche, IPA)

Année universitaire : 2010/2011

Résumé

L'étude de la contamination aérienne bactérienne et fongique ainsi que celle des surfaces de 07 unités agroalimentaires de la Wilaya d'Alger a révélé que sur les 27 sites analysés la contamination bactérienne de l'air varie selon les différents sites entre une moyenne de 34,67 UFC/m³ et 197,5 UFC/m³ alors que la contamination fongique varie de 31,75 UFC /m³ et 97 UFC/m³, ces valeurs dépassent de loin les prescriptions de l'ASPEC constituant ainsi un niveau d'alerte pour la contamination bactérienne et fongique.

Concernant la contamination des surfaces, les résultats de l'ATPmétrie ont montré des écarts variant de 337333,33 URL à 5732,4 URL classant ainsi les surfaces analysés en « sales » dépassant le seuil de 500 URL conformément aux recommandations du fabricant de l'appareil.

Par ailleurs une étude comparative du niveau de contamination des unités montre que l'unité laiterie n°2 présente les niveaux les plus bas alors la laiterie n°1 le niveau le plus élevé de contamination.

L'étude a montré l'intérêt d'utilisation de l'aérobiocollecteur en routine permettant l'interprétation des résultats avec les critères fixés.

Mots clés : contamination, air, bactérienne, fongique, agroalimentaire

Abstract

The study of bacterial and fungal contamination of air and surfaces of the 7 units of food in the Wilaya of Algiers showed that the 27 sites analyzed the bacterial contamination of the air varies between different sites an average of 34, 67 and 197.5 CFU/m³ CFU/m³ while fungal contamination ranges of 31.75 CFU / m³ and 97 CFU/m³, these values far exceed the requirements of ASPEC thus constituting a threat level for bacterial contamination and level of action to that of yeast and fungi.

According to the contamination of surfaces, the results of the ATPmetry showed differences ranging from 337333.33 URL to 5732, 4 URL ranks and the surfaces analyzed in "dirty" exceeding the 500 URLs recommendations accordance with the manufacturer of the device. In addition, a comparative study of the contamination level of the units shows that the dairy unit n°2 presents the lowest levels while the dairy unit n°1 on the highest level of contamination.

The study showed the benefits of using the aerobiocollector routine to interpret the results with the fixed criteria.

Keys words: contamination, airborne, bacterial, fungal, food industry.

ملخص

أظهرت دراسة التلوث الجرثومي و الفطري للهواء و الأسطح ل07 وحدات غذائية لولاية الجزائر من 27 موقع مختلف أن النتائج تتراوح بين 34,67 و $197,5 \text{ m}^3/\text{UFC}$ و التحليل الفطري تتراوح بين 31,75 و $97 \text{ m}^3/\text{UFC}$ هذه القيم تتجاوز مما يشكل تهديدا لمستوى التلوث الجرثومي و مستوى بكثير احتياجات ASPEC العمل للفطريات.

أما في ATPmetry أظهرت اختلافات تتراوح بين 333,3 URL و 5732,4 URL مما تساوي أسطح قدرة 500 URL ما يخص تلوث الأسطح نتائج على النحو الموصي به من قبل الشركة المصنعة للجهاز. تتجاوز

بل الاضافة إلى ذلك دراسة مقارنة مستوى التلوث بين الوحدات يدل على أن وحدة laiterie n°2 تمثل أدنى مستوى التلوث حينما وحدة laiterie n°1 تمثل أعلى مستوى التلوث. أظهرت هذه الدراسة فوائد استخدام aerobiocollector الروتينية لتفسير النتائج وفق المعايير.

: تلوث الهواء-البكتيرية-الفطرية-وحدات غذائية كلمات المفتاح

SOMMAIRE

INTRODUCTION..... Erreur ! Signet non défini.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I- Les contaminants de l'air en industrie agroalimentaire..... 2

A- Les sources de contamination des aliments 2

1- Flore issue des animaux et des végétaux 2

2- Contamination par les manipulateurs 3

3- Contaminants industriels 5

4- Contaminants par l'environnement 5

B- L'air comme source de contamination en industrie agroalimentaire 6

1- Les bioaérosols 7

1-1- Le transport aérien des bioaérosols 8

1-2- La viabilité des bioaérosols 9

2- La flore spécifique des bâtiments 9

3- La microbiologie de l'air 11

3-1- La flore aérobie mésophile totale 12

3-1-1- Valeurs indicatives de l'effectif de la flore mésophile totale 12

3-2- Les levures 13

3-2-1- Caractéristiques générales..... 13

3-2-1-1- Classification 13

3-2-1-2- Caractéristiques physiologiques 15

3-2-1-3- Caractéristiques écologiques et conséquences de leurs développements 16

3-3- Les moisissures..... 17

C- Conséquences de la contamination microbienne..... 18

1- Odeur et saveur 19

2- Aspect et couleur 19

3- Texture 19

4- Valeur nutritionnelle et sanitaire 20

CHAPITRE II- La maîtrise de l'aérobiocontamination..... 21

A- Démarche du type HACCP 21

B- Buts et enjeux de la maîtrise d'ambiance en Industrie Agroalimentaire..... 23

C- Objectifs 24

D- Gestion de l'aérobiocontamination..... 27

1- Gestion des flux 27

2- Maîtrise de l'air 29

3- Normes de classement des locaux 32

3-1- La propreté particulière	32
3-2- La propreté bactériologique	33
CHAPITRE III- Le contrôle de l'aérobiocontamination	36
A- Echantillonnage et analyse des aérosols microbiens	36
1- Le prélèvement des bioaérosols	37
1-1- Evaluation de la contamination aéroportée	37
2- Transport des échantillons	41
3- Analyse des échantillons	42
B- L'évaluation de la contamination des surfaces	43
1- Les méthodes directes	43
2- Les méthodes indirectes	44
3- Autre méthode : Bioluminescence ou ATPmétrie	45
CHAPITRE VI- Méthodes de traitement de l'air	46
1- Définitions et généralités	46
2- Filtration de l'air	Erreur ! Signet non défini.7
3- Utilisation de gaz	48
4- Utilisation de dispersats	49
5- Désinfection par voie aérienne	50
V- CONCLUSION	51
PARTIE EXPERIMENTALE	
I- OBJECTIFS	52
II- MATERIELS ET METHODES	53
1- Echantillonnage	53
2- Logigramme	54
3- Matériels	55
3- Méthodes	55
3-1- Prélèvements d'air	55
3-2- Prélèvements de surface	58
3-3- Relevés de température et d'hygrométrie	59
III- RESULTATS	60
1- Les résultats par unité	60
2- Les résultats de la contamination globale	7Erreur ! Signet non défini.
IV- DISCUSSION	77
CONCLUSION GENERALE	83
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Les diverses flores commensales de l'homme.....	4
Tableau 2: Classification simplifiée des levures	14
Tableau 3: Principales levures d'altération dans les produits alimentaires	16
Tableau 4: Les sept principes et douze étapes fonctionnelles de l'HACCP	22
Tableau 5: Danger microbiologique par type de denrée : risque comparé d'altération et de pathogénicité	24
Tableau 6: Facteurs de production influençant les contraintes d'ambiance.....	25
Tableau 7: Charge bactérienne dans les diverses unités de transformation alimentaires qui fonctionnent avec la présence d'eau dans le système	28
Tableau 8: Prescriptions réglementaires en matière de températures des locaux et des denrées alimentaires et d'origine animale	31
Tableau 9: Contrôle d'air : correspondance des contrôles particuliers entre l'US Fédéral Standard 209 et la norme ISO CD 14644-1	32
Tableau 10: Valeurs limites recommandées de contamination microbiologique.....	33
Tableau 11: Classes de propreté bactériologique définies dans la norme <i>NF S 90 351</i>...	34
Tableau 12: Principales techniques d'évaluation de la contamination aéroportée.....	38
Tableau 13: Présentation des principales méthodes directes	44
Tableau 14: Présentation des principales méthodes indirectes.....	45
Tableau 15: Concentrations intérieures en formaldéhyde et effets sur l'homme	49
Tableau 16: Principales caractéristiques de la désinfection d'ambiance et de la désinfection par voie aérienne des surfaces	50
Tableau 17: Tableau récapitulatif d'échantillonnage	54
Tableau 18: Recommandations ASPEC de surveillance microbiologique de l'air dans les industries agroalimentaires	57
Tableau 19: Résultats de l'unité de production de steak haché surgelé.....	61
Tableau 20: Résultats de l'abattoir bovins/ovins	63
Tableau 21: Résultats de la laiterie n°1	65
Tableau 22: Résultats de l'unité fromagerie.....	67
Tableau 23: Résultats du restaurant universitaire.....	69
Tableau 24: Résultats de l'abattoir volaille	71
Tableau 25: Résultats de la laiterie n°2	73
Tableau 26: Résultats de la contamination globale selon l'unité de transformation	75

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Schéma représentant la contamination du produit via l'air.....	7
Figure 2: Schéma des principaux bioaérosols dans l'air intérieur	8
Figure 3: Nature des différentes sources de pollutions des bâtiments	10
Figure 4: Nombre de particules de plus de 0,5 µm émises par minutes selon l'activité de l'individu	11
Figure 5: Emission des gouttelettes de Pflügge.....	11
Figure 6: Les différents accessoires de la tenue de travail pour une protection complète	28
Figure 7: Schéma de principe de la mise en surpression	29
Figure 8: Salle propre dans une usine de production de foie gras.....	31
Figure 9: Aérobiocollecteur MASS-100 de type Impacteur	32
Figure 10: Diagramme du 6-stage Andersen	40
Figure 11: AGI-30 Impinger	41
Figure 12: Photo de filtres primaires, secondaires et tertiaires	48
Figure 13: Schéma représentant le principe de la DVA	51
Figure 14: Logigramme	54
Figure15: Aérobiocollecteur MICROFLOW AQUARIA	55
Figure 16: Les différentes étapes de prélèvements d'air à l'aide d'un aérobiocollecteur.....	57
Figure 17: Principe de fonctionnement d'un ATP-mètre.....	58
Figure18: Les étapes d'écouvillonnage de surface avec un ATPmètre.	59
Figure 19: Boîte de gélose PCA après incubation	60
Figure 20: Evolution de la contamination aérienne de l'unité steak haché surgelé	61
Figure 21: Evolution de l'ATPmétrie de l'unité steak haché surgelé.....	62
Figure 22: Evolution de la contamination aérienne de l'abattoir bovins/ovins	63
Figure 23: Evolution de l'ATPmétrie de l'abattoir bovins/ovins.....	64
Figure 24: Evolution de la contamination aérienne de la laiterie n°1	65
Figure 25: Evolution de l'ATPmétrie de la laiterie n°1	66
Figure 26: Evolution de la contamination aérienne de l'unité fromagerie	67
Figure 27: Evolution de l'ATPmétrie de l'unité fromagerie	68
Figure 28: Evolution de la contamination aérienne du restaurant universitaire.....	69
Figure 29: Evolution de l'ATPmétrie du restaurant universitaire.....	70
Figure 30: Evolution de la contamination aérienne de l'abattoir volaille.....	71
Figure 31: Evolution de l'ATPmétrie de l'abattoir volaille.....	72
Figure 32: Evolution de la contamination aérienne de la laiterie n°2	73
Figure 33: Evolution de l'ATPmétrie de la laiterie n°2	74

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR : Association française de normalisation

AISS : Association internationale de sécurité sociale

ASPEC : Association pour la prévention et l'étude de la contamination

ATP: Adénosine tri-phosphate

Aw: Activity of water

°C : Degrés Celsius

CO₂ : Dioxyde de carbone

DVA : Désinfection par voie aérienne

FAMT : Flore aérobie mésophile totale

H° : Hygrométrie

H₂ : Hydrogène

HACCP : Hazard analysis critical control point

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

ISO : International organisation of standardization

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

OFSP : Office fédéral de santé publique

OMS: Organisation Mondiale de la santé

PCR : Polymérase chain reaction

pH : Potentiel hydrogène

T° : Température

UFC : Unité Formant Colonie

URL : Unité relative de lumière

UHT : Ultra haute température

REMERCIEMENTS

BISMILLAH RAHMANI RAHIM, c'est avec l'aide de Dieu tout puissant que ce modeste mémoire a pu être réalisé. Je le remercie de m'avoir donné le courage et la volonté pour le réaliser.

Je tiens à remercier sincèrement mon promoteur, Mr BENDEDDOUCHE, Maitre de Conférences A à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger pour son aide, son soutien, ses précieux conseils et sans qui ce travail n'aurait jamais vu le jour.

J'exprime aussi toute ma gratitude aux membres du jury :

- Mr KHELEF, Maitre de Conférences A à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger pour avoir bien voulu présider mon jury.
- Mr HAMDI, Maitre de Conférences A à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger pour avoir bien voulu examiner ce travail.
- Mr HARHOURA, Maitre Assistant A Maitre de Conférence A à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger pour avoir bien voulu examiner ce travail.
- Mr LEBRES, Maitre de recherche à l'institut pasteur d'Algérie pour avoir bien voulu examiner ce travail.

Je remercie également le professeur GUEZLANE L, directeur de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger et Dr SOUAMES S, sous directeur de la poste graduation et de la recherche scientifique, qui ont mis à notre disposition tous les moyens nécessaires pour effectuer nos études de magister dans de bonnes conditions.

Je tiens également à remercier Monsieur ZOUAMBI pour ses précieux conseils ainsi que le personnel du laboratoire d'HIDAOA pour leur disponibilité, leur patience et leur aide.

Aussi, je remercie tous les responsables des unités de transformation agroalimentaires de nous avoir ouvert leurs portes et d'avoir accepté la réalisation de ce travail au sein de leurs établissements.

Et enfin, je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de ces années universitaires.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à,

*Mes chers parents, mes sœurs et mon petit frère qui m'ont soutenu du début jusqu'à la fin et
qui m'ont donné la motivation pour continuer,*

Mes grands parents pour leur soutien sans faille,

*Mes meilleure amies Sarah et Louloute pour leur présence, leur gentillesse et leur bonne
humeur,*

*Et enfin à tous les vétérinaires du magister contrôle qualité et analyse alimentaire promotion
2009.*

INTRODUCTION

La qualité microbiologique des denrées alimentaires d'origine animale est un enjeu très important tant sur le plan économique que sur le plan de la santé publique. En effet, la contamination par des microorganismes pathogènes ou d'altération peut être à l'origine d'une détérioration qualitative du produit et peut causer des toxi-infections alimentaires.

Les sources de contamination sont nombreuses et diversifiées : matières premières, méthodes, milieux, main d'œuvre et matériels en sont les principales.

Pendant longtemps, les machines et le matériel de travail ont été considérés comme la source majeure de contamination des denrées alimentaires ce qui a permis un développement important en matière de désinfection des surfaces à la différence de la contamination dite aéroportée qui est souvent mal étudiée et sous estimée (**VICKERS, V.T. 1986**).

En effet, l'air peut véhiculer des microorganismes pouvant affecter la qualité et la durée de vie d'un produit exposé à une atmosphère polluée (**AL-DAGAL, M. and D.Y.C. FUNG, 1990**).

De nombreuses méthodes de contrôle existent dont le choix est soumis à controverses. En routine, dans le cadre de l'autocontrôle, il est indispensable pour une entreprise de disposer de méthodes faciles, rapides, reproductibles et d'interprétation simple (**KANG, Y.J. and J.F. FRANK, 1989**).

Notre étude se propose d'étudier l'aérobiocontamination bactérienne et fongique ainsi que la contamination des surfaces au niveau d'industries agroalimentaires de la wilaya d'Alger.

Notre travail, se divise en deux parties :

Une première partie bibliographique d'actualisation des connaissances en matière de contaminants biologiques, de maîtrise de l'hygiène en industrie et des méthodes de contrôle existantes.

Une deuxième est consacrée à la partie expérimentale dans laquelle sera exposé notre protocole, nos résultats ainsi qu'une discussion.

Chapitre I : Les contaminants de l'air en industrie agroalimentaire

A- Les sources de contamination des aliments

La présence de microorganismes dans les aliments n'ayant pas subi de traitements antimicrobiens est tout à fait normale. Sauf exceptions (quelques produits comme l'intérieur de l'œuf sont naturellement stériles), la matière alimentaire brute contient des microorganismes, la charge microbienne pouvant être relativement élevée, de l'ordre de 10^2 à 10^6 /g. Par ailleurs, de nombreux apports exogènes peuvent accroître la charge microbienne (**J-P GUIRAUD, 2003**).

La flore originelle est constituée la plupart du temps de microorganismes commensaux saprophytes ; cependant on peut y rencontrer des pathogènes (animaux malades ou porteurs sains). Les aliments sont confrontés à différentes sources de contamination microbienne comme l'air, le sol, l'eau, les engrais, les manipulations et les traitements technologiques. Les manipulateurs sont responsables de contaminations de contact ou de contaminations indirectes. Si la présence d'une flore originelle peut être difficile à éviter, celle liée aux contaminations peut être fortement réduite par la maîtrise de l'hygiène.

1- Flore issue des animaux et des végétaux

On peut distinguer la flore commensale rencontrée chez les sujets sains et la flore pathogène rencontrée chez les sujets malades. Les flores commensales des animaux et des végétaux sont de type sensiblement différent. Cependant, la flore de surface peut présenter des similitudes car elle provient de contaminants de l'environnement : air, eau, sol, etc.

Les végétaux ont une flore microbienne riche en levures (*Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Candida*, etc.) et en moisissures (*Saprolegnia*, *Plasmodiophora*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, etc.). Les bactéries qu'ils contiennent appartiennent essentiellement au groupe des bacilles Gram – (*Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Flavobacterium*, *Acetobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, etc.) et à celui des bacilles Gram (+) asporulés (*Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, etc.).

Les animaux possèdent différents types de flores commensales. Les plus importantes sont la flore de surface (*Microcoques*, *Corynebacterium*, *Listeria*, bactéries sporulées aérobies, etc.) et la flore intestinales (Coliformes, entérocoques, bactéries sporulées anaérobies, mais aussi bactéries lactiques comme *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, etc.). L'intestin de l'homme ou des animaux contient jusqu'à 10^{11} germes/g (**J-P GUIRAUD, 2003**). Les voies respiratoires et génitales et la mamelle contiennent aussi une flore abondante (bactéries lactiques).

Les flores phytopathogènes sont souvent de type fongique, mais quelques genres bactériens jouent un rôle important (*Pseudomonas*, *Erwinia*, *Corynebacterium*, etc.). La flore pathogène des animaux est essentiellement composée de bactéries (*Mycobacterium*, *Brucella*, *Listeria*, *Staphylococcus aureus*, certains *Streptococcus* et Enterobactéries pathogènes comme *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*) (**J-P GUIRAUD, 2003**).

2- Contamination par les manipulateurs

Certaines industries sont très automatisées, mais d'autres font intervenir du personnel dans de nombreuses opérations au cours de la transformation d'un aliment. La pratique de l'hygiène n'est souvent pas rigoureuse puisque 80% de la contamination des produits serait d'origine humaine (**C.BONNEFOY et al, 2002**).

Les flores commensales et pathogènes de l'homme sont proches de celles des animaux. La contamination peut provenir aussi bien de personnes saines que malades ou guéries (porteurs sains). La peau, les cheveux et autres pilosités sont très riches en microorganismes (10^2 à 10^4 germes/cm² pour la peau). Les contaminations par manipulation sont d'abord des contaminations de contact, essentiellement au niveau des mains. Les germes incriminés sont surtout *Staphylococcus* et *Streptococcus* qui sont véhiculés par une peau saine ou par des plaies, abcès ou furoncles. Le manque d'hygiène peut entraîner la présence sur la peau de bactéries intestinales (contamination fécales : *Salmonella*) (**Tableau 1**). Des contaminations par aérosols (toux, éternuements ou simple respiration) peuvent également avoir lieu : germes d'angines, de sinusites, aussi bien bactériens (*Streptocoques*, *Staphylocoques*, etc.) que viraux. (**J-P GUIRAUD, 2003**).

Par ailleurs, la contamination peut être liée aux vêtements. Ceux-ci souillés de matière organique par contact avec les aliments en cours de fabrication deviennent d'excellents supports pour le développement des microorganismes et peuvent être à l'origine de contamination secondaire. (**C.BONNEFOY et al, 2002**).

Tableau 1 : Les diverses flores commensales de l'homme (**LARPENT, 1997**).

Localisation		Dénombrement	Nature
Flore de la peau		10^2 - 10^5 / cm ²	Staphylocoques Microcoques Anaérobies Corynébactéries
Flore des voies digestives	Cavité buccale	10^5 - 10^6 / ml	Streptocoques
	Plaque dentaire	10^9 - 10^{11} / g	Actinomycètes
	Estomac	Voisine de 0	Anaérobies
	Duodénum/ jéjunum	10^2 - 10^4 / ml	Hélicobacter
	Intestin grêle	10^7 - 10^8 / ml	Bacille Gram +, non sporulés
	Colon	10^{11} / ml	Entérobactéries Streptocoques fécaux Staphylocoques Clostridies
Flore des voies respiratoires	Naso-pharynx	Abondante	Streptocoques Staphylocoques Clostridies
	Trachée	0	
Flore des voies génitales	Urètre	10^3 / ml	Staphylocoques Microcoques Corynébactéries
	Vagin	10^9 / ml	Lactobacilles Anaérobies Bacille Gram + non sporulés Bactéroides Peptococcus

3- Contaminants industriels

Le matériel industriel est une source de contamination, en particulier les surfaces poreuses, les outils et machines, les tissus, de même que le sol et les murs. Les contaminations industrielles sont en général spécifiques d'une industrie donnée. Les habitudes de nettoyage et la nature des produits utilisés ont parfois une grande importance : ils peuvent permettre la sélection d'un contaminant donné.

Lors de la préparation de produits à partir de matières premières diverses, certaines de celles-ci constituent un apport privilégié de microorganismes : contamination par les épices, contamination d'un produit animal par un produit végétal.

Les traitements peuvent induire ou favoriser la dispersion d'une flore, par exemple le hachage d'une viande. En boucherie, l'abattage et l'éviscération provoquent une bactériémie importante s'ils ne sont pas réalisés de manière satisfaisante (**FOURNAUD, 1982**). Les conditions de fabrication vont également « sélectionner » diverses catégories de microorganismes : thermophiles, thermorésistants, psychrophiles, acidophiles, etc. Les conditions de stockage et de conservation influent par les conditions physico-chimiques et par la possibilité de contaminations nouvelles.

Les déchets industriels sont aussi une source potentielle de contamination importante. Il faut séparer les différentes phases de fabrication et isoler les déchets (conception des installations, « marche en avant » dans le process).

4- Contaminants par l'environnement

L'air et surtout le sol sont riches en microorganismes. L'air contient des poussières chargées de spores et conidies fongiques, de spores bactériennes (*Bacillus*) et de formes bactériennes non sporulées (*Micrococcus*).

Le sol et en particulier la terre végétale contient un très grand nombre d'espèces microbiennes de types très divers (*Bacillus*, *Clostridium*, *Streptomyces*, *Corynebacterium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, etc.).

L'eau douce et l'eau salée contiennent un nombre variable de microorganismes en fonction de l'intensité de la pollution. Leur flore naturelle est constituée de bactéries aérobies Gram – dont des *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas*. L'eau est utilisée abondamment dans les industries alimentaires : cette eau peut contenir des microorganismes rencontrés dans l'eau en plus de la

flore hydrique normale peuvent avoir des origines diverses : sol (*Streptomyces*, *Bacillus*, etc.), matière fécales (*Entérobactéries*, *Streptocoques*, etc.), végétaux (spores et conidies fongiques), animaux, etc. l'eau peut être le vecteur de microorganismes pathogènes : *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Listeria*, virus, protozoaires, etc. L'apport des microorganismes issus de l'environnement peut se faire directement ou par l'intermédiaire de vecteurs comme les insectes. Les eaux usées sont de véritables bouillons de culture microbiens avec des flores d'origines diverses et généralement un fort taux de germes fécaux.

B- L'air comme source de contamination en industrie agroalimentaire

L'air peut véhiculer trois types de contaminations : physiques, chimiques et microbiologiques.

L'aspect physique concerne les poussières inertes de différentes tailles qui s'accumulent sur les équipements et dans toutes les zones sensibles à la sédimentation.

L'air peut être chargé d'un point de vue chimique. Cet aspect ne concerne pas particulièrement l'étape de nettoyage et désinfection, mais ne doit pas être négligé en cas de suspicion. Le nettoyage est, parmi les activités de maintenance, une des actions qui présente le plus de risques de contamination de l'air et un soin tout particulier devra être apporté au choix des protocoles à utiliser (**AMGAR, 1998**).

Enfin, l'air peut être contaminé par des microorganismes appelés bioaérosols.

Quelle que soit la problématique, l'air reste un simple vecteur car il ne répond pas aux conditions de développement des microorganismes. Loin de toute source, il est généralement chargé en levures, moisissures et spores de bactéries Gram positif. A proximité d'une source, l'air peut véhiculer et propager des microorganismes qui vont à leur tour se redéposer sur le produit alimentaire (**DEN AANTREKKER et al., 2002**), (figure 1). C'est dans cette situation que l'on doit faire attention aux mouvements de masses d'air. Les sources de contamination à proximité des ateliers de production agroalimentaires ne sont pas rares : stations d'épuration, stockage de matières premières, poubelles et matières organiques en décomposition, eau stagnante (**AMGAR, 1998**).

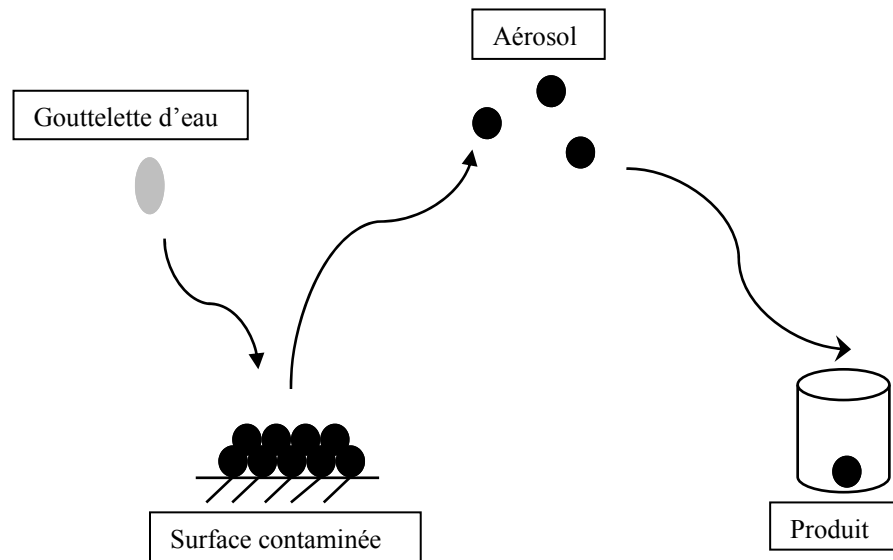


Figure 1 : Schéma représentant la contamination du produit via l'air (**DEN AANTREKKER et al., 2002**).. Une surface contaminée est lavée avec un jet à haute pression provoquant une aérosolisation des microorganismes qui après sédimentation vont se déposer sur l'aliment.

1- Les bioaérosols

Les aérosols sont constitués de particules inertes, solides ou liquides, en suspension dans l'air (**Sherertz, 1993**). Certaines d'entre-elles véhiculent des microorganismes : bactéries, champignons microscopiques, virus, mais aussi pollens, algues et acariens, leurs fragments ou leurs sous-produits. Ces particules biologiques isolées ou en agrégats, vivantes ou inertes s'appellent des BIOAÉROSOLS (Figure 2). Leur taille est généralement comprise entre 0.5 et 30 μ de diamètre (**GRAVESEN, COX, 1987 ; SHERETZ, 1993 ; WANNER, VERHOEF et al. 1993; BURGE, 1995a ; 1995b ; HURST, 1997**).

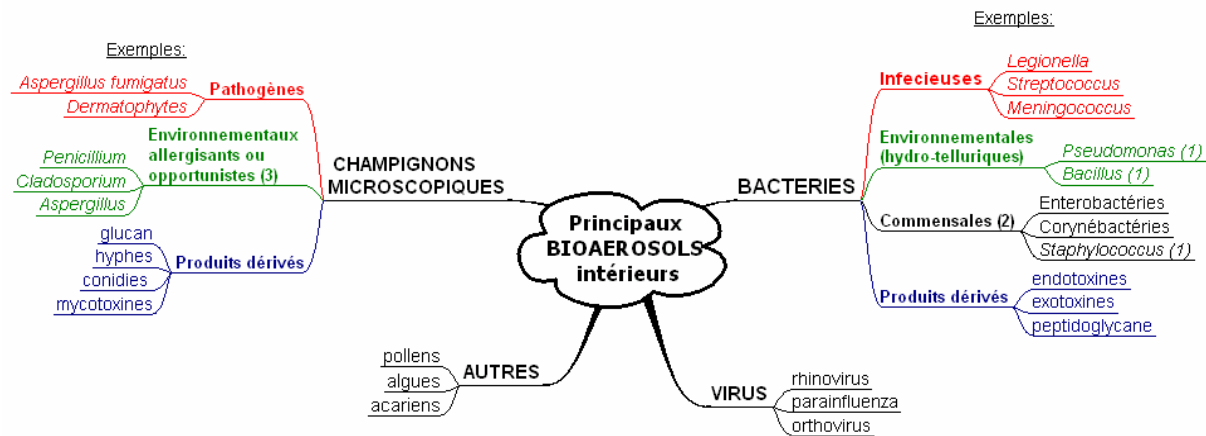


Figure 2 : Schéma des principaux bioaérosols dans l'air intérieur ((1) espèces pathogènes) (GRAVESEN, COX, 1987).

1-1- Le transport aérien des bioaérosols

Les germes ne vivent que très rarement à l'état libre et leur transport aérien requiert le concours d'agents de transmission véritables supports de nature variable, par exemple :

- des poussières, de grandes tailles, visibles à l'oeil nu, assimilées à des réservoirs de nature animale ou végétale, elles offrent tous les éléments propices à la survie des bactéries ; elles sédimentent rapidement.
- des gouttelettes de Flügge : particules émises lors de la parole, de la toux et des éternuements chargées d'inoculum bactérien, dont la taille est fonction de l'activité respiratoire de l'homme. En atmosphère humide, leur sédimentation rapide, minimise leur innocuité (F. PIGNOL, 1992).
- des Doplets Nucléi, gouttelettes de petites tailles qui, en se desséchant, se réduisent à l'état de noyau de 2 à 3 microns. Animés de mouvements Browniens, ils demeurent indéfiniment en suspension dans l'air. On peut leur apparenter les virus de la grippe et de la rougeole qui en sont de belles illustrations (F. PIGNOL, 1992).

Pour la plupart des germes, leur support est également aéroporté (vecteur actif): moustique, mouche, acarien. Les micro-organismes et leurs supports, la qualité de l'environnement forment un ensemble particulière aérien indissociable, réalisant l'aérobiocontamination. L'air extérieur contient 1 à 5 milliards de particules supérieures à 0,5 microns par mètre cube (F. PIGNOL, 1992).

1-2- La viabilité des bioaérosols

Les pollutions microbiologiques lorsqu'elles sont aéroportées se trouvent sous la forme d'aérosols. Ces structures biologiques complexes peuvent être aéroportées et aérodéposées à l'intérieur d'un bâtiment, véhiculées par les courants d'air dus à la ventilation naturelle ou mécanique (**SALTHAMMER, 1999**). Leur transport et leur destination sont liés à leurs propriétés physiques (taille densité, forme) et aux paramètres environnementaux (température et humidité relative) dans lesquels elles évoluent. Un microorganisme qui se retrouve dans l'air a un avenir très incertain. La dessiccation de la cellule elle-même ou de son vecteur aqueux est la cause principale de l'inactivation des microorganismes aéroportés. Cependant, certains types de bioaérosols ne sont que peu influencés par les conditions extérieures. Ils bénéficient alors de structures qui les protègent des stress dus à leur environnement comme la sécheresse, de fortes températures, de la présence d'Ultra-Violets ou de radiations solaires, et de certains composés chimiques et ioniques dans l'air. Il s'agit des formes sporulées des bactéries ou des spores de champignons, ainsi que de certains virus : tous sont protégés par une enveloppe lipidique très résistante (**BURGE, 1995a**) (**BARON et WILLEKE, 1993**). Il est généralement admis que seul 1% des particules totales inertes est composé de bactéries (**ISOARD, CALOP et al., 1982**).

Il y a peu d'informations sur la survie des microbes dans l'air des industries agroalimentaires. **STERSKY et al. (1972)** ont démontré que *Salmonella* avait un pouvoir de survie plus important quand elle provenait d'un substrat laitier que d'une eau distillée. Les spores de *Bacillus subtilis* et *B. niger* sont connues pour être aérostable. La viabilité dans l'air de *Salmonella Enteritidis* et *Salmonella Typhimurium* est meilleure que celle de *Legionella pneumophila* et *Mycobacterium tuberculosis* (**McDERMIT et LEVER, 1996**). Les champignons quant à eux sont plus sensibles aux paramètres extérieurs que les bactéries lorsqu'ils sont aéroportés (**GRIFFITHS et DECOMESO, 1994**).

2- La flore spécifique des bâtiments

La microbiologie de l'air et plus particulièrement celle de l'air intérieur est un sujet vaste, car chaque bâtiment a son écosystème microbien particulier. Dans les bâtiments, les pollutions microbiologiques sont de nature différente selon leur origine : les contaminations atmosphériques sont propres aux espaces « libres » et diffèrent des contaminations dues à la présence de l'homme (**ISOARD, CALOP et al., 1982**).

Ces premières contaminations dites exogènes (Figure 3) pénètrent dans les bâtiments via les

occupants et via les systèmes de ventilation. Elles constituent une flore de base, issue de l'atmosphère et qui se caractérise par la présence majoritaire de bactéries saprophytes d'origine hydro-tellurique, nommée **flore exogène ou flore atmosphérique**.

A la flore exogène se superpose le profil microbien spécifique du lieu considéré, constitué de la **flore endogène**. Les contaminations endogènes sont issues des émissions, de la survie et du développement dans le bâtiment de microorganismes rhinopharyngés et cutanés d'origine humaine. Elles dépendent directement de l'activité des occupants (Figure 3).

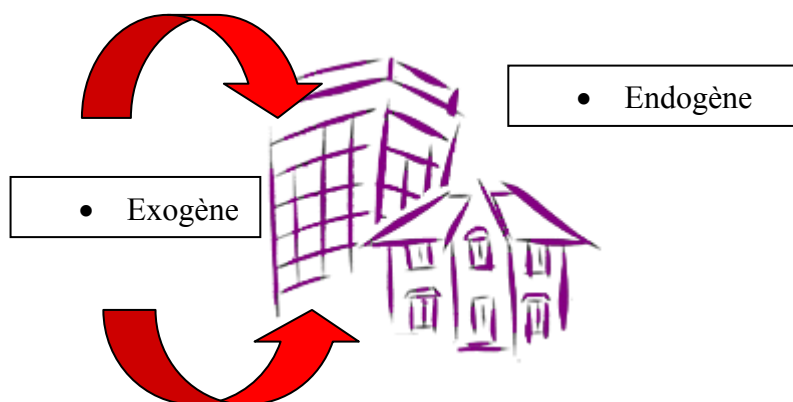


Figure 3 : Nature des différentes sources de pollutions des bâtiments (PIBIRI, 2006).

Les émissions d'origine humaine varient en fonction du site, de l'âge, du temps, de l'individu et de l'endroit où elles sont prélevées. La peau recèle surtout des bactéries à Gram positif.

Il est établi que les bactéries peuvent se propager via l'air sur des particules aéroportées assez grosses (environ 13 μm de diamètre) ou dans des gouttelettes d'eau.

En effet, la desquamation cutanée s'élève à 7.10^6 squames par minute pour une superficie cutanée moyenne de 1.8 m^2 (Figure 4). Et lors de toux ou d'éternuement (Figure 5), un certain nombre de gouttelettes (gouttelettes de Pfügge ou droplet nuclei) sont extériorisées jusqu'à une distance de un mètre (ISOARD, CALOP et al. 1982).

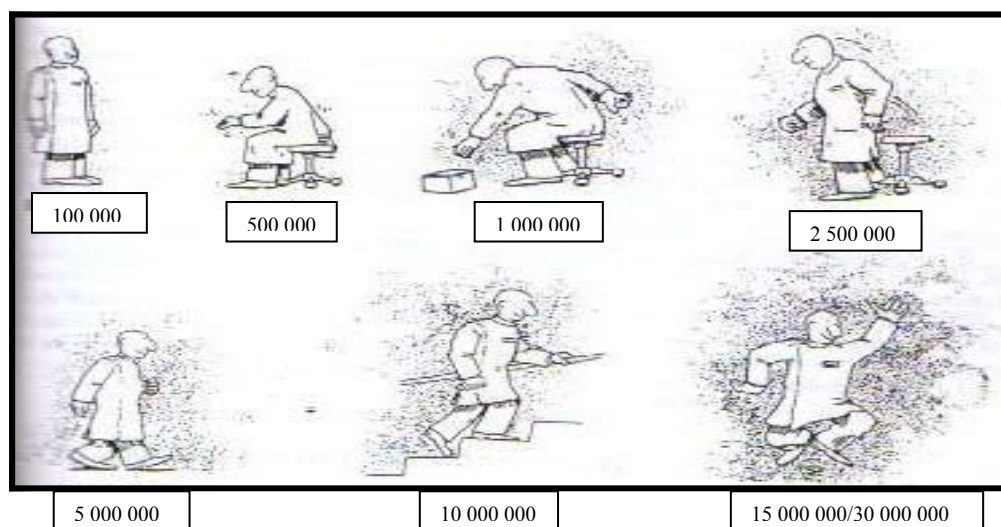


Figure 4 : Nombre de particules de plus de 0,5 µm émises par minutes selon l'activité de l'individu (*LEVEAU et BOUIX, 1999*).

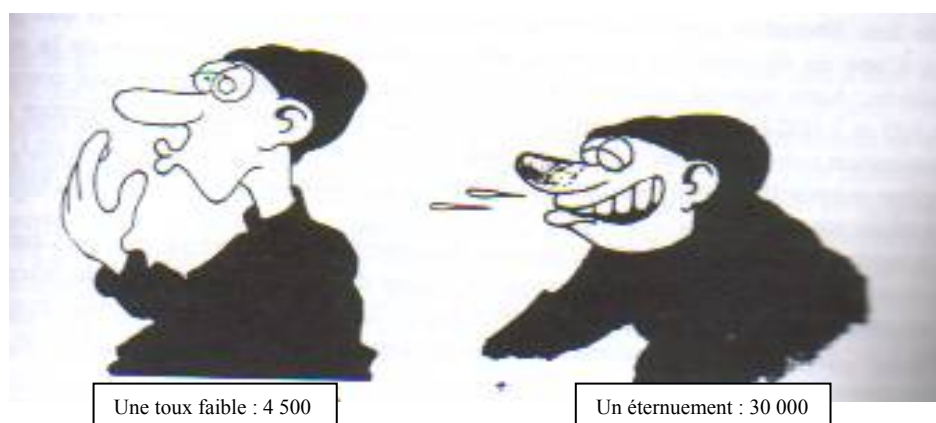


Figure 5 : Emission des gouttelettes de Flüge (*LEVEAU et BOUIX, 1999*). .

3- La microbiologie de l'air

L'air est un milieu difficile à étudier, et en plus les germes aériens sont associés à des supports de caractères propres dont il faut savoir en tenir compte. Pendant de nombreuses années, peu de bactériologistes s'intéressaient aux microorganismes vivant dans l'air.

En 1883, MIGUEL met en évidence dans son "laboratoire d'aérobiologie extérieur", l'influence des saisons, de l'hygrométrie, de la température, de la pression atmosphérique, de l'électricité statique et de la radio-activité sur les variations quantitatives des micro-organismes aériens.

En 1955, MAISSONET, grâce à son Hydroaéroscope, procède à l'analyse qualitative de la flore microbienne de l'air, découvre la faible teneur en germes contenus dans l'atmosphère et démontre l'uniformité des espèces, quelles que soient les lieux ou les saisons de prélèvements, quelles que soient les latitudes ou les longitudes. Depuis cette description, on oppose une flore microbienne saprophyte de base, qualitativement constante et une flore accidentelle, de transit, à laquelle appartiennent les germes pathogènes.

La flore de base a été identifiée à des années d'intervalles, et en tous lieux : en air marin, en zone subtropicale et tempérée.

Elle se compose de *Bacillus*, de *Sarcines*, de *Flavobactéries*, de *Galfkia* et d'*Achromobacter*. Pour MAISSONET, il existe un équilibre entre flore de base et flore de transit, réalisant un écosystème bactérien de l'atmosphère, véritable zone de protection à l'égard du développement des germes pathogènes.

3-1- La flore aérobie mésophile totale

C'est l'ensemble des microorganismes aptes à se multiplier dans l'air aux températures moyennes, plus précisément ceux dont la température optimale de croissance se situe entre 25 et 40°C.

Cet ensemble englobe les microorganismes pathogènes et divers microorganismes d'altération. Dans le cas des produits alimentaires, on donne souvent à cette microflore une définition plus méthodologique : ce sont les microorganismes aptes à donner naissance à des colonies visibles après 3 jours à 30°C sur une gélose pour dénombrement. C'est un indice de qualité et de salubrité du produit.

3-1-1- Valeurs indicatives de l'effectif de la flore mésophile totale

- **Sur le plan technologique :**

Une FAMT nombreuse indique que le processus d'altération microbienne est fortement engagé bien qu'il n'y ait pas de corrélation précise entre l'importance quantitative de la flore et le temps qui s'écoule avant l'altération organoleptique.

- **Sur le plan hygiénique :**

Il n'y a pas de corrélation étroite entre l'importance de la flore totale et la présence de microorganismes pathogènes dans le produit, mais selon *MISKIMIN et al (1975)*, on peut en dire autant des résultats des autres tests et le dénombrement de la flore totale reste la meilleure méthode d'appréciation de la qualité microbiologique générale des aliments.

Il faut noter que certains microorganismes, qui ne sont pas considérés habituellement comme pathogènes, tels que des *Proteus*, des *Bacillus*, des *Entérocoques*, des *Pseudomonas*, peuvent cependant engendrer des intoxications quand ils sont trop nombreux.

En conclusion, l'évaluation de la flore aérobie mésophile totale est un test important en particulier dans le cadre du contrôle industriel, il renseigne sur la propreté des manipulations, les conditions de conservation, l'efficacité des procédés de traitement et la fraîcheur du produit. Il est apprécié pour les informations qu'il fournit et pour la facilité de sa réalisation.

3-2- Les levures

Les levures ont été utilisées par l'homme depuis des millénaires sans le savoir en particulier dans la fabrication de boissons alcoolisées et de pain. Ce n'est qu'avec les travaux de Pasteur (1866-1876), que le rôle des levures dans la fermentation alcoolique a été mis en évidence.

Depuis, plusieurs propriétés intéressantes ont été identifiées notamment en boulangerie et comme source de protéines et de vitamines en alimentation humaine et animale.

Malgré leurs propriétés intéressantes, les levures restent par ailleurs des agents d'altérations des produits alimentaires, si leur développement n'est pas maîtrisé.

3-2-1- Caractéristiques générales

3-2-1-1- Classification

Une levure peut être définie comme un champignon unicellulaire se reproduisant par bourgeonnement ou fission. Les levures se distinguent des autres champignons par une taxonomie basée à la fois sur des caractères morphologiques et physiologiques. Les champignons ayant une phase levuriforme dans certaines conditions (**KREGER VAN RIJ, 1984**).

Les levures appartiennent à trois classes de champignons : les Ascomycètes, les Basidiomycètes, et une troisième classe, les Deutéromycètes regroupant les formes dites « imparfaites »

La classification sommaire des levures est donnée au Tableau 2.

A l'intérieur de ces classes, les levures sont regroupées en ordre, famille, sous-famille, genre et espèces.

Tableau 2 : Classification simplifiée des levures d'après *KURTZMAN et FELL (1998)*.

Ascomycètes			
Archiascomycètes		Saccharomycetaceae	15 genres dont : Debaryomyces Dekkera Issatchenkia Kluyveromyces Pichia Saccharomyces Saturnispora Zygosaccharomyces
Schizosaccharomycetaceae	1genre : Schizosaccharomyces		
Taphrinaceae	2genres		
Protomycetaceae	1genre		
Pneumocystidaceae	1genre		
Eusascomycètes			
	2genres		
Hémiascomycète		Saccharomycodaceae	4genres dont : Hanseniaspora
Ascoideaceae	1genre		
Cephalosporaceae	1genre		
Diopascaceae	7genres	Saccharomycopsidaceae	2genres dont : Saccharomycopsis
Endomycetaceae	1genre		
Eremotheciaceae	2genres	Candidaceae (anamorphe)	12genres dont : Brettanomyces Candida Geotrichum kloeckera
Lipomycetaceae	4genres		
Metchnikowiaceae	2genres dont : Metchnikovia		
Basidiomycètes			
Ustilaginaceae	7genres	Filobasidiaceae	5genres
Sporidiobolaceae	6genres	Syzygosporaceae	2genres
		Sporobolomycetaceae (anamorphe)	5genres dont : Rhodotorulla Sporobolomyces Sterigmatomyces
Cytobasidiaceae	6genres		
Septobasidiaceae	4genres		
Chinosphaeraceae	2genres	Cyptococcaceae (anamorphe)	10 genres dont : Bullera Cryptococcus Phaffia Trichosporon
Atractogloeaceae	1genre		
Agricostilbaceae	1genre		
Graphiolaceae	1genre		
Cryptobasidiaceae	2genre		
Microstromaceae	1genre		
Exobasidiaceae	5genres		
Sirobasidiaceae	2genres		
Tremellaceae	7genres		

3-2-1-2- Caractéristiques physiologiques

- **La température**

La température courante de culture des levures se situe entre 25°C et 30°C. Comme les autres microorganismes, les levures peuvent être classées en levures psychrophiles, mésophiles et thermophiles. Les levures sont sensibles à la congélation et à la lyophilisation, avec de grandes variabilités suivant les genres et les espèces. On peut utiliser la lyophilisation pour conserver des levures (**RUSSEL et STEWART, 1980**) en tenant compte de la température, de la vitesse de congélation, de la composition du milieu, l'âge de la culture a également une importance, les cellules en phase exponentielle résistent moins bien que les cellules en phase stationnaire.

- **La pression osmotique et l'activité de l'eau**

L'effet de la pression osmotique varie d'une souche à une autre. La plupart des souches ne peuvent se développer pour des activités de l'eau inférieures à 0,90, mais certaines tolèrent des pressions osmotiques plus élevées de l'ordre de 0,60, mais avec un métabolisme lent (**LEVEAU et BOUIX, 1975**).

Ce sont en particulier les levures du genre *Zygosaccharomyces* mais aussi *Debaryomyces hansii*, *Hansenula anomala*, *Pichia ohmeri*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Torulopsis candida* et *T.lactis condensii*. Ces levures sont appelées xérotolérantes.

- **L'oxygène**

Toutes les levures sont capables de se développer en présence d'oxygène. Il n'y a pas de levures anaérobies strictes.

Certaines levures sont aérobies strictes : ce sont en particulier les levures des genres *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Lipomyces*, *Saccharomycopsis*, *Cryptococcus* et *Sporobolomyces*, plus quelques espèces des genres *Hansenula*, *Pichia*, *Torulopsis* et *Debaryomyces*.

Les autres levures sont aéro-anaérobies facultatives : *Saccharomyces*, *Brettanomyces*, *Candida*.

- **Les agents chimiques**

La sensibilité des levures aux acides sorbiques et propionique est plus élevée que pour l'acide acétique, citrique et lactique. La sensibilité à l'éthanol dépend de la composition en lipide des cellules qui dépend, elle même du milieu de culture et de la température (**LEVEAUX et BOUIX, 1986**).

Le SO² a un effet plus prononcé sur les bactéries que sur les levures, mais parmi les levures des différences de sensibilités existent. **SCHIMZ et HOLZER (1979)** ont montré qu'une

concentration de $1\mu\text{m}$ à $\text{pH} < 4$ entraîne une diminution de l'ATP cellulaire chez *Saccharomyces cerevisiae* préluant la mort de la cellule si le temps d'exposition est supérieur à une heure.

3-2-1-3- Caractéristiques écologiques et conséquences de leurs développements

D'une façon générale, les produits alimentaires à base de végétaux (fruits, jus de fruits, sirops, confitures...) ainsi que les produits sucrés (biscuits, miel...) sont particulièrement sujets à des altérations par des levures. Mais d'autres produits peuvent aussi subir un développement anarchique de levures.

Les levures des produits alimentaires n'étant pas pathogènes, elles ne causeront pas d'intoxications alimentaires mais peuvent produire, par leur développement dans les produits, des altérations de leur qualité marchande par formation de troubles, d'odeurs ou de goûts anormaux, ou par gonflement des produits ou de leurs emballages. Il est donc nécessaire d'un point de vue technologique de rechercher quantitativement et éventuellement qualitativement les levures dans les produits finis mais surtout dans les matières premières et en vue de contrôler l'efficacité du traitement mis en œuvre.

A titre indicatif, le tableau 3 donne quelques levures susceptibles d'être rencontrées dans certains produits.

Produits	Principales levures d'altération
Produits à forte concentration en sucre : 40 à 70% : miel, confiture, sirop, confiseries.	-Zygosaccharomyces rouxii - Zygosaccharomyces bisporus - Zygosaccharomyces bailli
Produits laitiers	-Kluyveromyces fragilis -Candida -Torulopsis -Rhodotorula (crème)
Salaisons, saumures	-Debaryomyces hasenii

Tableau 3 : Principales levures d'altération dans les produits alimentaires (*KURTZMAN et FELL, 1998*).

3-3- Les moisissures

Les moisissures sont des microorganismes eucaryotes dépourvus de pigments photosynthétiques, ils sont donc hétérotrophes vis-à-vis de la matière organique. On parle de moisissures pour désigner les champignons chez lesquels les organes de fructification ont une structure nettement filamenteuse. En tant qu'organisme vivant, ils ont donc besoin d'oxygène et d'humidité pour survivre et se développer.

On distingue 4 embranchements : chytridiomycètes, zygomycètes, ascomycètes et basidiomycètes. Elles appartiennent à diverses familles de champignons. Les plus banales sont les *Mucorales*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, etc

Comme la majorité des levures, ces champignons microscopiques (Micromycètes) se développent au dépend de substrats morts : ce sont des saprophytes (**B.BOTTON et al 1990**).

Les moisissures sont caractérisées par un thalle filamenteux : le mycélium, qui se bouture aisément par fragmentation, mais différencie aussi des organes de multiplication : les spores.

Si les conditions lui sont favorables, une spore germe en des hyphes mycéliennes qui se ramifient rapidement pour envahir le substrat et y prélever les éléments nécessaires pour sa croissance. Puis, l'espèce forme des spores de dissémination, qui sont aisément dispersées par l'air (xérospores) ou par l'eau (myxospores). Les moisissures peuvent former des spores de conservation (chlamydospores), à paroi épaisse, qui leur permette de résister à des conditions peu favorables.

Les moisissures se retrouvent partout dans l'environnement et par conséquent dans tous les aliments dont principalement ceux à faible risque bactérien. Le développement des moisissures dans les aliments aura comme conséquence une dégradation organoleptique visuelle, de goût/odeur altérés : synonymes d'une mauvaise image de marque ainsi qu'une altération sanitaire notamment suite à la production de mycotoxines.

Les moisissures que l'on retrouvera dans les aliments peuvent provenir soit des matières premières soit de l'environnement (air ambiant). Le type de flore dépendra de l'évolution de la matière première (ex : dans les céréales, les flores 'du champ' diffèrent de celles qui se développent lors du stockage en silo). Dans certaines matières premières, les moisissures peuvent être présentes sans qu'on ne s'en aperçoive. Elles se développeront une fois qu'elles seront placées dans des conditions favorables à leur développement (cas des épices mélangées à la

viande). Les spores pourront être disséminées par l'air ou par l'eau (**B.BOTTON et al 1990**).

Les moisissures sont des microorganismes très peu exigeants ; elles doivent cependant trouver dans leur milieu les conditions indispensables à leur croissance :

- **eau** : l'humidité est un facteur essentiel à la croissance fongique qui commence à une $A_w = 0,75$;
- **nutriments** : seul un apport de carbone et d'azote est requis pour la croissance fongique ;
- **oxygène** : les champignons sont aérobies ; toutefois, certaines espèces peuvent se développer en conditions de microaérobie ;
- **température** : la plupart des moisissures sont mésophiles et se développent donc très bien à température ambiante (20-25°C), mais leur croissance peut commencer en dessous de 4°C ;
- **pH** : influe peu sur la croissance des moisissures, qui peuvent se développer à des pH compris entre 4 et 8, certaines espèces (*A. niger*) pouvant croître à des pH de 2.

La meilleure façon d'éviter le développement de contaminants fongiques est donc de maintenir une hygrométrie faible dans l'environnement. L'absence d'oxygène et la réfrigération sont des barrières complémentaires à la croissance des moisissures.

C- Conséquences de la contamination microbienne

Les microorganismes présents au niveau de l'air ambiant peuvent se déposer sur les surfaces et contaminer ainsi l'aliment en cours de transformation (**DEN AANTREKKER et al, 2002**).

L'action microbienne est variée et affecte les caractères physico-chimiques, nutritifs et organoleptiques.

Une prolifération microbienne entraîne de nombreuses modifications favorables ou non qui affectent l'odeur, la saveur, l'aspect, la couleur, la texture mais aussi la valeur alimentaire ou hygiénique. Il se produit souvent des successions de flores, chacune responsable de transformations qui modifient l'aliment et permettent à la suivante de se développer. Les modifications dépendent beaucoup de la composition de l'aliment : teneur en glucide, protéines et lipides. L'environnement physico-chimique joue aussi un grand rôle : pH, aération, température (**BOURGEOIS, 1992**).

1- Odeur et saveur

De nombreux métabolites d'origine microbienne volatils ou non sont susceptibles d'engendrer des modifications d'odeur et de saveur. Ces altérations primaires apparaissent à partir de 10^6 / 10^7 germe/g (**BOURGEOIS, 1992**).

L'odeur générée provient de différents produits, acides, des alcools, des esters de cétones, l'ammoniac, l'hydrogène sulfuré, la triméthylamine et d'autres amines, les mercaptans, etc. Les odeurs peuvent être complexes : odeur fruitée, de sol, de limon, de linge humide, d'urine, de graisse, de putréfaction, de moisi, etc.

Les modifications de goût sont liées le plus souvent à une acidification qui se traduit par une baisse du pH. L'acide lactique est le composé le plus impliqué mais d'autres acides interviennent aussi (acides acétique, propionique, butyrique, etc.) ainsi que des substances tel que les alcools, le diacétyl, les amines etc. Comme pour les odeurs, il existe des saveurs complexes : moisi, rance, sucré, caramélisé, etc.

Un même produit peut générer des odeurs ou des goûts différents en fonction de l'environnement : l'altération des viandes entreposées au froid ou à température ambiante est totalement différente. Odeur douceâtre à froid ; odeur ammoniacale à température plus élevée.

2-Aspect et couleur

Ces modifications apparaissent plus tardivement et supposent une prolifération abondante. Au niveau de la couleur, il peut y avoir disparition ou atténuation d'une couleur existante, par dégradation enzymatique de pigments ou colorants du produit (caroténoïdes, hémoglobine, etc.) ou apparition de couleurs nouvelles dues aux métabolites microbiens.

3-Texture

Naturellement, les modifications de la texture ont des répercussions sur l'aspect et sur la forme du produit. Elles apparaissent fréquemment et sont liées à la destruction de macromolécules du substrat ou à la production de métabolites microbiens. Ces modifications se traduisent par des phénomènes d'hydrolyse les plus souvent défavorables : ramollissement des fruits, perte de forme des viandes sous l'effet des protéases et pectinases, affinage trop poussé d'un fromage, etc.

Une production importante de gaz par un microorganisme (CO_2 , H_2), provoque le gonflement du produit alimentaire. On peut prendre comme exemple le gonflement butyrique des fromages et le bombement des conserves. Certains microorganismes synthétisent des polymères (dextranes) qui épaississent les liquides, rendent les produits visqueux ou gluants. Un sirop de sucre contaminé

par *Leuconostoc* peut se transformer en gel compact.

4- Valeur nutritionnelle et sanitaire

La valeur nutritionnelle d'un aliment est modifiée par la présence et la prolifération de microorganismes. Ceux-ci peuvent avoir un rôle favorable : peuvent synthétiser des molécules à activité biologique comme les vitamines ou des facteurs de croissance (Acides aminés, Acides gras essentiels etc.) ou cataboliser des produits toxiques ou antinutritionnels.

La présence de germes pathogènes va avoir une incidence néfaste sur la qualité sanitaire d'un aliment : toxi-infection alimentaire.

Ces accidents dépendent de plusieurs causes :

- mauvaise qualité de la matière première
- mauvais nettoyage du matériel
- mauvaise hygiène du manipulateur
- les facteurs d'humidité, d'aération et de température sont fondamentaux.

Aux Etats-Unis, on estime à 76 millions de cas / an de maladies transmises par les aliments engendrant 6 milliards de dollar de perte par année. En Grande-Bretagne, on estime l'incidence annuelle des maladies transmises par les aliments à 2.366.000 cas (**MEAD et al., 1999**).

En Algérie, l'incidence annuelle de toxi-infections alimentaire est estimée entre 5000-6000 cas / an selon le ministère du commerce et le ministère de la santé (**ANONYME¹ 2006**).

Chapitre II : La maîtrise de l'aérobiocontamination

On définit la contamination par la présence d'un élément indésirable solide ou liquide dans un produit, dans un fluide, sur une surface ou dans un espace protégé (Glossaire du paquet hygiène).

La biocontamination aéroportée est caractérisée par la présence de microorganismes indésirables dans l'air pouvant menacer la qualité sanitaire, la qualité organoleptique et la qualité d'usage des denrées :

- **qualité sanitaire** : les produits alimentaires peuvent être le vecteur et le support de croissance de germes pathogènes et/ou de leurs toxines ;
- **qualité organoleptique et qualité d'usage** : la valeur d'usage des denrées est diminuée par le développement d'une flore microbienne d'altération saprophyte.

La maîtrise du danger microbiologique nécessite une action polyfactorielle incluant les bonnes pratiques de fabrication et d'hygiène et la mise en place d'une démarche de sécurité alimentaire du type HACCP. Parmi les actions de maîtrise, le contrôle de l'ambiance, et notamment la climatisation des locaux de production est un élément essentiel.

A- Démarche du type HACCP

- Officialisée comme outil de gestion et de prévention de la sécurité alimentaire par le paquet hygiène en 2005 et en Algérie depuis 2010, la démarche HACCP est d'application obligatoire dans toutes les industries agroalimentaires excepté les petits abattoirs. Cette démarche est un outil d'analyse des dangers alimentaires, notamment microbiologiques et de mise en place d'une maîtrise de la sécurité alimentaire. La démarche HACCP (« *Hazard Analysis Critical Control Points* ») peut se traduire par « analyse des dangers et définition des points critiques pour leur maîtrise ».
- Comme tout outil, la démarche HACCP possède son mode d'emploi développé à travers **sept principes** et **douze étapes fonctionnelles** répertoriés dans le *Codex Alimentarius* (**CAC, COMITTEE ON FOOD HYGIENE, 1997**) (Tableau 4).

Cette démarche est utilisée pour la maîtrise du principal danger : le danger microbiologique. Les risques liés au danger microbiologique sont la contamination ou la reprise de la multiplication des germes.

La démarche HACCP permet de définir : des zones de travail sensibles, ou zones à risque, c'est-à-dire des espaces géographiquement définis et limités dans lesquels des individus, des

produits ou des matériels (ou toutes combinaisons possibles) présentent une vulnérabilité particulière ;

- des contraintes hygiéniques et technologiques ;
- des contraintes de température ;
- des contraintes réglementaires ;
- des contraintes de maîtrise et de contrôles.

La démarche HACCP peut aboutir à préconiser la création de salles propres où la concentration des particules en suspension dans l'air est maîtrisée. Elles sont construites et utilisées de façon à minimiser l'introduction de nouvelles particules et à contrôler d'autres paramètres pertinents, tels que la température, l'humidité et la pression.

Principes	Étapes
1. Analyser les dangers : identification, probabilité d'apparition, mesures préventives 2. Déterminer les points où les dangers apparaissent 3. Déterminer les points critiques pour maîtriser ces dangers, établir des limites à respecter 4. Établir un système de surveillance de ces points critiques : contrôle = procédures + instructions + enregistrements 5. Action corrective en cas de non-maîtrise d'un point critique 6. Vérifier périodiquement le bon fonctionnement du système 7. Établir un système documentaire des procédures, instructions, enregistrements	1. Réunir une équipe 2. Décrire les produits 3. Identifier leur utilisation 4. Diagramme de fabrication 5. Confirmer le diagramme de fabrication 6. Liste des dangers, mesures préventives 7. Points critiques pour maîtriser les dangers 8. Établir des limites, des niveaux à ne pas dépasser 9. Établir un système de surveillance 10. Actions correctives 11. Procédures de vérification 12. Établir la documentation

Tableau 4 : Les sept principes et douze étapes fonctionnelles de l'HACCP (CAC, COMITEE ON FOOD HYGIENE, 1997).

B- Buts et enjeux de la maîtrise d'ambiance en Industrie Agroalimentaire

Le but principal de la maîtrise d'ambiance en industrie agroalimentaire est de protéger avant tout le produit en :

- Limitant la contamination microbiologique de la matière première, des produits intermédiaires et finis.
- Ralentissant le développement des micro-organismes déjà présents dans les denrées.

Tout en permettant une productivité satisfaisante dans des conditions de travail sûres et adaptées à l'homme.

Les enjeux principaux sont le respect de l'hygiène, la sécurité des opérateurs et la santé des consommateurs. L'enjeu secondaire, mais essentiel, est d'assurer une vie commerciale au produit fini, à l'abri des processus d'altération.

Le conditionnement d'ambiance se définit comme la maîtrise du milieu de travail des aliments. Il est l'un des cinq facteurs intervenant dans tout processus productif, connus sous la règle des « 5 M » : Main-d'œuvre, Méthode de travail, Milieu de travail, Matières premières, Matériel.

En outre, la maîtrise du milieu permet de garantir un état de fraîcheur et une constance de production jusqu'à la date de péremption.

Ces garanties sont exprimées par voie réglementaire dans le Code rural et le Code de la consommation à travers des textes législatifs publiés dans le journal officiel de la république Algérienne. La perte de ces garanties se traduit par :

- un risque économique chronique lié aux pertes commerciales dues aux germes d'altération : plaintes des consommateurs, retours des produits ;
- un risque aigu économique et pénal en cas de toxi-infection alimentaire, voire d'épidémies. Toute alerte sanitaire pèse lourdement sur l'avenir d'une société agroalimentaire.

C- Objectifs

Les objectifs de la maîtrise d'ambiance répondent aux problèmes suivants :

- **Exigences réglementaires**

La réglementation impose une obligation de résultats exprimée par des critères microbiologiques pour les produits finis mis sur le marché ainsi que le respect d'une température maximale dans les locaux de production. Les industries agroalimentaires doivent mettre en place les moyens nécessaires, propres à chaque filière et à chaque processus de production, pour respecter ces critères microbiologiques définis principalement par le ***Décret exécutif n° 91-53 du 23 février 1991 relatif aux conditions d'hygiène lors du processus de la mise à la consommation des denrées alimentaires, p. 285. N° JORA : 009 du 27-02-1991.***

C'est donc à l'industriel de prévoir les conditions d'ambiance propre à sa production.

- **Nature des denrées**

La composition de la denrée transformée influence les conditions de production (**M. METAY, JF COLLOBERT, 2002**). Tous les produits alimentaires ne sont pas égaux face au danger microbiologique : certains sont de meilleurs supports de développement que d'autres (Tableau 5).

Denrée	Risque d'altération	Risque de pathogénicité
Pain	Nul	Nul
Viennoiserie	Moyen	Nul
Yaourt	Moyen	Nul
Fromages au lait cru	Moyen	Elevé
Fromages au lait traité thermiquement	Moyen	Moyen
Poisson	Elevé	Faible
Charcuterie crue	Elevé	Moyen
Charcuterie cuite	Elevé	Elevé
Viandes crues découpées/hachées	moyen/élevé	Moyen
Crudités	Moyen	Moyen

Tableau 5 : Danger microbiologique par type de denrée : risque comparé d'altération et de pathogénicité (**M. METAY, JF COLLOBERT, 2002**).

La complexité de la maîtrise d’ambiance augmentera lors de la fabrication de produits facilement altérables et/ou présentant un risque sanitaire élevé. Les choix de conception des locaux et de maîtrise d’ambiance seront déterminés par la nature des denrées produites.

▪ **Mode de transformation**

Le processus de fabrication influence les contraintes d’ambiance (*M. METAY, JF COLLOBERT, 2002*). Ces contraintes seront d’autant plus élevées que les transformations de la denrée sont nombreuses, complexes et ne comportent pas de traitement assainissant final (**Tableau 6**).

La conception des locaux s’appuiera sur le diagramme de fabrication. Ce dernier permettra de visualiser les étapes, les locaux et les matériels à risque.

Mode de transformation	Contraintes d’ambiance faibles	Contraintes d’ambiance élevées
Opération(s)	Unitaire	Multiples
Phases d’attente et de transfert	Absence	Présence
Circuit de production	Fermé	Ouvert
Manipulations	Absence	Présence
Traitement assainissement final	Présence	Absence

Tableau 6: Facteurs de production influençant les contraintes d’ambiance (*M. METAY, JF COLLOBERT, 2002*).

- **Charge microbienne des denrées**

Elle s'accroît avec leur durée de stockage et leur transformation. Par exemple, une carcasse sur la chaîne d'abattage reçoit 25 à 150 germes/cm² (avec un air ambiant contaminé à des taux de 700 à 35 000 germes/m³) et, lors de son stockage ultérieur réfrigéré, 150 à 1 500 germes/cm². La qualité des produits finis dépend essentiellement de la qualité des matières premières, notamment en l'absence de tout traitement assainissant. Ainsi, on estime que 90 % de la flore bactérienne d'une viande hachée provient de la matière première et seulement 10 % des autres facteurs que sont le milieu, le matériel, la main-d'œuvre et les méthodes de travail (*M. METAY, JF COLLOBERT, 2002*). Plus la charge microbienne initiale sera élevée, plus les contraintes d'ambiance devront être importantes. Si la charge initiale et celle du produit fini doivent demeurer faibles, les contraintes générales d'ambiance seront élevées.

- **Durée de vie du produit fini**

Dans la définition du produit fini désiré, la durée de vie commerciale est une notion primordiale. Cette durée de vie est limitée par des processus biochimiques et bactériologiques. Toute évaluation de la date de péremption doit faire l'objet d'une étude globale du processus de production, et d'épreuves de vieillissement. De façon générale, tout allongement de la durée de vie du produit nécessitera une maîtrise accrue de l'ambiance de production.

- **Respect de la productivité**

La démarche du concepteur vise à rechercher la solution acceptable économiquement pour assurer la viabilité de l'unité de production et la maîtrise du danger microbiologique.

D-Gestion de l'aérobiocontamination

Depuis longtemps maintenant, les industriels de l'alimentaire en Europe et dans les pays développés ont intégré dans leurs usines des techniques de maîtrise de la qualité de l'air. Ils ont été amenés à intégrer les principes de marche en avant, conception et gestion des salles propres, respect des cascades de pression et implantation de sas pour les personnels et pour les matières et matériels.

1-Gestion des flux

La maîtrise de l'ambiance passe par une conception rationnelle et hygiénique des locaux et par une gestion organisée limitant et orientant les flux dans les ateliers (**M. METAY, JF COLLOBERT, 2002**).

La gestion des flux repose sur les deux principes évoqués précédemment : marche en avant, et séparation des secteurs sains et souillés. De plus, la maîtrise d'ambiance demande la définition des zones chaudes et froides, climatisées ou non, humides ou sèches.

Les flux à maîtriser sont les suivants :

- Le **personnel** : il est un vecteur de particules et de germes, d'autant plus important que les déplacements et l'activité s'accroissent. Un individu au repos émet 100 000 particules de 0,5 µm par minute ; en activité, une émission de 15 à 30 millions par minute est fréquente.

Les conditions d'entrée et de sortie du personnel de production et de maintenance seront définies : tenue, vestiaires et sas, opérations hygiéniques, circulation. La tenue de travail est différente de la tenue de ville et inclut une veste, un pantalon, une cagoule, un masque, des chaussures, des gants et un surhabillement et des surchaussures dans les salles propres (figure 6). La flore microbienne présente sur les vêtements de travail doit être réduite : absence de coliformes fécaux et de staphylocoques présumés pathogènes sur 25 cm² de tissu (**LEVEAUX, BOUIX, 1999**).

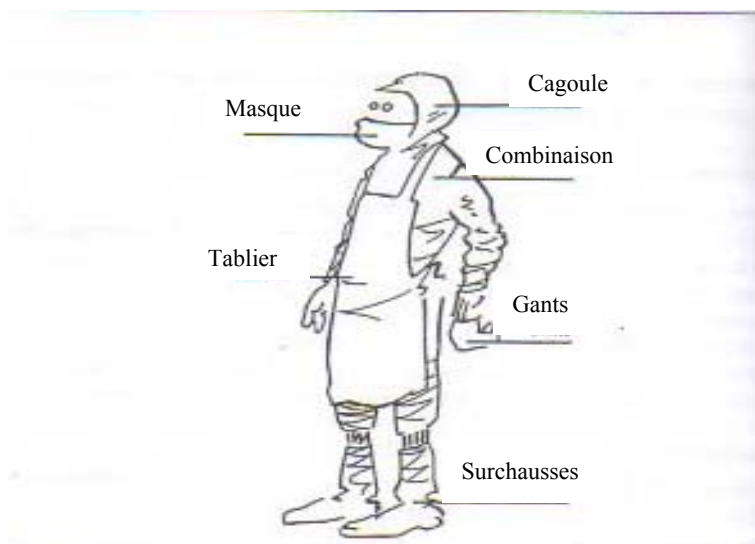


Figure 6 : Les différents accessoires de la tenue de travail pour une protection complète (LEVEAU et BOUIX, 1999).

- Les **matières** : produits, conditionnement, emballages, matériels et déchets font l'objet de circuits spécifiques. Les transferts longs seront évités ainsi que les ruptures de confinement des locaux propres et des zones sensibles.
- Les **fluides** : air, eau et vapeur, air comprimé, gaz spéciaux, liquide frigorigène, produits de nettoyage et de désinfection, eaux usées peuvent être autant de sources de pollution. L'air véhicule des particules inertes, des microgouttelettes d'eau et des germes dont le développement est favorisé par l'humidité ambiante et la condensation ; comme indiqué au tableau suivant (Tableau 7).

UNITES DE TRAITEMENT D'AIR CONCERNEE	ESPECES	CONCENTRATION	
		Air (UFC/ m ³)	Surfaces (UFC/m ²)
Chauffage/refroidissement	<i>Pseudomonas sp.</i>	30-70	45 à 10 ⁶
	<i>Staphylococcus sp</i>	80-130	50
Bacs d'humidification	<i>Pseudomonas sp.</i>	480-1200	-

Tableau 7 : Charge bactérienne dans les diverses unités de transformation alimentaires qui fonctionnent avec la présence d'eau dans le système (HURST, 1997), (PASANEN, 1998).

2-Maîtrise de l'air

La maîtrise de l'air nécessite une organisation des flux (surpression), l'épuration de l'air (filtration) et son conditionnement (climatisation, hygrométrie, vitesse et débit). Dès l'élaboration de l'installation, il faudra tenir compte des risques liés aux vents dominants et aux sources potentielles de pollution aérienne aux abords de l'usine.

▪ **Organisation des flux d'air**

L'air est un élément neutre potentiellement source de contamination, vecteur de particules inertes et de germes saprophytes et pathogènes. Il est aussi dans certains cas un élément technique d'une opération de transformation : refroidissement, réchauffage, séchage, affinage, vecteurs de bactéries et moisissures.

L'air distribué dans les locaux provient de l'extérieur (air neuf) et du recyclage de l'air ambiant. L'air extérieur devra être épuré, filtré, refroidi, asséché ou humidifié et les entrées d'air parasites doivent être éliminées.

Pour cela, la création de barrières par la mise en place de pressions différentielles entre les ateliers permet de protéger les acquis de la filtration et de la ventilation. On appelle surpression d'une enceinte l'écart de pression existant entre l'intérieur de celle-ci et les locaux adjacents. La surpression est donc une valeur relative dont le gradient est variable suivant le local mitoyen considéré. La surpression permet de diriger les flux de contamination de la partie la plus propre vers la partie la plus sale (figure7). Il s'agit de l'application directe du concept de la marche en avant. En pratique la différence de pression entre deux ateliers est de 10 Pa ($\gg 1$ mm de Colonne d'Eau). La méthode pour mettre une salle en surpression est simple, il suffit de souffler de l'air en excès par rapport à son volume. Cela étant, l'étanchéité des locaux est une condition préalable (**RONDOUIN O, 2001**).

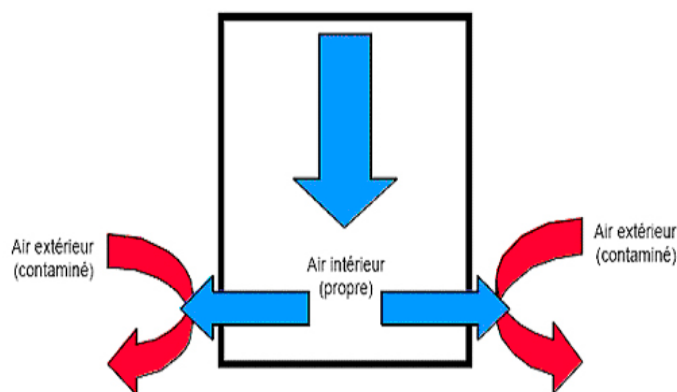


Figure 13: Schéma de principe de la mise en surpression
(36)

Figure 7: schéma de principe de la mise en surpression
(**RONDOUIN O, 2001**).

▪ Température

La maîtrise de la climatisation est essentielle dans les industries agroalimentaires. Sur les produits nus en abattoir, la flore microbienne dominante est rapidement constituée de germes aéroportés, avec un degré de contamination de 150 à 1 500 UFC/cm² au terme de 5 jours de réfrigération. Ce phénomène est d'autant plus important que le taux de brassage s'élève. En revanche, la réfrigération permet de limiter la multiplication de cette flore.

La climatisation agit donc de deux façons : l'une favorable en diminuant les capacités de multiplication des germes pathogènes mésophiles et saprophytes ; l'autre défavorable en sélectionnant une flore psychrotrophe et psychrophile.

Les locaux de travail sont conditionnés couramment à +8°C, pour éviter une condensation d'humidité sur les produits froids. Certains locaux sensibles peuvent être climatisés à +4 à +6 °C. Excepté les produits et locaux dont la température est réglementée (Tableau 8), le professionnel est responsable du choix de la température de conservation de sa production et de la maîtrise de sa production à travers la démarche HACCP.

Produit	Températures maximales des locaux de travail (hors locaux de stockage)	Températures maximales des produits		Textes de référence (AM : arrêté ministériel)
		En cours de process	Finis	
Abattage, découpage des animaux de boucherie	Découpage : + 12 °C		Viandes : + 7 °C Abats : + 3 °C	AM du 17/03/92 et AM du 17/03/92
Préparation de viande et viande hachée	+ 12 °C	+ 4 °C à + 7 °C	Viande hachée : + 2 °C Préparation : + 3 °C à + 4 °C Surgelée : - 18 °C	AM du 29/02/96
Abattage des volailles			Réfrigéré : + 4 °C Congelé : - 12 °C Surgelé : - 18 °C	AM du 14/01/94
Découpage des volailles	+ 12 °C		Viande : + 2 à + 4 °C Congelé : - 12 °C Surgelé : - 18 °C	AM du 29/05/95
Produits de la			Poisson sous glace,	AM du

pêche			congelé : – 18 °C	28/12/92 et AM du 29/12/92
Restauration collective à caractère social	« Locaux ou enceintes au besoin réfrigérés »		Préparations culinaires : 0 à + 3 °C ou > + 63 °C	AM du 29/09/97
Produits laitiers	« Locaux d'entreposage ...disposant d'une puissance frigorifique suffisante... »			AM du 30/11/93

Tableau 8 : Prescriptions réglementaires en matière de températures des locaux et des denrées alimentaires et d'origine animale (AM du 17/03/92 et AM du 17/03/92, AM du 29/02/96, AM du 14/01/94, AM du 29/05/95, AM du 28/12/92 et AM du 29/12/92, AM du 29/09/97, AM du 30/11/93).

▪ Les salles propres

Pour limiter l'apport de contaminants extérieurs, plusieurs solutions existent comme on l'a vu précédemment (filtration, orientation des flux d'air, séparation des secteurs, système de pressions différentielles...etc.). Mais tout cela peut ne pas être suffisant, il faut alors avoir recours aux salles microbiologiquement maîtrisées (figure 8).



Figure 8: Image salle propre dans une usine de production de foie gras.

(<http://www.ladepeche.fr/article20091127724928-N-1-Euralis-Gastronomie.html>).

Elles sont conçues dans le but d'isoler la zone de production des contaminations extérieures, mais aussi de façon à éliminer rapidement une pollution qui serait issue de l'activité.

Les salles propres peuvent, dans un sens général, être définies comme des zones de l'espace dans lesquelles les contaminants – particuliers, microbiologiques ou moléculaires – sont présents en quantité connue et maîtrisée. Selon les branches, plusieurs normes et législations définissent les salles propres plus précisément ; dans l'agro-alimentaire, ISO 14644, ISO 14698, US Federal

Standard 209E et les Bonnes Pratiques de Fabrication pour les médicaments à usage humain de l'Union Européenne sont particulièrement utiles.

L'intérêt des salles propres pour l'industrie alimentaire peut être mieux compris en considérant le produit comme un système au sein duquel les influences des microorganismes favorables ou néfastes doivent être optimisées. En contrôlant précisément les sources de contamination, la nature et l'importance de la microflore du produit peuvent être maîtrisés au mieux, ce qui le plus souvent diminue les exigences en matière de décontamination et de formulation ou d'emballages antimicrobiens.

3- Normes de classement des locaux

3-1- La propreté particulière

Publiée en 1963 et référence pendant de nombreuses années, l'**US FEDERAL STANDARD 209** définit à l'origine des classes d'empoussièrement en prenant pour base le nombre de particules de diamètre $\geq 0,5 \mu\text{m}$ par pied-cube d'air. (Classes 100 – 10 000 – 100 000).

Le standard mondial est aujourd'hui défini par **la norme ISO CD 14644-1** : "salles propres et environnements contrôlés apparentés – classification des particules en suspension dans l'air".

Les classes d'empoussièrement sont définies par le nombre de particules de diamètre $\geq 0,1 \mu\text{m}$ par mètre-cube d'air exprimé en puissance de 10. (Classes ISO 5 – ISO 7 – ISO 8).

La correspondance entre ces deux références est précisée dans le tableau ci-après :

ISO CD 14644– 1	Guide BPF 1999 (0,1 $\mu\text{m}/\text{m}^3$)	US Fed Std 209 (0,5 $\mu\text{m}/\text{ft}^3$)	(indust. pharm.)
ISO 4	10 000 = 10^4	10 = 10	
ISO 5	100 000 = 10^5	100 = 10^2	A et B
ISO 6	1 000 000 = 10^6	1 000 = 10^3	
ISO 7	10 000 000 = 10^7	10 000 = 10^4	C
ISO 8	100 000 000 = 10^8	100 000 = 10^5	D

A : au repos et en activité B, C et D : au repos

Tableau 9: Contrôle d'air : correspondance des contrôles particuliers entre l'US Fédéral Standard 209 et la norme ISO CD 14644-1 (*C. BROCARD-LEMORT, 2000*).

3-2- La propreté bactériologique

La propreté bactériologique est définie par la concentration en particules viables par mètre cube d'air (UFC/m³).

L'édition 98/05 bis du Bulletin Officiel des Bonnes Pratiques de Production et de Fabrication Pharmaceutiques propose quatre classes de propreté bactériologique, accompagnées de classes de propreté particulaire. Les autres industries telles que l'industrie agroalimentaire, l'industrie cosmétique sont également confrontées à la maîtrise des contaminants microbiologiques. Ne disposant pas de textes spécifiques les concernant, ces industries mettent en place des démarches HACCP qui leur permettent de définir leurs propres niveaux cibles ainsi que la fréquence optimale des contrôles microbiologiques.

Il est important de préciser que les différents niveaux de propreté bactériologique s'imposent pour des prélèvements réalisés dans des salles propres en activité.

Il convient de rappeler que la surveillance microbiologique de l'air, par prélèvement actif (aspiration d'air par un bio collecteur) et/ou passif (sédimentation sur boîte de Pétri), est généralement associée à des contrôles de surface (par géloses de contact). Dans le cadre des contrôles microbiologiques de routine, les recherches portent sur l'analyse quantitative de la flore aérobie mésophile totale.

Classe	Echantillon d'air en UFC/m³	Boîtes de Pétri (diamètre 90mm) en UFC / 4heures	Géloses de contact (diamètre : 55mm) en UFC / plaque	Empreintes de gant (5 doigts) en UFC / gant
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	/
D	200	100	50	/

Tableau 10 : Valeurs limites recommandées de contamination microbiologique
(Bonnes pratiques de fabrication. Bulletin Officiel n° 92/16 bis. Janvier 1993).

Pour les établissements de santé, les niveaux de propreté bactériologique sont définis dans la norme AFNOR NF S 90 351 et dans un guide technique ASPEC (Association pour la Prévention et l'Etude de la Contamination) « *Contrôles de l'environnement dans les zones à hauts et très hauts risques infectieux édition 1999* ».

La norme AFNOR définit 3 classes de propreté microbiologique, à réception d'une nouvelle installation.

Classe bactériologique	Concentration maximale en nombre de particules viables par mètre cube d'air
B 100	100
B 10	10
B	1

Tableau 11 : Classes de propreté bactériologique définies dans la norme **NF S 90 351**

Le guide *ASPEC* propose une autre classification de la propreté microbiologique de l'air, qui distingue plusieurs paramètres :

- Niveau de risque de la zone : hauts risques et très hauts risques ;
- Activité / non activité de la zone ;
- Bactéries / moisissures ;
- 3 niveaux : niveau cible, niveau d'alerte, niveau d'action.

▪ **Hygrométrie**

L'hygrométrie est un facteur technologique favorable ou défavorable : favorable en fromagerie, mal nécessaire pour le stockage des viandes fraîches, défavorable en confiserie ou dans la production de poudres.

De façon générale, les locaux de stockage permettent d'éviter une dessiccation trop accentuée des denrées périssables nues avec une hygrométrie de 85 à 90 %.

Dans les locaux de transformation, sensibles à la contamination microbiologique, la lutte contre l'humidité nous amène à une hygrométrie inférieure à 80 %. Dans les ateliers sensibles, notamment à la contamination par *Listeria monocytogenes* dans les produits d'origine carnée, un recyclage de l'air avec une déshydratation partielle est possible. Dans les locaux de production de

poudres, l'air est déshumidifié, avant sa filtration, par passage sur une batterie de condensation puis réchauffé.

Par contre, en fromagerie, des hygrométries supérieures ou égales à 98 % sont nécessaires à certaines phases de la fabrication. La condensation doit impérativement être chassée des ateliers agroalimentaires, et en tout premier lieu des tables où sont manipulées des denrées sans protection. Humidité et condensation favorisent le développement bactérien : on estime que la contamination microbienne de l'air chargé de vapeur d'eau s'élèverait d'environ 50 % en abattoir (*M. METAY, JF COLLOBERT, 2002*).

Chapitre III : Le contrôle de l'aérobiocontamination

Le risque de biocontamination aéroportée est difficile à quantifier en tant que tel. Volatil et instable par définition, il échappe plus facilement au contrôle que le risque de transmission de contaminants par les instruments ou les surfaces. Pourtant, il est évident que dans le contexte particulier des ateliers de transformation et de conditionnement de l'industrie agroalimentaire, la présence de sources internes de contamination et les paramètres physiques de l'air ambiant font que la transmission des micro-organismes par les particules constitue un des modes de contamination ou de recontamination des produits alimentaires.

L'air peut être un vecteur actif de la contamination car il peut transporter des microorganismes d'un lieu contaminé vers un lieu peu ou pas contaminé. L'air est aussi un vecteur passif car il va se charger progressivement en germes au contact des surfaces contaminées.

En conséquence, le maintien de la qualité microbiologique de l'air ambiant nécessite la maîtrise de la propreté des surfaces.

Par ce principe, l'évaluation de la qualité microbiologique de l'air peut permettre d'évaluer indirectement la qualité microbiologique des surfaces et vice versa.

A- Echantillonnage et analyse des aérosols microbiens

La collecte de bioaérosols biologiques est basée sur les mêmes principes d'échantillonnage que ceux des aérosols inertes. La principale différence est le maintien de leur activité biologique pendant et après les prélèvements. La gestion, le stockage et les analyses des aérosols collectés sont aussi très différents de ceux des particules physiques (**BARON et WILLEKE, 1993**) (**JENSEN et SCHAFER, 1998**).

Toutes les particules microbiennes ne réagissent pas de la même manière aux stress provoqués par :

- le prélèvement,
- le transfert jusqu'au laboratoire,
- les changements de conditions physicochimiques lors des prélèvements,
- leur traitement (dénombrement, analyses).

Certaines, comme les spores de champignons, de bactéries ou les pollens sont protégées par une enveloppe. D'autres en revanche sont fragiles et supportent mal le stress du aux changements. Les cellules végétatives bactériennes survivent dans l'air si elles sont protégées par la présence de substrat ou si elles sont adaptées à des environnements secs (**MACHER, 2000**).

Il n'y a pas de méthode universelle de prélèvement à cause de la diversité de matériel biologique. Le grand nombre d'études sur les différentes techniques de prélèvement et d'évaluation le montrent bien (**BARON et WILLEKE, 1993; MARONI, SEIFERT et al., 1995; JENSEN et SCHAFER, 1998; PASANEN, 1998; SALTHAMMER, 1999; PORTNOY, FLAPPAN et al., 2001**). Certaines se basent sur des prélèvements d'air (bioaérosols aéroportés) et d'autre sur des échantillonnages de surfaces (bioaérosols aérodéposés) (**CHASSEUR, 2002**). Une corrélation entre les résultats des différentes méthodes semble difficile.

1-Le prélèvement des bioaérosols

Pour évaluer le risque, on dispose de moyens assez indirects, basés sur les mesures de concentration en particules :

1. dans l'air avec une possibilité, grâce aux biocollecteurs, de quantifier en moyenne la présence de germes aéroportés dans un atelier.
2. des surfaces grâce à l'écouvillonnage ou ATPmétrie (étant donné la sédimentation des particules de l'air, celles-ci contribuent à l'évaluation de l'état d'hygiène de l'ambiance dans un atelier).

Ces analyses sont mises en œuvre selon des modalités différentes par les industriels dans le cadre de l'autocontrôle et par les services officiels d'inspection.

1-1- Evaluation de la contamination aéroportée

Lors de l'échantillonnage des bioaérosols quelques principes liés à la manipulation du matériel biologique sont à mettre en œuvre, à savoir :

- a) L'application des protocoles et l'utilisation du matériel dans des conditions aseptiques,
- b) La prise en compte de la viabilité des agents biologiques lors du prélèvement,
- c) L'utilisation de substrats de collecte spécifiques pour l'échantillonnage,
- d) L'emploi de méthodes d'analyses spécifiques à l'étude des agents biologiques

Les appareils destinés à l'échantillonnage des aérosols microbiens font appel à trois principes fondamentaux : l'impaction, la filtration et « l'impingement ». (Tableau 12).

Méthodes	Principe	Avantages	Inconvénients
Exposition de boîtes de pétri ouvertes	- Collecte des microorganismes sédimentant par gravité sur la surface gélosée d'une boîte de pétri ouverte pendant un maximum de 20 minutes	- Mise en œuvre simple, - Faible cout	- Sélection des germes (les plus gros), - Phénomène d'agglutination, - Faible surface, - Quantification, - Assèchement des boîtes, - Interprétation difficile.
Collecteur d'air par collision	- Collecte des germes dans un liquide.	- Bonne efficacité.	- Appareil fragile, manipulation rigoureuse.
Collecteur d'air par impaction	- Collecte des germes sur un milieu gélosé.	- Bonne efficacité, - Utilisation possible de boîtes de pétri standard.	- Efficacité variable selon les matériels, - Prendre garde au phénomène de saturation de l'appareil.
Collecteur d'air par filtration	- Filtration sur membrane puis dépôt de la membrane sur une surface gélosée.	- Faible coût, - Simplicité, - Bonne efficacité pour les levures et les moisissures.	- Manque d'efficacité sur les bactéries (stress dû à la déshydratation).
Collecteur d'air par centrifugation	- Aspiration d'air et projection des particules par force centrifuge sur une surface gélosée.	- Facilité d'emploi, - Faible coût de l'appareil.	- Ne détecte pas les petites tailles ($\varnothing < 1\mu\text{m}$). - Nécessité d'utiliser des bandelettes gélosées spécifiques.

Tableau 12 : Principales techniques d'évaluation de la contamination aéroportée (AMGAR A, 1998).

➤ Echantillonnage par impaction

C'est la technique la plus commune pour la collection de bioaérosols viables (**LJUNGQVIST, REINMULLER, 1998**).

L'air aspiré passe à travers une série d'orifices (grille) et les particules viennent s'impacter sur une surface cible (support de collecte) placée sur le trajet du flux d'air. Dans le cas des bioaérosols, la surface interposée est généralement un milieu de culture gélosé (figure 9).



Figure 9 : Aérobiocollecteur MASS-100 de type impacteur (**WIRTANEN, GUN et al, 2002**).

Il existe différentes méthodes d'impaction qui se différencient par les mécanismes mis en jeu pour collecter les particules, le support de collection et les caractéristiques du matériel utilisé. Selon ces critères, on peut distinguer les impacteurs à orifices circulaires, les impacteurs à fentes et les impacteurs centrifuges.

Les impacteurs mono-étage sont constitués d'un seul ensemble grille-support de collecte. Avec le débit de l'air échantillonné, les caractéristiques de la grille tels le nombre, le diamètre et la répartition des orifices, sont des éléments déterminants dans l'efficacité d'échantillonnage des appareils correspondants.

Les impacteurs multi-étages sont constitués d'une série de 2,6 ou 8 supports de collecte de sorte que les particules les plus larges soient déposées à l'étage initial et les particules les plus petites suivent le trajet de l'air jusqu'au dernier étage de l'appareil (figure 10). Les impacteurs multi-étages donnent plutôt des informations sur la taille des bioaérosols (**HENNINGTON, AHLBERG, 1994**).

En 1958, l'impacteur multi-stage Andersen a été développé et ça reste aujourd'hui le plus utilisé pour la récolte de bioaérosols (**ANDERSEN, 1958**).

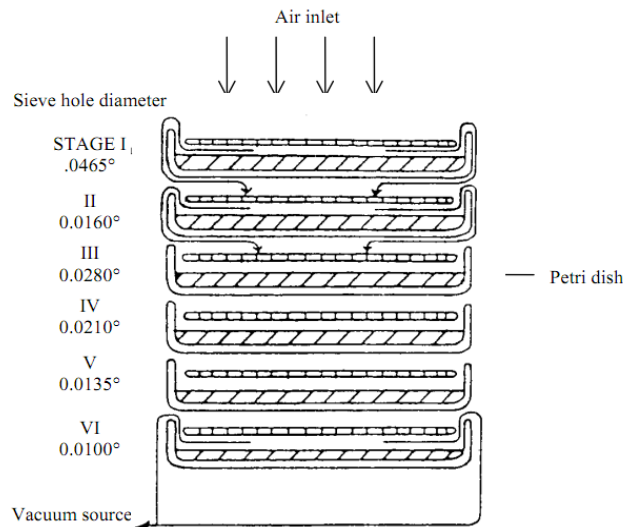


Figure 10 : Diagramme du 6-stage Andersen (**ANDERSEN, 1959**).

➤ **Echantillonnage par filtration**

La méthode par filtration consiste à séparer les particules de l'air en le faisant passer à travers un média filtrant. L'efficacité de captage est fonction de la vitesse d'aspiration et du diamètre de l'orifice d'aspiration. La collecte des particules par le filtre se fait par impaction ou par interception à la surface ou dans le réseau poreux du milieu filtrant. L'efficacité de collecte est fonction de la porosité et de l'épaisseur du filtre, du diamètre des particules et de la vitesse du flux d'air. En pratique, on utilise des filtres capillaires (type membranes en polycarbonate) ou des filtres poreux (type filtres en fibres de verre). L'analyse se fait soit directement en déposant le filtre sur un milieu de culture, soit indirectement après une étape de remise en suspension des micro-organismes dans un liquide.

➤ **Echantillonnage par « impingement »**

Le prélèvement par « impingement » consiste à provoquer un contact entre le flux d'air et un liquide de collecte (figure 11). L'efficacité de captage est fonction de la vitesse d'aspiration et du diamètre de l'orifice d'aspiration. Le liquide de collecte est généralement de l'eau ou une solution physiologique à laquelle peuvent être ajoutés des agents de protection contre les chocs osmotiques ou la dessiccation, des tensioactifs (**KANG ET FRANK, 1989a**). Après

l'échantillonnage, le liquide de collecte peut être dilué et il est compatible avec un grand nombre de méthodes d'analyse (culture sur milieu gélosé, microscopie, biologie moléculaire).

L'un des plus connu est le All Glass Impinger-30 Sampler.

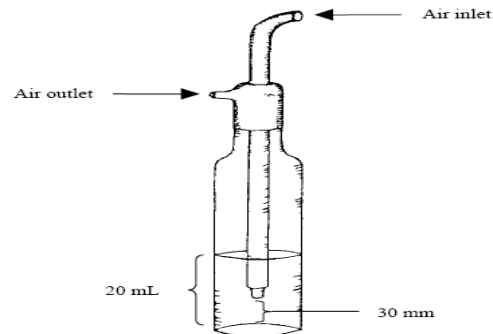


Figure 11 : AGI-30 Impinger (COX, 1987).

2-Transport des échantillons

Le transport des échantillons est une étape souvent négligée dans le processus de mesure des bioaérosols. Il a pourtant une influence essentielle sur le résultat final et doit répondre à des exigences spécifiques. En particulier, les conditions de transport doivent permettre de préserver, au mieux, les propriétés des échantillons qui seront exploitées pour l'analyse ultérieure. Ces conditions sont généralement définies en fonction du paramètre à analyser et de la nature de l'échantillon et doivent systématiquement être consignées. En effet, la physiologie de la population microbienne présente dans un échantillon est susceptible d'évoluer au cours du temps en fonction des conditions de transport. Par exemple, les échantillons destinés à des analyses par culture doivent être livrés le plus rapidement possible au laboratoire, dans les 24 heures après la collecte. La température de transport doit être suffisamment basse pour limiter le développement des micro-organismes sans, toutefois les détériorer. Sauf avis contraire lié à la présence de micro-organismes particuliers dans l'échantillon ou à l'exigence d'une norme, un transport à l'abri de la lumière dans une enceinte réfrigérée à 4° C peut convenir pour ce type d'échantillons ;

De plus, des mesures doivent être prises afin d'assurer qu'aucun élément extérieur ne puisse contaminer les échantillons pendant leur transport. Ces mesures doivent toutefois respecter la physiologie des micro-organismes échantillonnés. Par exemple, les filtres sont transportés dans leur cassette d'échantillonnage correctement rebouchée et positionnée de telle sorte qu'elle puisse

rester fixe pendant le transport. De même, il faut s'assurer que les boîtes de Pétri ne puissent pas s'ouvrir au cours du transport.

3- Analyse des échantillons

L'analyse est également une étape déterminante dans l'étude des aérosols biologiques. Les méthodes d'analyse des micro-organismes et de leurs produits sont très nombreuses et ont été revues à plusieurs reprises.

Selon la méthode de dénombrement utilisée il est possible de différencier la viabilité et la « cultivabilité » des microorganismes en conditions de laboratoire et de mettre en évidence leur activité métabolique.

Les cellules viables potentiellement reproductibles sont de deux natures : cultivables et non cultivables en conditions contrôlées. Un très petit nombre de bactéries terrestres et aquatiques sont cultivables (1 à 10%) et il est fort possible que cela soit vrai aussi pour les bioaérosols (**BURGE, 1995a**). Les milieux sur lesquels sont cultivés les microorganismes ont leur importance, car certains milieux sont sélectifs ou spécifiques et ne sont adaptés que pour la croissance et la mise en évidence de certains microorganismes (**BURGE, 1995a**).

➤ Méthodes microscopiques

Les microorganismes non viables sont incapables de se reproduire. Ils sont donc énumérés et identifiés par d'autres méthodes à savoir : la microscopie, microbiologie classique, microbiologie moléculaire et par des techniques immunochimiques (**JENSEN et SCHAFER, 1998**).

D'autres techniques comme le comptage direct de composants chimiques de la cellule microbienne et le comptage par microscopie existent et donnent des résultats immédiats.

➤ Méthodes par culture

Contrairement à ces méthodes dite nouvelles, les résultats des techniques mettant en œuvre la culture des microorganismes demandent un délai : le temps nécessaire de 24 heures à 48 heures pour la croissance des bactéries jusqu'au stade de colonies décelables à l'œil nu. Les résultats sont exprimés en UFC/cm² lorsqu'il y a comptage des colonies sur boîtes de Pétri ou rapportées par unité de volume en UFC/m³ d'air. Les résultats sont influencés par de nombreux facteurs : condition de culture (milieu de culture, température d'incubation, durée d'incubation) et fiabilité très variable des appareils de mesure (débit d'aspiration et efficacité de collecte) (**PARAT et PERDRIX, 1999**). Les méthodes avec cultures sont faciles à mettre en œuvre, mais en

contrepartie il en résulte souvent une sous-estimation de la concentration microbienne globale (**PASANEN, 1998**) rendant toutes comparaisons délicates.

➤ **Autres méthodes**

L'étude des bioaérosols peut être également envisagée sous le biais d'autres méthodes en vue de détecter des molécules entrant dans la composition ou le métabolisme cellulaire (enzymes, métabolites...). Ainsi, la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) est une méthode permettant l'analyse de certains constituants de l'enveloppe des cellules (acides gras membranaires, ergostérols, acides muramique...) et des composés organiques volatils microbiens. De même la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est une des nombreuses méthodes qui permettent de quantifier les mycotoxines. La méthode au Lysat au Lysat d'Amabocytes de Limules (LAL) par spectrophotométrie est utilisée pour doser les endotoxines et les bêta-D-glucanes. Des méthodes d'immunologie peuvent être utilisées pour la détection d'anticorps spécifiques d'allergènes d'animaux et de champignons. Enfin, les méthodes de biologie moléculaire comme la PCR (Polymérase Chain Reaction) quantitative sont présentées comme des méthodes rapides, très sensibles et très spécifiques et se développent fortement depuis quelques années (**STETZENBACH L.D. et al, 2004**).

B- L'évaluation de la contamination des surfaces

Elle peut être divisée en deux catégories : les méthodes directes et ou indirectes

1-Les méthodes directes

Elles consistent à prélever les contaminants résiduels par simple contact d'une gélose nutritive avec la surface étudiée. Le tableau 13 présente les méthodes directes d'évaluation de la contamination des surfaces les plus utilisées.

Méthodes	Principe	Avantages	Inconvénients
Boîtes contact	- Application d'un milieu gélosé sur la surface pendant 10 secondes avec une force de 500g. - Le milieu est contenu dans une boîte présentant un ménisque	- Mise en œuvre rapide. - Pas de manipulation ultérieure.	- Nécessité d'avoir des surfaces planes et sèches - Evaluation quantitative limitée

Pétrifilm	- Application d'un milieu gélosé après réhydratation.	- Utilisation de toute la surface pas de manipulation ultérieure - Nécessite peu de place pendant l'incubation	- Nécessité de réhydrater
Lames gélosées	- Idem boîtes de contact mais milieu gélosé est fixé sur une lame plastique	- Idem boîtes de contact - Facilité de manipulation, possibilité de milieux différents de chaque côté de la lame	- Idem boîtes de contact

Tableau 13: Présentation des principales méthodes directes (*AMGAR A, 1998*).

2-Les méthodes indirectes

Les méthodes indirectes nécessitent une à deux étapes intermédiaires réalisées le plus souvent en laboratoire de microbiologie. Le Tableau 14 présente les méthodes indirectes d'évaluation de la contamination des surfaces les plus utilisées.

Méthodes	Principe	Avantages	Inconvénients
Ecouvillonnage	- Application d'un écouvillon imbibé de diluant sur une surface délimitée	- Utilisation possible sur des surfaces non planes, peu accessibles et humides (dans ce cas pas de réhumidification au préalable de l'écouvillon), - Possibilité de dilution facilitant l'évaluation quantitative,	- Exige des manipulations ultérieures au prélèvement, - Nécessite le respect d'un délai bref entre le prélèvement et la mise en culture.

		- Recherche de germes spécifiques.	
Frottis	- Idem écouvillonnage, mais avec une éponge ou une gaze stérile.	- Idem écouvillonnage Surface de prélèvement plus grande.	- Idem écouvillonnage mais exige plus de précautions au niveau des prélèvements.

Tableau 14: Présentation des principales méthodes indirectes (*AMGAR A, 1998*).

3- Autre méthode : Bioluminescence ou ATPmétrie

La méthode ATP-métrie s'est fortement développée dans la vérification des opérations de nettoyage et de désinfection.

Les appareils de mesure de l'ATP ou bioluminescence basée sur la mesure du nombre de photons émis suite à une réaction impliquant le complexe luciférine-luciférase et l'ATP. Indirectement, ce principe permet d'évaluer la présence de matières organiques (si elles contiennent de l'ATP) et par conséquent de caractériser l'efficacité du nettoyage. Le nombre de photons émis est, en effet, proportionnel à la quantité d'ATP présent dans l'échantillon (*AMGAR A, 1998*).

Certains kits de mesure de l'ATP peuvent mettre en évidence l'ATP d'origine microbienne. Ils permettent ainsi de connaître la contamination des surfaces. Toutefois, la corrélation directe entre le nombre de germes présents sur la surface et la quantité d'ATP microbien lue est impossible. La quantité d'ATP présente dans une cellule vivante est dépendante de l'état physiologique de la cellule (*AMGAR A, 1998*).

Les avantages de ces méthodes sont la rapidité d'obtention des résultats immédiats et la simplicité de la mesure utilisable par les opérateurs. Toutefois, de nombreux essais et études doivent être menés préalablement à leur utilisation afin de vérifier leur adéquation à l'activité de l'entreprise. Un inconvénient toutefois est le coût relativement élevé des consommables au regard des méthodes classiques.

Ces techniques ne remplacent pas les techniques classiques d'évaluation de la contamination des surfaces mais les complètent ; car elles ne renseignent le microbiologiste que sur la flore totale résiduaire.

Chapitre IV- METHODES DE TRAITEMENT DE L'AIR

1- DEFINITIONS ET GENERALITES

Les microbes sont rarement isolés dans l'air, mais survivent sur les surfaces ou dans des liquides (**MORAWSKA, 2005**). L'air contient toutefois des aérosols à la surface desquels ou dans les quels peuvent survivre des microbes.

Le premier traitement de l'air dans un bâtiment s'opère généralement grâce à des filtres choisis en fonction de la qualité de l'air souhaitée. Cependant pour certaines applications, en particulier dans les établissements médicaux, d'autres traitements spécifiques sont appliqués conjointement.

La suppression des pollutions indésirables se traduit dans le domaine scientifique et médical par la pratique de la stérilisation et de la désinfection.

Selon l'AFNOR, la désinfection est une opération au résultat momentané permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus portés par des milieux inertes contaminés en fonction des objectifs visés. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes présents au moment de l'opération.

Il existe au moins 3 procédés pour désinfecter les surfaces d'un local :

- Les **désinfectants de contact** : produits liquides à application locale (descriptif des agents antimicrobiens et des mécanismes d'action en annexe IV).
- Les **rayons UV** : qui émettent une longueur d'onde bactéricide (253,7 nm), pour autant que le rayonnement soit direct, la surface suffisamment proche, la longueur d'onde stable et l'intensité suffisante.
- La **désinfection par voie aérienne (DVA)**, par la **diffusion de gaz** :
Généralement du formaldéhyde, la dispersion d'agents antimicrobiens sous forme de **sprays**, ou par l'intermédiaire d'appareils générateurs de microgouttelettes ou **aérosols**.

Il existe deux stades de DVA :

- la désinfection terminale hors présence humaine,
- la désinfection en présence humaine, qui exige en plus une innocuité des produits (**FLEURETTE, FRENEY et al., 1995**).

En règle générale, il est préférable de traiter l'air à sa production et de substituer l'entretien des gaines de ventilation et des systèmes de filtration à la DVA (**FLEURETTE, FRENEY et al., 1995**). Cette pratique quoique ancienne a l'avantage de traiter l'air et les surfaces, mais peut s'avérer dangereuse pour l'homme, en raison des produits utilisés.

Toutefois, ce procédé est appliqué dans les industries biotechnologiques, pharmaceutiques, cosmétiques, et agro-alimentaires car son efficacité est importante pour un coût relativement faible.

2-FILTRATION DE L'AIR

Si l'environnement est excessivement poussiéreux, la filtration de l'air admis dans la salle peut être envisagée. Le degré de filtration requis dépendra largement du type de production (**SMITH, 1997**). L'obtention d'une atmosphère dépourvue de microorganismes n'est possible qu'avec un traitement de l'air par filtration et avec un taux de renouvellement convenable (système de ventilation). En fonction des méthodes d'essai normalisées, les filtres sont classés selon leur efficacité à retenir les particules (**BOTTON et al, 1990**), de la manière suivante :

- les filtres à moyenne efficacité ou filtres dégrossisseurs protègent contre les insectes, le pollen, etc. ils sont généralement utilisés comme préfiltres dans les installations de climatisation mais non dans les installations où la pureté de l'air est un critère important.
- Les filtres à haute efficacité ou filtres fins sont testés avec de l'air atmosphérique (essai opacimétrique) et sont classés par une valeur exprimée en pourcentage qui traduit leur efficacité en débit nominal :
 - 49-69 % : séparation des particules (pollen). Effets limités à l'égard de la fumée et des particules salissantes (suie, brouillard d'huile). Leur emploi est important dans les installations de chauffage et de climatisation de salles.
 - 70-89 % : efficaces à l'égard de tous les types de poussières, y compris les particules salissantes. Dans la gamme d'efficacité supérieure, ils sont capables de retenir les particules fongiques et bactériennes. Ils sont employés dans les installations de climatisation et de ventilation des laboratoires, salles de soins ou de préparations.
 - 90-96 % : très efficaces à l'égard des particules salissantes et des bactéries, ils s'appliquent à des salles de stérilisation, d'emballages stériles ou à des laboratoires de recherche.
- Les filtres à très haute efficacité ou filtres ultra-fins, testés selon d'autres normes, ont une très grande efficacité à l'égard des bactéries, de la poussière radioactive, ainsi que de la fumée et des aérosols de toute nature.
 - 85-94 % : les salles de stérilisation, les salles d'opération ou les laboratoires spéciaux exigeant de l'air très pur sont équipés de tels appareillages

- 95-99 % : ils sont utilisés dans les salles blanches et les postes de travail stériles, dans les stations expérimentales d'élevage très sensibles aux risques d'infection, dans les salles d'opération et de stérilisation, dans les industries pharmaceutiques.
- > 99,7 % : c'est le pouvoir séparateur maximal à rechercher lorsque la pureté de l'air est de la plus haute importance : laboratoires bactériologiques stériles, postes de travail stériles, salles d'opération stériles.

En industrie agroalimentaire, la pose d'un système de filtration de l'air doit tenir compte du cout de revient. Généralement les filtres à très hautes efficacité ne sont pas nécessaires.

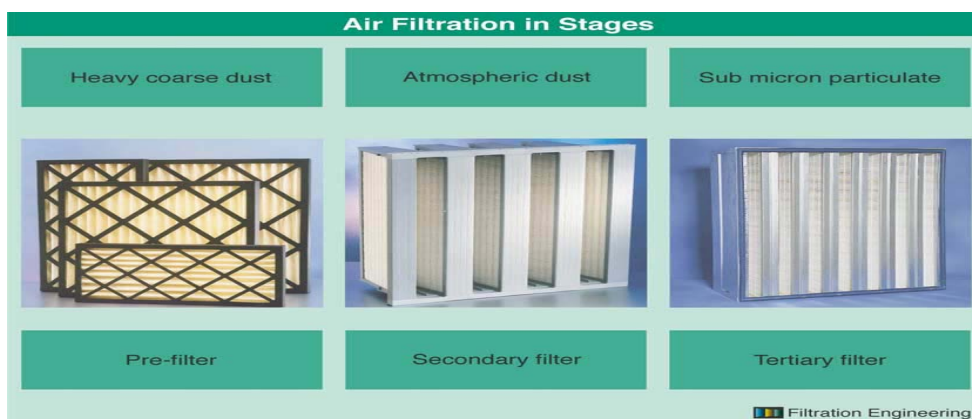


Figure 12 : Photo de filtres primaires, secondaires et tertiaires (*EHEDG, 2006*).

3-UTILISATION DE GAZ

FORMALDEHYDE (*Formol gazeux, aldéhyde formique*) :

L'efficacité et le pouvoir de diffusion du formaldéhyde gazeux sont à l'origine à la fois de ses avantages et de ses inconvénients. Son spectre d'action très large, actif sur les formes végétatives et sporulées, des microorganismes, et sa capacité à atteindre les endroits les plus inaccessibles en font le procédé considéré comme le plus efficace.

Pour être efficace, la concentration de formaldéhyde gazeux doit être de 2 à 4 g/cm³, avec une humidité relative d'environ 80 % et un temps de contact de 2 heures. Cette désinfection a son utilité dans la lutte contre les infections nosocomiales. Elle permet de résoudre le problème posé par le matériel ne pouvant être stérilisé par aucun autre procédé. Toutefois, le formaldéhyde est corrosif. Il peut s'adsorber à la surface des objets ou diffuser dans la matière, puis se désorber après leur sortie de l'enceinte de désinfection (*FLEURETTE, FRENEY et al., 1995*).

Une utilisation optimale de ce produit requiert des conditions souvent difficiles à réaliser : nécessité d'une parfaite étanchéité des locaux et du maintien des conditions de température et d'humidité relative élevée (80 %), une neutralisation finale et totale par l'ammoniac pour éviter tout risque de résidus toxiques et très irritants (**WACK E., 2000**) (**CHANTEFORT A., 1994**).

A titre comparatif, dans l'air extérieur les concentrations de formaldéhyde habituellement rencontrées sont très faibles et pratiquement toujours inférieures à $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$. À l'intérieur (Tableau 15) la valeur maximale admise par l'OMS pour des personnes normales et non sensibilisées est de $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ avec une limite d'exposition de 30 minutes.

La concentration limite fixée par l'OFSP est $125 \mu\text{g}/\text{m}^3$ dans les pièces habitées.

Cependant, dans certains cas, ces concentrations peuvent être nettement supérieures et dépasser $1\text{mg}/\text{m}^3$ (**ROULET, 2004**).

CONCENTRATIONS (mg/m^3)	OBSERVATIONS
0,03 – 0,6	Odeur perceptible
0,6 – 1,2	Irritation des yeux
5 – 6	Larmes, pénible à supporter
37-60	Danger immédiat pour la santé
60-125	Décès

Tableau 15: Concentrations intérieures en formaldéhyde et effets sur l'homme (**PIBIRI, 2006**).

4- UTILISATION DE DISPERSATS

L'utilisation de dispersats est plus pratiquée que la diffusion de gaz. Il existe deux sortes de dispersats (**WACK E., 2000**) (**CHANTEFORT A., 1994**):

- les dispersats non dirigés, appelés AEROSOLS. La mise en œuvre du procédé est simple, pratique, peu onéreuse et ne nécessite aucune présence humaine. Le résultat est un film uniforme de désinfectant qui couvre l'ensemble des surfaces.

Le temps pour arriver à ce résultat est relativement long, 4 heures en général. Pour les formulations à base de formaldéhyde, les contraintes sont identiques au procédé gazeux.

- les dispersats dirigés, appelés SPRAYS. D'utilisation manuelle, ce procédé a l'avantage de pouvoir être utilisé dans des locaux non étanches ou d'occupations permanentes car la brièveté de leur application permet une réutilisation rapide des lieux. Pour l'AISS ce procédé devrait être

proscrit. La toxicité et la forte teneur en alcool des formulations nécessitent des précautions indispensables quand à la protection du personnel contre les intolérances, le risque d'inflammabilité potentiel et la responsabilité d'une utilisation non conforme ou insuffisante. De plus, on lui reproche un certain manque d'efficacité « in situ ».

5- DESINFECTION PAR VOIE AERIENNE

Le principe de la D.A ou de la D.V.A.S consiste à la mise en suspension dans l'air de particules de désinfectant de petite taille ($<10\mu\text{m}$). Cette désinfection est un complément à la désinfection par pulvérisation car elle permet de traiter les surfaces difficiles d'accès (figure 13). Pour les industries du secteur alimentaire, une quantité de 5ml de solution désinfectante par m^3 d'air est préconisée.

Rendre l'air non contaminant est probablement un moyen permettant de produire des aliments encore plus surs. Cependant, toutes les industries alimentaires ne possèdent pas encore de salles blanches ou salles microbiologiquement maîtrisées principalement destinées aux industries électroniques ou pharmaceutiques. C'est pourquoi, il est préférable de s'orienter vers des solutions spécifiques aux industries agroalimentaires et à chaque type de production (**DRUILLE J, 1983**). La différence entre la désinfection d'ambiance dépend essentiellement de la taille des particules générées par le matériel de désinfection (Tableau 16).

	Désinfection d'ambiance	Désinfection par voie aérienne des surfaces
Nature de la désinfection	Air et surfaces	Surfaces
Nom générique du matériel de désinfection	Aérosolisateur	Brumisateur
Source énergétique de propulsion	Electricité	Air comprimé et/ou électricité
Taille moyenne des particules générées	Environ $1\mu\text{m}$	Environ $10\mu\text{m}$
Temps moyen nécessaire pour traiter 1000 m^3	60 minutes	20 minutes
Temps de sédimentation des particules	Quelques heures	Quelques dizaines de minutes
Secteur d'activité	Hospitalier	Agro-alimentaire

Tableau 16: principales caractéristiques de la désinfection d'ambiance et de la désinfection par voie aérienne des surfaces (**DRUILLE J, 1983**).

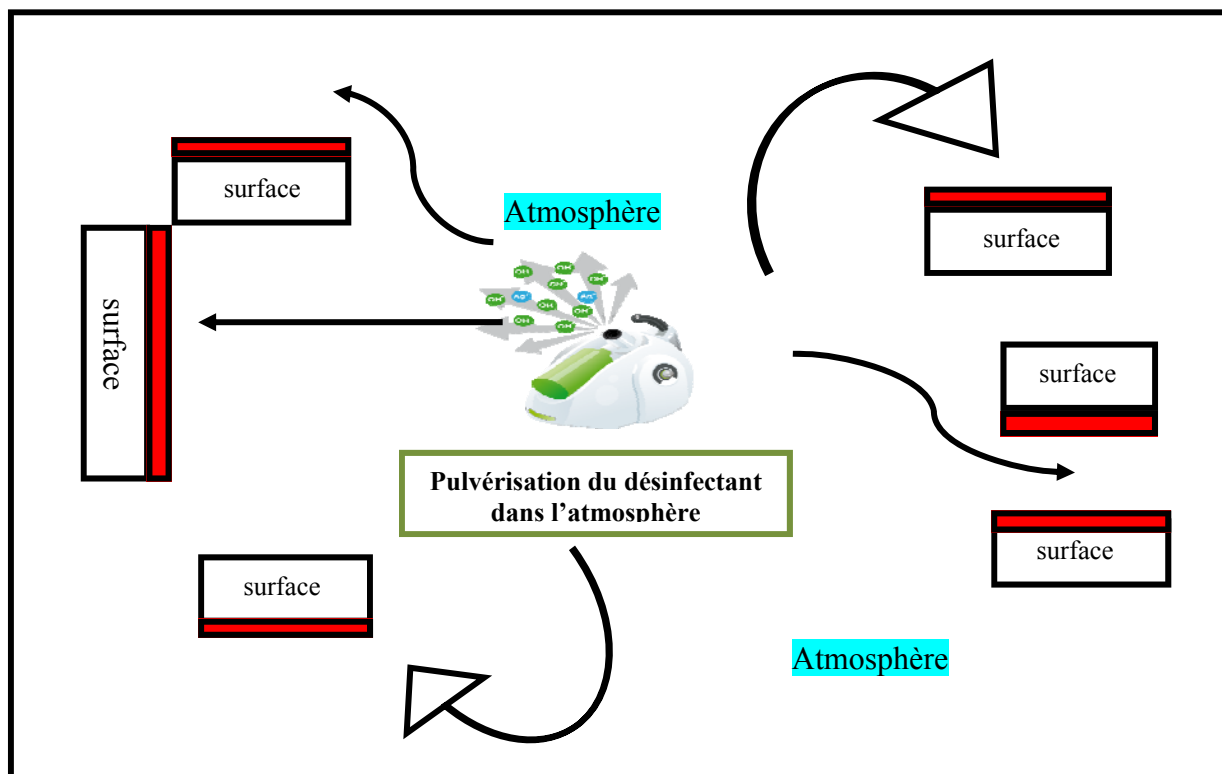


Figure 13: Schéma représentant le principe de la DVA (schéma personnel).

V- CONCLUSION

L'air constitue avec le sol, les surfaces et l'eau, un des facteurs d'environnement pouvant être à l'origine d'une contamination des produits agro-alimentaires.

L'aérobiocontamination se définit comme la contamination des produits par l'air, véhicule qui transporte, sur des particules de différentes tailles, des micro-organismes indésirables, dangereux ou nuisibles.

Face aux exigences réglementaires, économiques et à la concurrence, les industries agroalimentaires cherchent de plus en plus à améliorer la qualité de leurs produits en mettant en place des procédures et des règles d'autocontrôle afin de maîtriser les différents contaminants.

Il est à noter, que si le traitement des surfaces ainsi que leur conception sont aujourd'hui bien normalisés en agroalimentaire, le traitement de l'air et sa maîtrise, autrefois une préoccupation des industries de pointe : électronique et aérospatiale, s'impose de plus en plus aux entreprises du secteur agroalimentaire ; mais il s'agit encore d'un procédé fastidieux que les professionnels du secteur commencent à peine à maîtriser.

I-OBJECTIFS

Depuis longtemps, plusieurs études ont été menées dans le but d'évaluer la qualité microbiologique du produit alimentaire ou des surfaces en contact avec celui-ci. On a pu alors identifier et quantifier la flore d'altération et/ou pathogène présente dans les aliments et sur les surfaces.

Pour ce qui est de la flore aérienne présente dans l'environnement agroalimentaire, peu de travaux ont été réalisés. Il faut savoir que l'étude de l'aérobiocontamination au même titre que l'étude de la contamination des surfaces devient de plus en plus déterminante pour évaluer la qualité microbiologique d'une denrée alimentaire.

C'est dans cette optique que cette étude a été réalisée et répond aux objectifs suivants :

- Evaluer la qualité microbiologique de l'air portant sur la flore mésophile totale et les levures moisissures par un aérobiocollecteur dans différentes unités de transformation alimentaires au niveau de la wilaya d'Alger,
- Evaluer l'état de propreté des surfaces par ATPmétrie,
- Mesurer deux paramètres environnementaux : température, humidité et rechercher une potentielle corrélation avec la concentration en bioaérosols,
- Mettre à disposition des industriels des techniques d'autocontrôle simples et utilisables dans le cadre d'un système d'assurance qualité type HACCP.

II-MATERIELS ET METHODES

1- Echantillonnage

Sept unités agroalimentaires d'activités différentes localisées à la wilaya d'Alger ont été sélectionnées pour notre étude qui s'est déroulée de janvier 2010 à Mai 2010 (Tableau 17)

Sur les 27 sites de prélèvements choisis en fonction du risque élevé de contamination, ont été réalisés :

- Une analyse microbiologique de l'air ambiant par aérobiocollecteur portant sur le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale et le dénombrement des levures/moisissures,
- Un contrôle de propreté par ATPmétrie portant sur les surfaces des sites retenus,
- Des mesures de température et d'hygrométrie.

Tous les prélèvements ont été analysés dans le laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV

Entreprise N°	Type de production	Date du prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre de sites	Sites d'échantillonnage
1	Viande hachée surgelée	15-01-2010	10	5	-salle de préparation (découpage) -salle de préparation -chambre froide -salle de production -salle de conditionnement
2	Abattoir bovins/ovins	15-01-2010	6	3	-salle d'abattage -salle de préparation des abats -chambre froide
3	Laiterie	21-02-2010	10	5	-atelier recombinaison -atelier production lait UHT -atelier pasteurisation et conditionnement -atelier production beurre -chambre froide
4	Fromagerie	11-03-2010	10	5	-chambre froide -salle production barre -salle préparation broyage -salle production minibarre -salle production portion
5	Restaurant universitaire	08-05-2010	6	3	-chambre froide -cuisine centrale -salle de service
6	Abattoir volaille	10-05-2010	6	3	-chambre froide

					-salle d'abattage -réception volaille
7	Laiterie	11-05-2010	6	3	-chambre froide laiterie -salle production lait -salle production fromage
Total			54	27	

Tableau 17 : Tableau récapitulatif d'échantillonnage

2- Logigramme

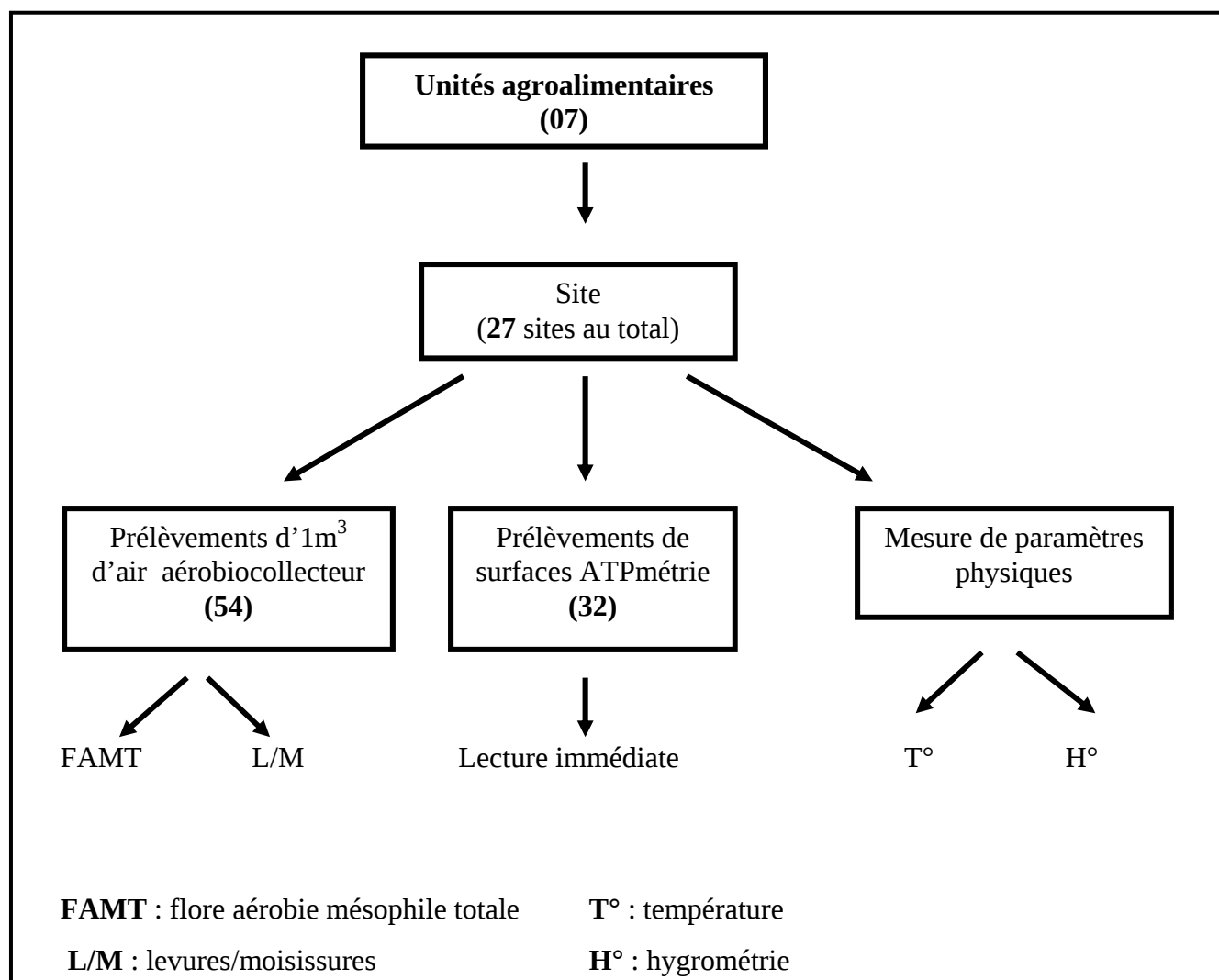


Figure 14: Logigramme.

3- Matériels

a) Matériel de microbiologie

- Boites de Pétri,
- Bec bunsène,
- Glacière portative,
- Etuve à 37°C,
- Compteur de colonies,
- Milieux de culture : PCA (Plat Count Agar) et Milieu Sabouraud sans chloramphénicol (Annexe1).

b) Aérobiocollecteur de type impacteur Microflow AQUARIA (Annexe2).

c) ATPmètre KIKOMAN luminester PD 10 (Annexe3).

d) Mesure de la température et de l'hygrométrie

Avec un « Multiparamètre TESTO 175 » c'est un appareil à capteur de température et d'hygrométrie incorporés, enregistre jusqu'à 16000 valeurs de température à une cadence de mesure programmée entre 1seconde et 24heures.

3- Méthodes

3-1-Prélèvements d'air

Nous avons utilisé la méthode dite d'impaction sur gélose à l'aide d'un aérobiocollecteur de marque MICROFLOW AQUARIA (figure 15).



Figure15: Aérobiocollecteur MICROFLOW AQUARIA (photo personnelle).

Cette méthode a été choisie pour sa facilité, sa rapidité d'exécution et pour sa précision. En effet l'appareil peut être programmé pour aspirer un mètre cube d'air à chaque essai.

Principe

L'appareil utilisé est un aérobiocollecteur MICROFLOW AQUARIA portatif, qui permet de réaliser des prélèvements microbiologiques d'échantillons d'air.

Son fonctionnement est basé sur le principe d'impactation. L'échantillon d'air est aspiré et canalisé à travers une grille de prélèvement. L'air est accéléré par une turbine et dirigé sur la surface d'une boîte de gélose nutritive sous la grille.

Le débit d'air est de 100 L/mn et la vitesse de l'impact est supérieure à 20 m/s ; ce qui garantit la collecte efficace, quantitative et non agressive des particules d'air. La capacité de récupération, pour se développer sur la gélose, des micro-organismes (champignons et bactéries) présents dans l'air, après le processus de prélèvement, est ainsi conservée.

(http://www.biomerieux.com/servlet/srt/bio/portail/dynPage?doc=PRT_PRD_IND_CT_L_AIR)

Technique

- Avant chaque essai les surfaces externes ainsi que les parties amovibles de l'appareil ont été stérilisées puis désinfectées par une solution d'ammonium quaternaire à 3%.
- Positionner l'appareil au centre de la salle à une hauteur de 2m à l'aide d'un trépied (**Figure 16**).
- Déposer entre les mâchoires de fixations (ergots) une boîte de gélose avec couvercle,
- Enlever le couvercle de la gélose et la recouvrir du crible,
- Programmer l'appareil en suivant les différentes étapes du logigramme fourni avec l'appareil,
- Après 10minutes correspondant à l'aspiration d'un mètre cube d'air, changer de boîte et refaire une nouvelle programmation avec l'autre milieu de culture,
- Noter sur chacune des boîtes, le site, le jour et l'heure du prélèvement.



Figure 16 : Les différentes étapes de prélèvements d'air à l'aide d'un aérobiocollecteur (photo personnelle).

Les boîtes de Pétri ont été transportés dans une glacière au laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV pour y être incubées à 37°C pendant 48H pour la recherche et le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale et à 25°C pour la recherche des levures et moisissures pendant 5jours.

Les résultats seront interprétés selon le tableau suivant :

Germes	Bactéries En UFC/m ³	Moisissures En UFC/m ³
Niveau d'action	500	100
Niveau d'alerte	100	10
Niveau cible	10	< 10

Tableau 18 : Recommandations ASPEC de surveillance microbiologique de l'air dans les industries agroalimentaires (ASPEC, 2008).

3-2-Prélèvements de surface

Les écouvillonnages de surfaces ont été réalisés à l'aide d'un ATPmètre de marque KIKKOMAN, luminester PD 10 ; il s'agit là d'un luminomètre portable pouvant mesurer facilement et rapidement en 10 secondes la luminosité d'un objet. Il contient une photodiode dans son organe détecteur à haute sensibilité et faible émission de bruits. Son domaine de mesure se situe de 0 à 999.999 URL.

Principe

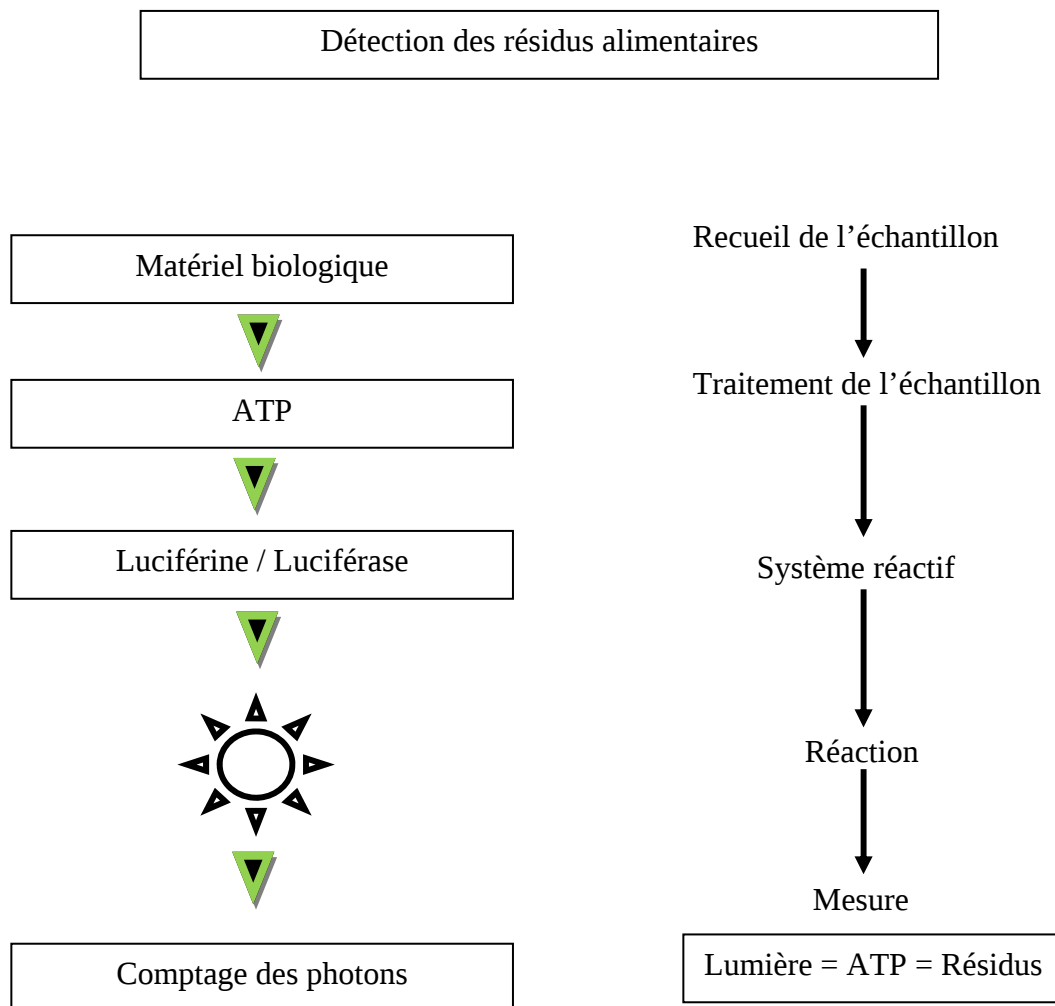


Figure 17: Principe de fonctionnement d'un ATP-mètre (*BARRILLER, 1997*).

Technique

Les étapes d'utilisation sont les suivantes :

A l'aide d'un écouvillon stérile « lucipac W » se présentant sous forme d'un stylo, on frotte la surface à prélever (10cm/10cm) en effectuant des mouvements verticaux et horizontaux en veillant à ce que toutes les faces de l'écouvillon soient imprégnées.

Placer ensuite l'écouvillon dans l'ATPmètre.

Après 10 secondes celui-ci indique le résultat exprimé en Unité Relative de Lumière URL (**figure 18**).



Figure18: Les étapes d'écouvillonnage de surface avec un ATPmètre.

Les résultats obtenus sont interprétés selon les limites L1 et L2 prédéfinis par le fabricant de l'appareil :

L1 : 200 URL ; L2 : 500 URL

Si le résultat est à L1 : surface propre,

Si le résultat est à L2 : surface sale,

Si le résultat se situe entre L1 et L2 : surface à état hygiénique moyen.

3-3-Relevés de température et d'hygrométrie

Nous avons également effectué des mesures d'hygrométrie et de température à l'intérieur des bâtiments dans chacun des sites. Tous les relevés sont consignés dans les tableaux 19 à 25.

III-RESULTATS

1-Les résultats par unité

Les résultats des différents prélèvements d'air ambiant ainsi que ceux de l'ATPmétrie et des mesures de température et d'hygrométrie sont rapportés dans les tableaux 19 à 25.

Des colonies bactériennes de FAMT et de levures/moisissures ont été dénombrées dans les boîtes de gélose correspondantes.

La figure 19 représente la photo de la boîte de gélose après incubation. Les colonies bactériennes sont reconnaissables sur la gélose de la boîte de prélèvement d'air ambiant.

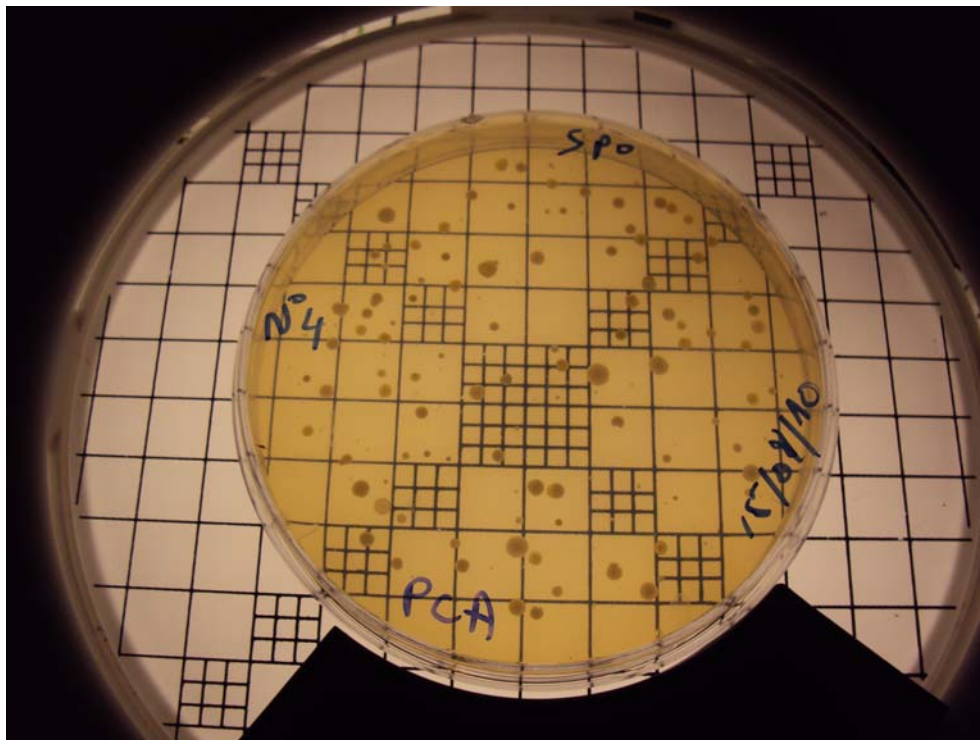


Figure 19 : Boîte de gélose PCA après incubation.

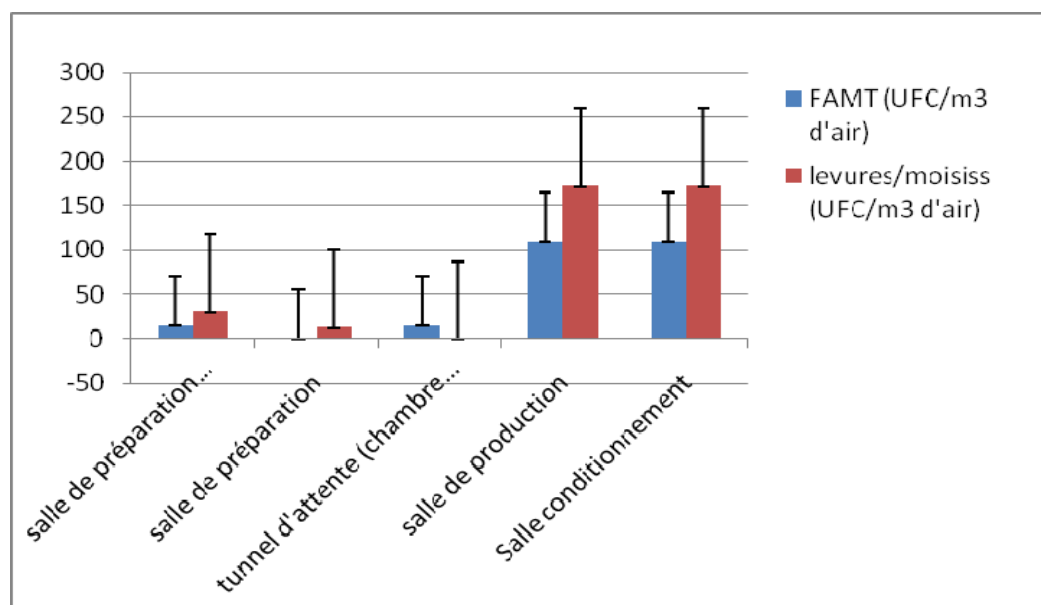
➤ Unité steak haché surgelé

Sites de prélèvements	FAMT UFC / m ³	L/M UFC / m ³	Moyenne ATPmètrie (URL)	T° (°C)	H° (%)
Salle de préparation	15	31	8574	14	70,6
Salle de préparation	IND	13	7721	14,2	52,5
Chambre froide	15	IND	111	-6	37,3
Salle de production	110	172	23681	8,6	53,6
Salle de conditionnement	110	172	11282	14,02	77
Moyenne	62,50	97	10273,8	8,964	58,2
Ecartype	54,85	86,91	8565,31	8,69	15,79

Tableau 19 : Résultats de l'unité de production de steak haché surgelé.

FAMT : flore aérobie mésophile totale T° : température IND : indénombrable

L/M : levures/moisissures H° : hygrométrie

**Figure 20** : Evolution de la contamination aérienne de l'unité de steak haché surgelé.

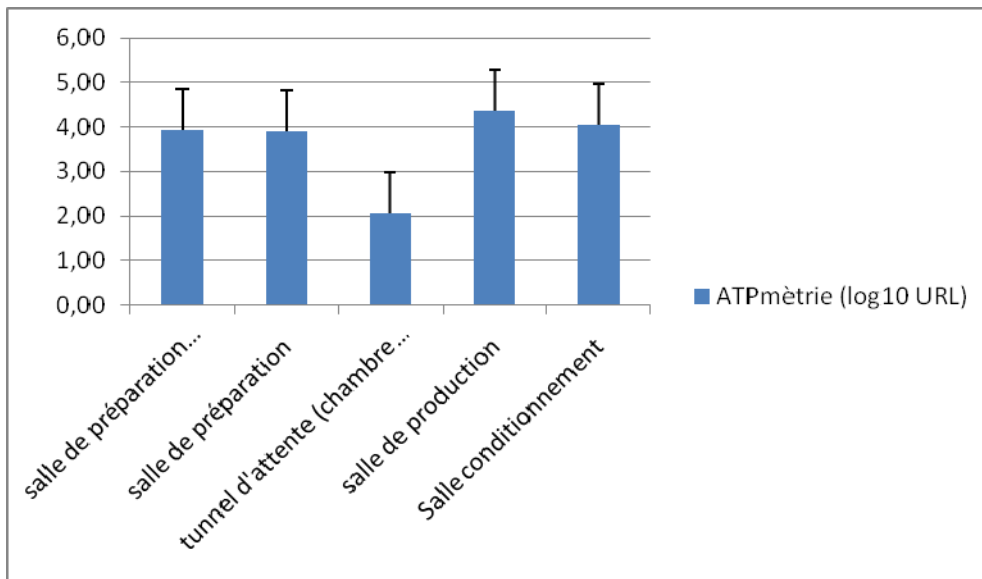


Figure 21 : Evolution de l'ATPmètrie de l'unité de steak haché surgelé.

Dans le tableau ci-dessus on remarque que trois zones à très haut risque de contamination à savoir : la salle de préparation de la matière première, la salle de production et la salle de conditionnement ont un taux très élevé de FAMT (**< 110UFC / m³ d'air**). Ce qui correspond au niveau d'alerte des recommandations de l'ASPEC.

Pour les levures moisissures, leur nombre dépasse largement les **10UFC/m³ d'air** recommandé par l'ASPEC. Ce qui correspond au niveau d'alerte.

Pour les résultats de l'ATPmètrie le taux moyen de cette usine de steack haché est de **10273,8 URL** et dépasse les **500 URL** ce qui correspond à des surfaces sales.

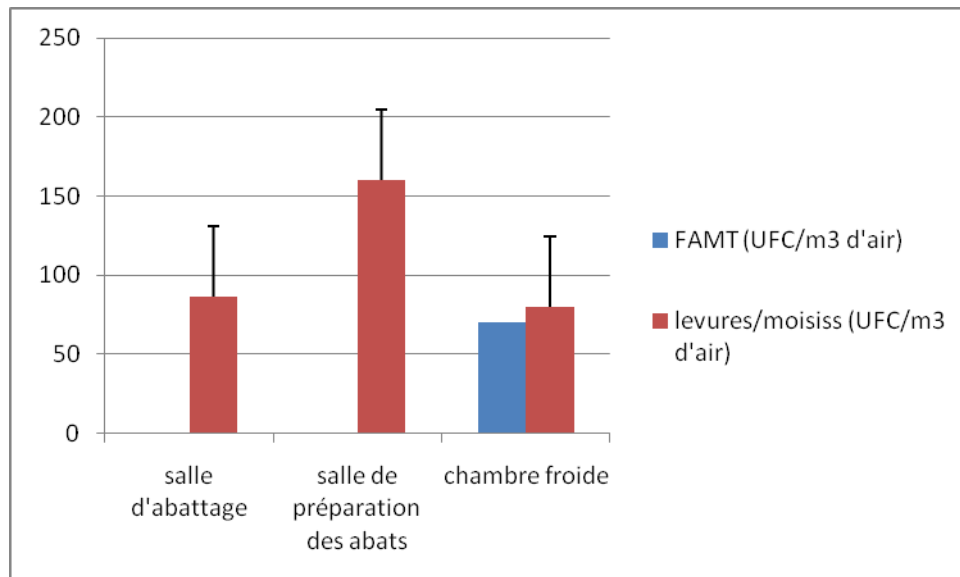
➤ Abattoir bovins/ovins

Sites de prélèvements	FAMT UFC / m ³	L/M UFC / m ³	Moyenne ATPmètrie (URL)	T° (°C)	H° (%)
Salle d'abattage	IND	86	22313,5	15	71,3
Salle préparation des abats	IND	160	7186	15,8	70,6
Chambre froide	70	80	50000	4	79
Moyenne	70	32,11	15140,47	11,6	41,46
Ecartype	/	44,56	21711,83	6,59	4,66

Tableau 20 : Résultats de l'abattoir bovins/ovins.

FAMT : flore aérobie mésophile totale T° : température IND : indénombrable

L/M : levures/moisissures H° : hygrométrie

**Figure 22** : Evolution de la contamination aérienne de l'abattoir bovins/ovins.

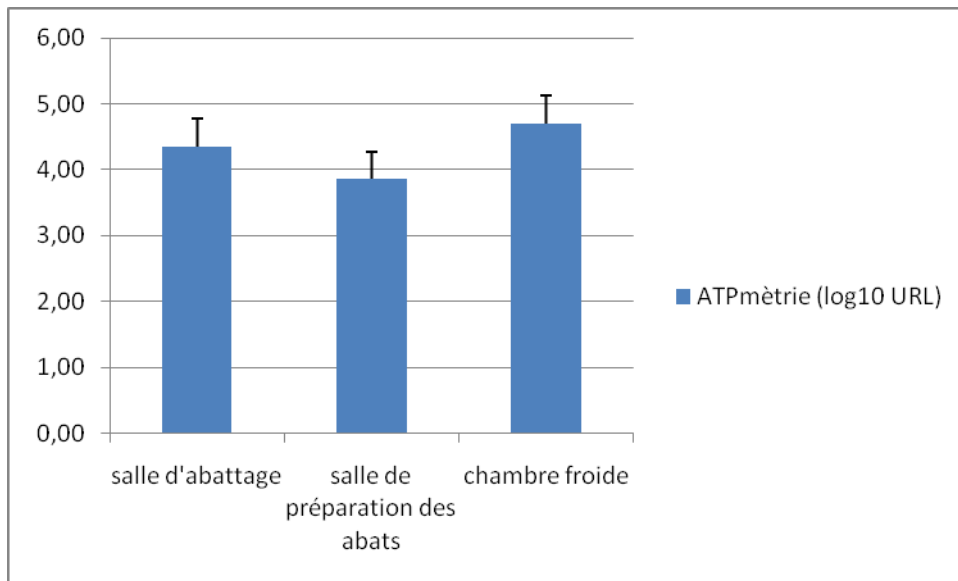


Figure 23 : Evolution de l'ATPmètrie de l'abattoir bovins/ovins.

Pour la FAMT :

Les résultats sont supérieurs à **100UFC/ m³ d'air** ce qui place l'abattoir en niveau d'alerte selon les recommandations de l'ASPEC.

Pour les levures/ moisissures :

Les résultats sont supérieurs à **10UFC/m³ d'air** ce qui correspond au niveau d'alerte.

Pour l'ATPmètrie :

La moyenne des prélèvements : **15140,47 URL** dépasse largement les **500URL** ce qui correspond à des surfaces sales.

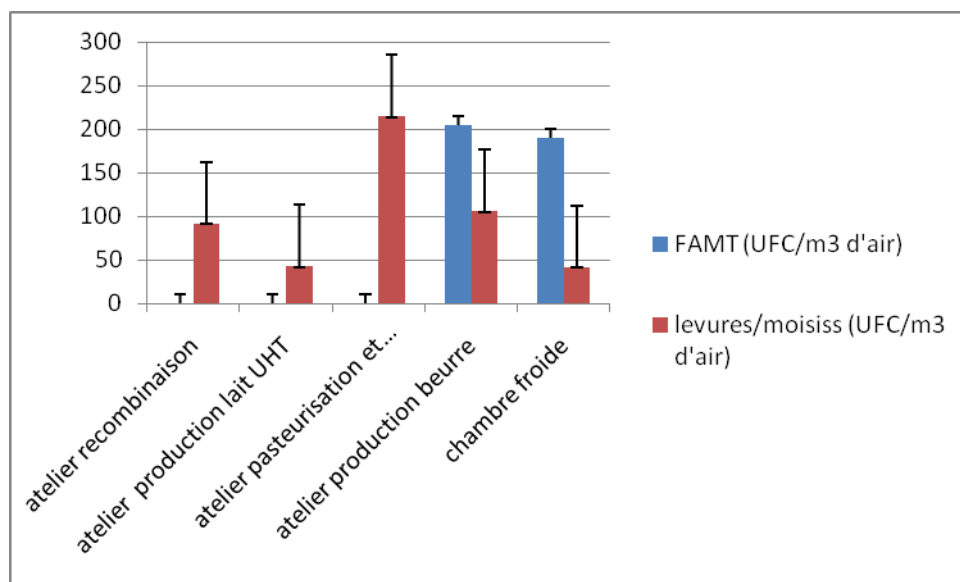
➤ Unité laiterie n°1

Sites de prélèvements	FAMT UFC / m ³	L/M UFC / m ³	ATPmètrie (URL)	T° (°C)	H° (%)
Atelier recombinaison	IND	92	3318	14	63,9
Atelier production lait UHT	IND	43	7067	20	39,3
Atelier pasteurisation et conditionnement	IND	215	16634	18,4	56
Atelier production beurre	205	106	28852	14,4	54
Chambre froide	190	42	1819	3	33
Moyenne	197,5	99,6	11538	13,96	49,24
Ecartype	10,61	70,60	11266,78	6,64	12,71

Tableau 21 : Résultats de la laiterie n°1.

FAMT : flore aérobie mésophile totale **T°** : température **IND** : indénombrable

L/M : levures/moisissures **H°** : hygrométrie

**Figure 24** : Evolution de la contamination aérienne de la laiterie n°1.

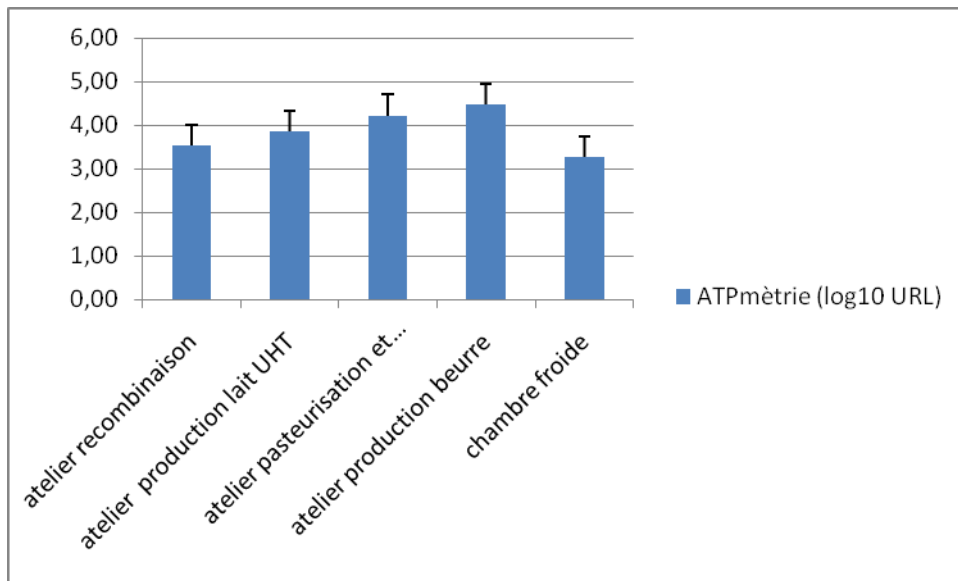


Figure 25 : Evolution de l'ATPmètrie de la laiterie n°1.

Pour la FAMT :

Les résultats sont très élevés : moyenne de **190 UFC/m³ d'air** et correspondent au niveau d'alerte des recommandations de l'ASPEC pour les zones à très haut risque infectieux.

Pour les levures moisissures :

La moyenne des résultats (**99,6 UFC/m³ d'air**) obtenue est 10 fois supérieure au niveau d'alerte recommandé par l'ASPEC (**10UFC/m³ d'air**).

Pour l'ATPmètrie :

La moyenne est de **11538 URL** correspondant à des surfaces sales.

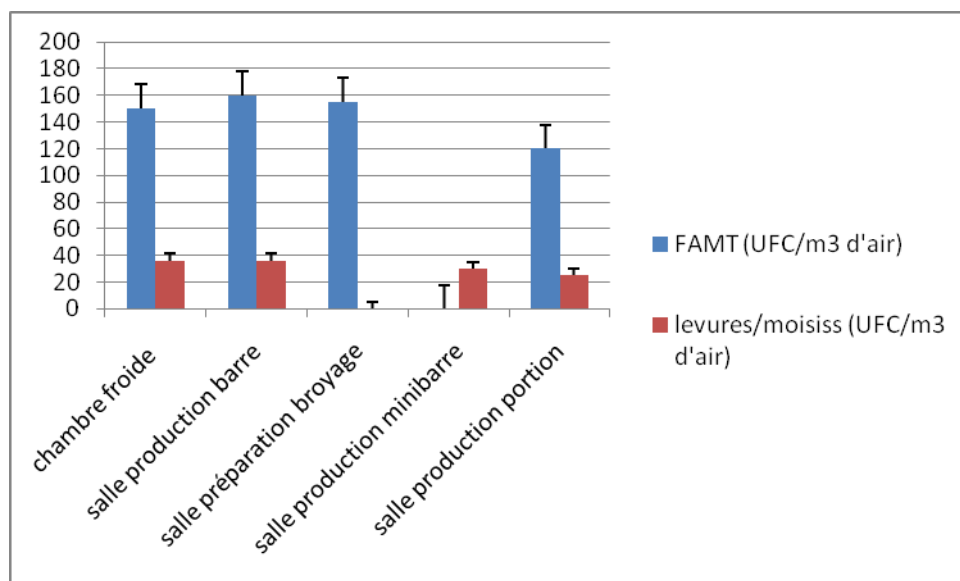
➤ Unité fromagerie

Sites de prélèvements	FAMT UFC / m ³	L/M UFC / m ³	ATPmètrie (URL)	T° (°C)	H° (%)
Chambre froide	150	36	2954	<u>15</u>	45,5
Salle production barre	160	36	3007	21	50
Salle préparation (broyage fromage)	155	IND	14547	19	56
Salle production minibarre	IND	30	6436	19,6	37
Salle production portion	120	25	1718	20,8	47
Moyenne	146,25	31,75	5732,4	19,08	47,1
Ecartype	17,97	5,32	5231,04	2,43	6,93

Tableau 22 : Résultats de l'unité fromagerie.

FAMT : flore aérobie mésophile totale **T°** : température **IND** : indénombrable

L/M : levures/moisissures **H°** : hygrométrie

**Figure 26** : Evolution de la contamination aérienne de l'unité fromagerie.

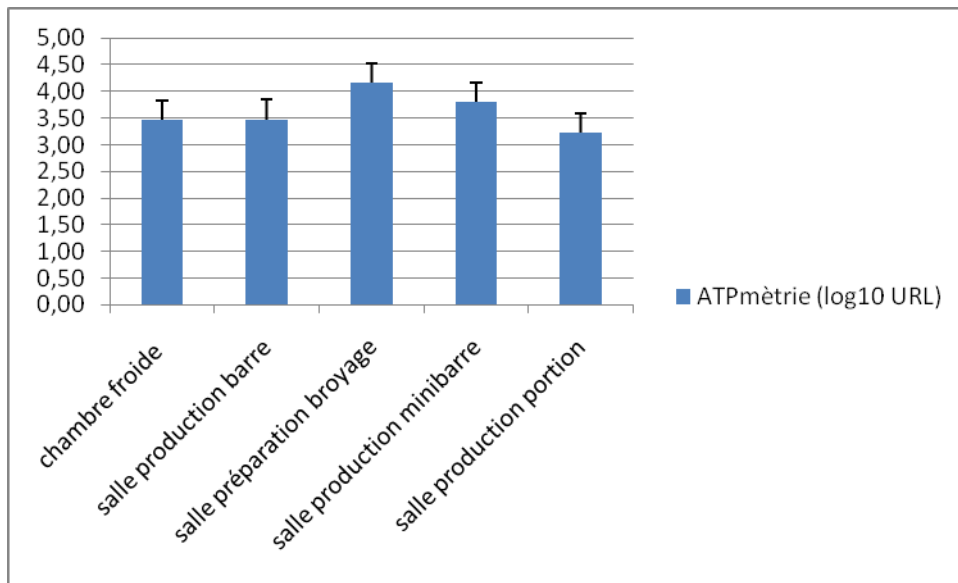


Figure 27: Evolution de l'ATPmètrie de l'unité fromagerie.

Pour la FAMT :

La moyenne des résultats de la flore mésophile totale est de **146,25 UFC/m³ d'air** ce qui correspond au niveau d'alerte.

Pour les levures moisissures :

La moyenne est de **31,75 UFC/m³ d'air** ce qui correspond au niveau d'alerte

Pour l'ATPmètrie :

En moyenne l'ATPmètrie enregistrée dans cet établissement est de **5732,4 URL** correspondant à des surfaces sales.

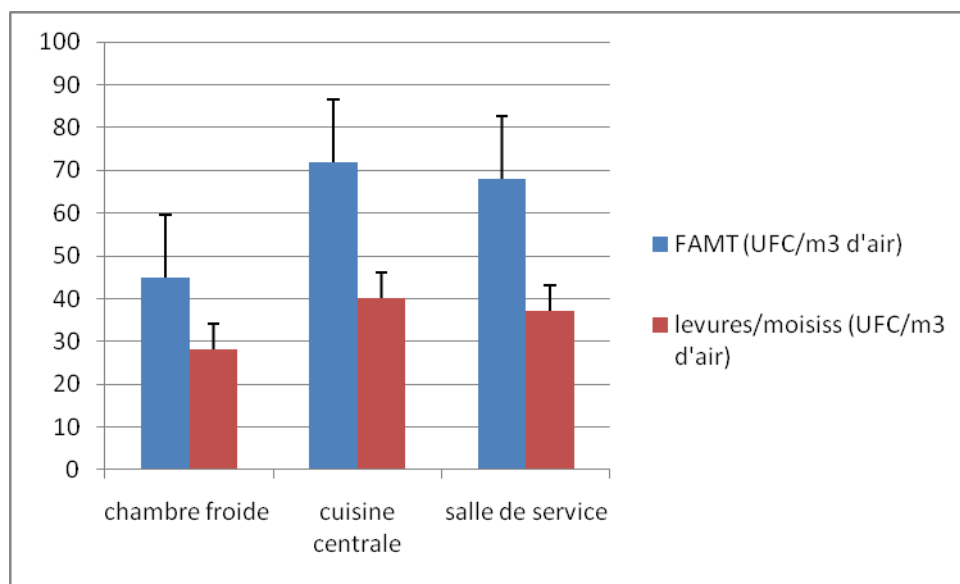
➤ Restaurant universitaire

Sites de prélèvements	FAMT UFC / m ³	L/M UFC / m ³	ATPmètrie (URL)	T° (°C)	H° (%)
Chambre froide	45	28	1500	3	68
Cuisine centrale	72	40	5700	24	82
Salle de service	68	37	63000	21	63
Moyenne	61,67	35	23400	16	71
Ecartype	14,57	6,24	34358,84	11,36	9,85

Tableau 23 : Résultats du restaurant universitaire.

FAMT : flore aérobie mésophile totale **T°** : température **IND** : indénombrable

L/M : levures/moisissures **H°** : hygrométrie

**Figure 28** : Evolution de la contamination aérienne du restaurant universitaire.

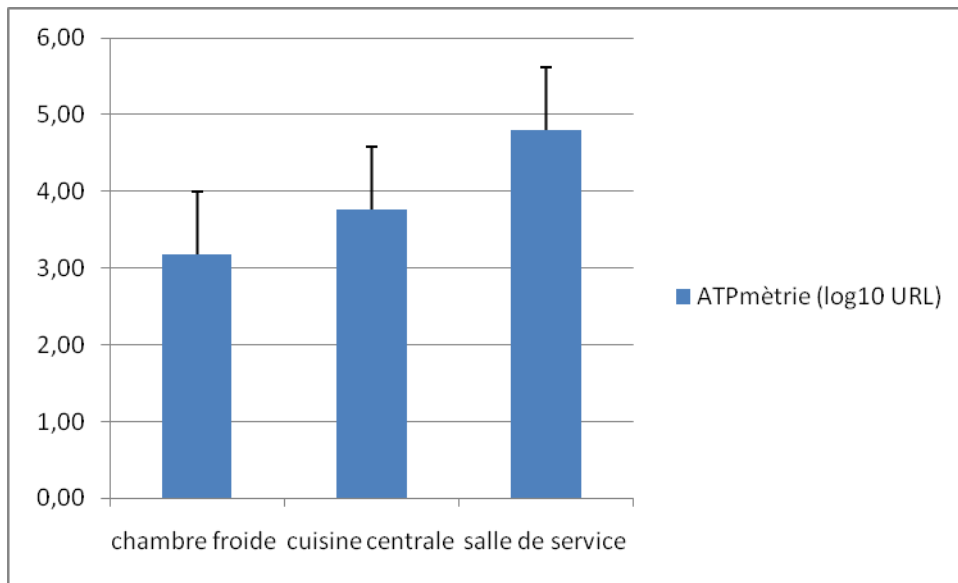


Figure 29 : Evolution de l'ATPmètrie du restaurant universitaire.

Pour la FAMT :

La moyenne des résultats est de **61,67 UFC/m³** d'air ce qui place l'établissement en niveau d'alerte.

Pour les levures moisissures :

La moyenne est de **35 UFC/m³** d'air ce qui place l'établissement en niveau d'alerte.

Pour l'ATPmètrie :

Le taux moyen d'ATPmètrie est de **23400 URL** ce qui correspond à des surfaces sales.

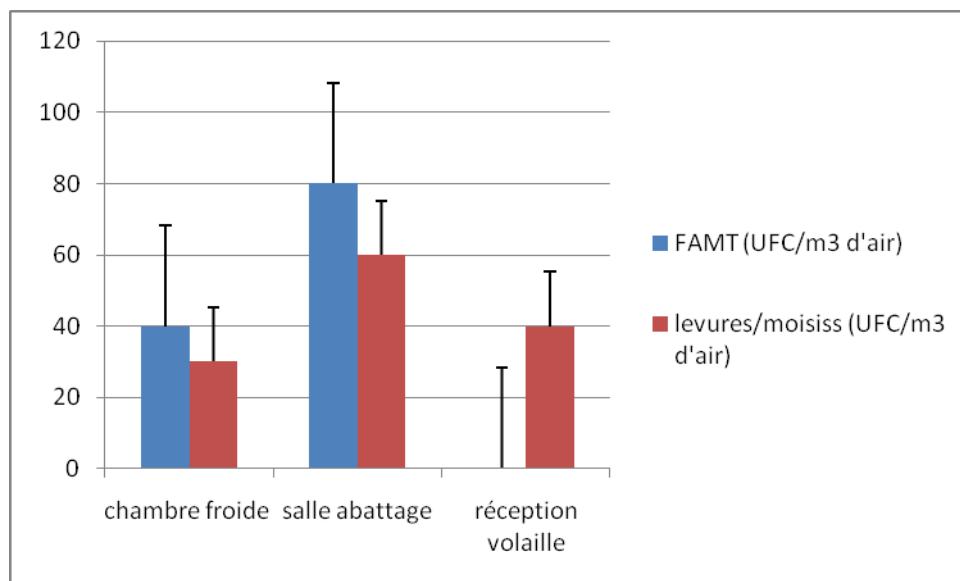
➤ Abattoir volaille

Sites de prélèvements	FAMT UFC / m ³	L/M UFC / m ³	ATPmètrie (RLU)	T° (°C)	H° (%)
Chambre froide	40	30	22.000	5	81
Salle d'abattage	80	60	510.000	22	85
Réception volaille	IND	40	480.000	18	60
Moyenne	60	43,33	337333,33	15,00	75,33
Ecartype	28,28	15,28	273498,32	8,89	13,43

Tableau 24 : Résultats de l'abattoir volaille.

FAMT : flore aérobie mésophile totale **T°** : température **IND** : indénombrable

L/M : levures/moisissures **H°** : hygrométrie

**Figure 30** : Evolution de la contamination aérienne de l'abattoir volaille.

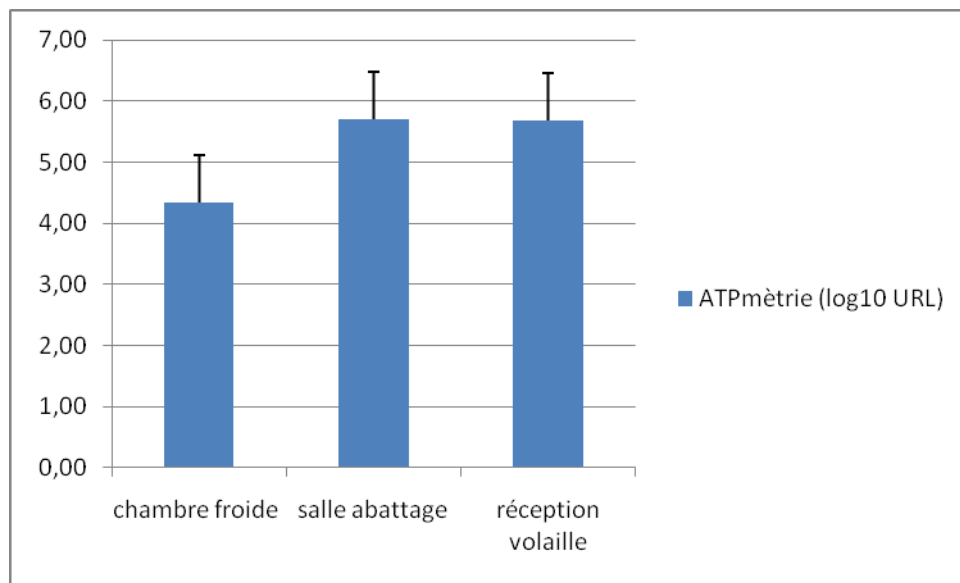


Figure 31 : Evolution de l'ATPmètrie de l'abattoir volaille.

Pour la FAMT :

La moyenne des résultats obtenus dépasse le niveau cible recommandé par l'ASPEC : **60UFC/m³ d'air**.

Pour les levures moisissures :

La moyenne obtenue est de **43,33 UFC/m³ d'air** ce qui correspond au niveau d'alerte.

Pour l'ATPmètrie :

La moyenne pour cet établissement est de **337333,33 URL** correspondant à des surfaces sales.

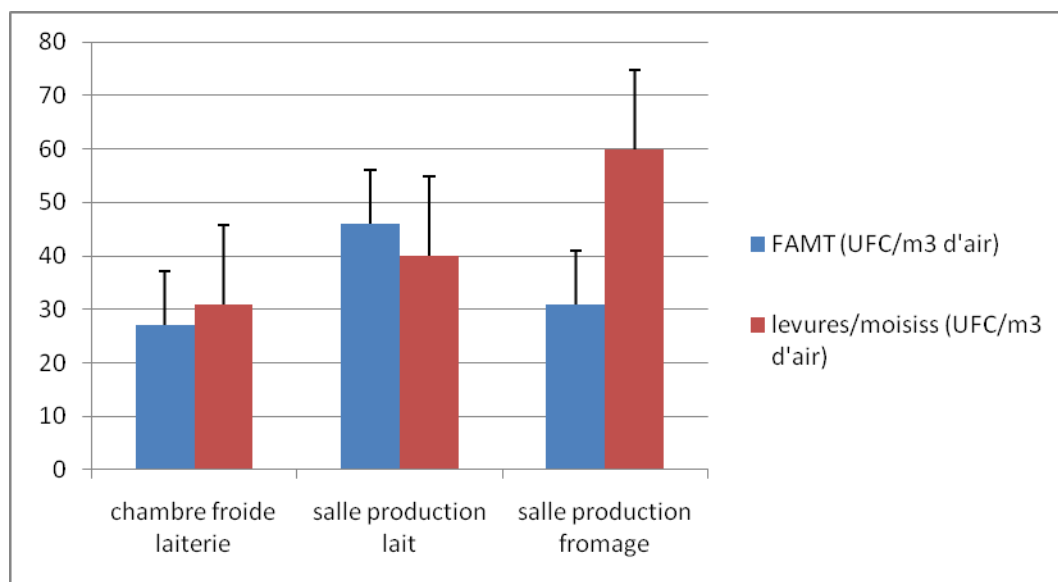
➤ Unité laiterie n°2

Sites de prélèvements	FAMT UFC / m ³	L/M UFC / m ³	ATPmètrie (RLU)	T° (°C)	H° (%)
Chambre froide	27	31	2600	4	79
Salle de production lait	46	40	35000	19	84
Salle de production fromage	31	60	51000	21	82
Moyenne	34,67	43,67	29533,33	14,67	81,67
Ecartype	10,02	14,84	24658,74	9,29	2,52

Tableau 25 : Résultats de la laiterie n°2.

FAMT : flore aérobie mésophile totale **T°** : température **IND** : indénombrable

L/M : levures/moisissures **H°** : hygrométrie

**Figure 32** : Evolution de la contamination aérienne de la laiterie n°2.

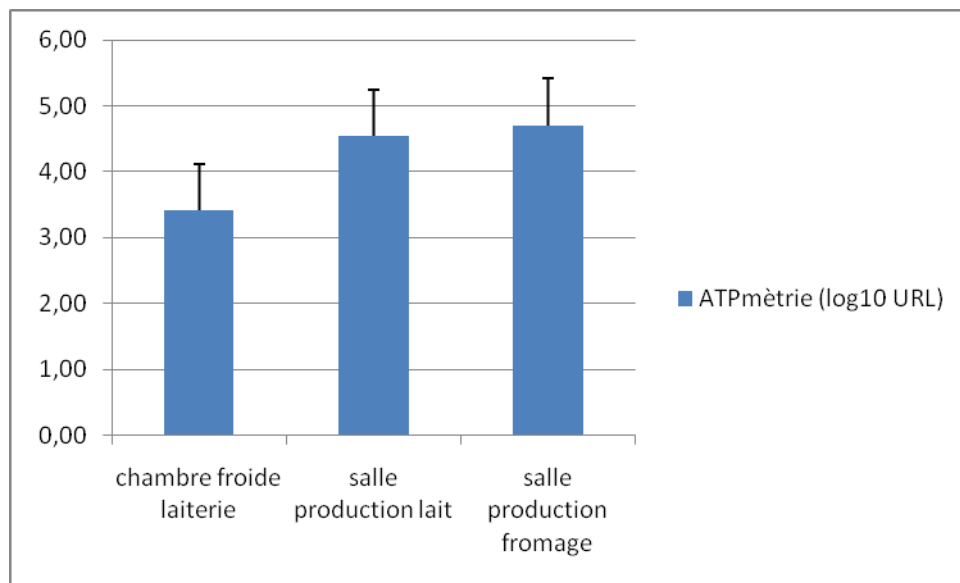


Figure 33 : Evolution de l'ATPmètrie de la laiterie n°2.

Pour la FAMT :

La moyenne des résultats obtenus dépasse le niveau cible recommandé par l'ASPEC : **34,67 UFC/m³ d'air**.

Pour les levures moisissures :

La moyenne obtenue est de **43,67 UFC/m³ d'air** ce qui correspond au niveau d'alerte.

Pour l'ATPmètrie :

La moyenne pour cet établissement est de **29533,33 URL** correspondant à des surfaces sales.

2-Les résultats de la contamination globale

Lieux de prélèvements	Nombre d'échantillon	FAMT globale UFC/m³ d'air	L/M globale UFC/m³ d'air	ATPmétrie (URL)
Usine de steak haché	10	62,5	97	10273,8
Abattoir bovin/ovins	6	70	32,11	15140,47
Laiterie N°1	10	197,5	99,6	11538
Fromagerie	10	146,25	31,75	5732,4
Restaurant collectif	6	61,67	35	23400
Abattoir volaille	6	60	43,33	337333,33
Laiterie N°2	6	34,67	43,67	29533,33
Moyenne globale (UFC /m³ d'air)		90,37	54,64	63415,74
Ecartype		58,65	30,23	121241,08

Tableau 26 : Résultats de la contamination globale selon l'unité de transformation.

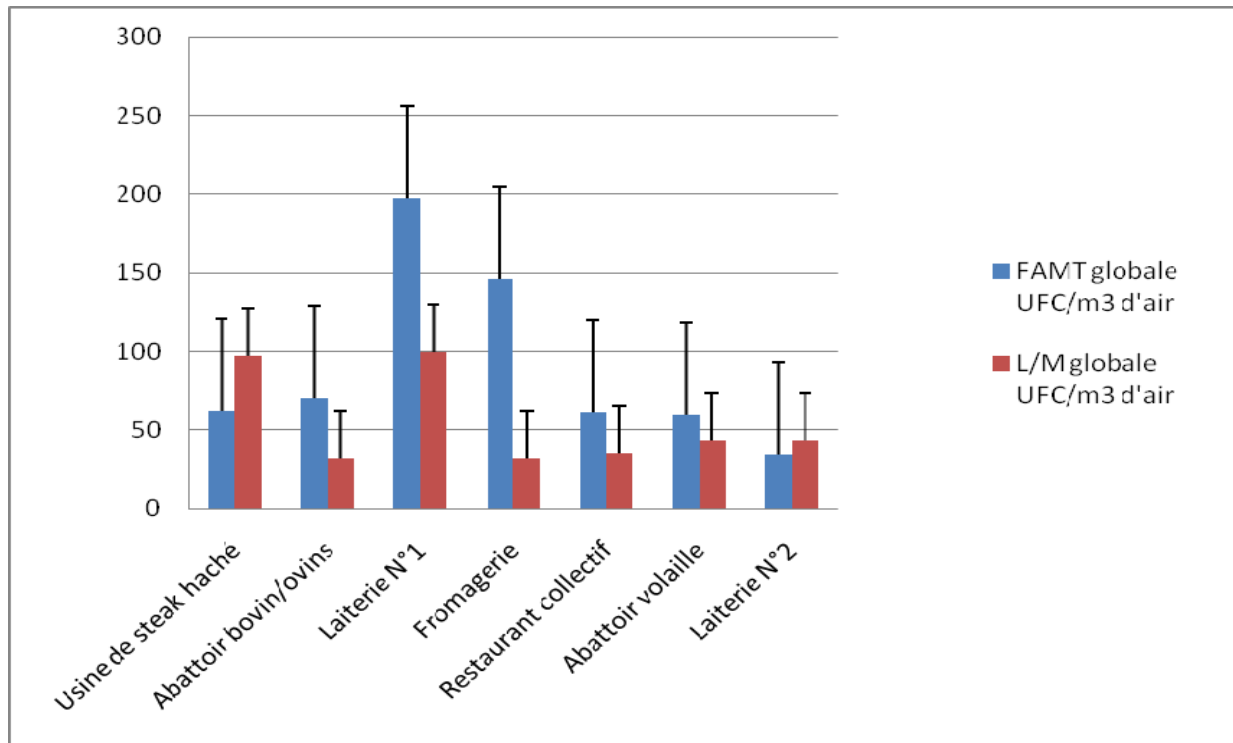


Figure 34: Schéma récapitulatif de la contamination globale par unité.

Dans tous les établissements visités, la contamination globale bactérienne (**90,37 UFC/m³ d'air**) et fongique (**54,64 UFC/m³ d'air**) dépasse largement le niveau d'alerte recommandé par le guide de l'ASPEC.

Concernant l'ATPmètrie les résultats sont très alarmant car largement au dessus des 500URL. Ce qui correspond à des surfaces sales dans tous les établissements visités.

Concernant les relevés de température et d'hygrométrie, à l'exception des chambres froides, tous les sites présentent des valeurs élevées supérieures aux recommandations en la matière créant ainsi un environnement favorable à la multiplication des contaminants.

VI-Discussion

Méthodes

1. Le biocollecteur :

Pour l'étude de l'aérobiocontamination dans le milieu des industries agroalimentaires, la technique la plus répandue actuellement consiste à exposer de façon passive un support nutritif ou non : boîte de Pétri, plexiglas, gel à la chute naturelle des particules sous l'effet de la gravitation. Outre les avantages liés à un coût faible, à l'absence d'appareillage, cette technique permet d'exposer les supports pendant des durées importantes dans la limite toutefois de la dessiccation des gels et des milieux. Cependant le volume d'air ainsi traité n'est pas mesurable et dépend largement des flux au sein de l'espace échantillonné.

Les inconvénients principaux de cette méthode sont liés à la remise en suspension des spores les plus petites favorisant la sélection des spores les plus volumineuses. La reproductibilité de ce type d'échantillonnage est faible. Son usage est aujourd'hui de plus en plus critiqué (**NILSON S, 1983**).

Par ailleurs, avec ce type de technique l'interprétation est rendue aléatoire en raison de l'existence de seules références normatives portant sur la qualité de l'air faisant état de niveau de contamination par m³ d'air (**ASPEC, 2008**).

C'est pour cette raison que nous nous avons choisis d'utiliser un appareil appelé aérobiocollecteur de type impacteur.

Le choix de ce type d'appareil a été guidé par sa facilité d'usage, par les durées de prélèvement brèves (< 10 min) qui sont conseillées pour éviter la dessiccation du milieu de culture. Elles doivent être adaptées au niveau présumé de contamination d'une ambiance afin d'éviter une saturation des boîtes, le chiffre de 300 colonies étant considéré comme la limite supérieure de lecture (**CEN TC 137. EN 13098, 2000**). Et aussi par sa précision, en effet ce type d'appareil peut être réglé pour aspirer 100L/min. Le débit entre en jeu dans le calcul des concentrations par unité de volume et détermine la vitesse d'impaction, dont dépend l'efficacité de collecte de l'impacteur.

Une revue générale cite 94 articles concernant l'évaluation d'un total de 101 biocollecteurs différents. Globalement, ces études comme d'autres plus récentes (**BELLIN P, SCHILLINGER J, 2001**), (**LJUNGQVIST B, REINMULLER B, 2000**), tendent à montrer que l'impacteur Andersen est l'appareil le plus performant (ses différentes versions avec 1, 2 et 6 étages), tant sur

le plan de l'efficacité de collecte que sur celui de la reproductibilité. C'est cet appareil qui est recommandé et utilisé dans les études à large échelle aux Etats-Unis (*WOMBLE S E et al, 1999*). Toutefois, les inconvénients de ce type de dispositif restent nombreux avec notamment un débit considéré par de nombreux utilisateurs comme insuffisant (28,3 L/min), une absence d'autonomie électrique, une ergonomie déficiente qui ont conduit à la production de nouveaux appareils corrigeant ces défauts tout en maintenant les principes de base (Air-Test Oméga (LCB), MAS 100 (Merck), M Air T (Millipore), Bio-impactor (Iroise) avec débits de l'ordre de 100 L/min, maniable, autonome pompant jusqu'à 1000L, avec départ différé, mais sans sélection granulométrique). Pour l'instant aucune étude sur l'efficacité et la validité de ces appareils n'est publiée.

Finalement, tous les impacteurs autonomes avec un débit de 100L/min, utilisant des boîtes de Pétri standard ont des performances similaires et peuvent être retenus dans les campagnes d'échantillonnage des locaux. Leur maniement peut être acquis rapidement par des personnels ayant bénéficié d'une qualification spécifique.

L'aérobiocollecteur est un outil très important pour les industries agro alimentaires dans le cadre de l'auto contrôle et intégré dans un programme d'assurance qualité pour mesurer la qualité de l'air ambiant à tout moment et d'apporter les correctifs nécessaires en cas de dépassement de limites critiques.

2. L'ATPmétrie

La directive européenne recommande, aujourd'hui, le recours aux principes du HACCP pour la maîtrise de la qualité microbiologique des aliments.

L'ATPmétrie est une méthode rapide de contrôle du nettoyage-désinfection qui est utilisée dans plusieurs secteurs des industries agroalimentaires.

L'ATPmétrie entre dans le cadre de cette démarche. L'Adénosine Triphosphate (ATP) est présent dans toutes les cellules vivantes. Comme la majorité des aliments ont été à un moment donné des êtres vivants, de l'ATP est présent dans les résidus alimentaires restants sur des surfaces après nettoyage.

Les micro-organismes tels que les bactéries, les levures et les moisissures contiennent également de l'ATP. Pour cette raison, la mesure de l'ATP sur les surfaces ou dans les eaux de rinçage est

devenue l'outil de référence des industries agro-alimentaires pour mesurer l'efficacité du nettoyage des chaînes de production.

Selon la littérature, les quantités d'ATP sont très variables d'un type de cellule à l'autre, il y a 300 000 fois plus d'ATP dans une cellule somatique que dans une bactérie. Il a été démontré que le seuil élevé de détection des micro-organismes (1000 bactéries/écouvillon ou 10 à 20 levures/écouvillon) et les interactions avec l'ATP libre issu de débris cellulaires rendaient cette méthode difficilement utilisable pour le contrôle de la désinfection, mais elle renseigne d'avantage sur la qualité du nettoyage.

Il est fréquemment supposé, à tort, que les résultats obtenus en URL (Unité Relative de Lumière) devraient démontrer une corrélation directe avec un dénombrement sur boîte de pétri pour un même prélèvement.

La quantité d'ATP présente dans des cellules microbiennes peut varier considérablement selon les souches et une seule UFC peut correspondre à un ou plusieurs micro-organismes. De plus, les bactéries ont besoin de résidus alimentaires pour se développer, il n'y aura donc jamais une situation où l'ATP mesuré est uniquement d'origine microbienne. En théorie, il est possible de faire une corrélation entre URL et UFC. Néanmoins, dans la pratique, il est impossible de déterminer l'origine de l'ATP (bactéries, levures, moisissures, résidus d'aliments). Le cas le plus fréquent est une combinaison de ces multiples facteurs.

L'ATPmétrie n'est donc pas un indicateur direct de la présence de bactéries. Néanmoins, il s'agit de la technologie la plus rapide et la plus simple pour déterminer le potentiel de croissance bactérienne. De ce fait, c'est un réel indicateur du niveau d'hygiène des surfaces. Il n'existe aucune méthode plus simple ou plus rapide pour déterminer un problème, ou que certaines zones de production nécessitent un nettoyage plus intensif. Ainsi, grâce à l'ATPmétrie, on peut mettre en place les actions correctives en amont, pour éviter tout problème éventuel de non-conformité.

Les travaux de Bendeddouche et Bensid ont révélés une faible valeur du coefficient de corrélation ($r = 0.57$) obtenue entre les mesures d'ATP et les résultats du dénombrement de la flore totale montrent que, si cette corrélation est significative statistiquement, elle est néanmoins faible pour que l'ATPmétrie remplace le contrôle microbiologique des surfaces (**B. BENDEDDOUCHE et A. BENSID, 2009**)

Nous pouvons constater que le contrôle de la flore totale des surfaces exigé par la réglementation doit être complété par un contrôle des résidus de déchets alimentaires en utilisant une méthode comme l'ATPmétrie. Malheureusement, les méthodes de contrôle microbiologique ne permettent pas une action corrective immédiate en cas de désinfection déficiente car le résultat est au mieux obtenu en 24 à 72 heures, par contre l'ATPmétrie fournit une réponse quasi-immédiate qui ne dépasse pas deux minutes après prélèvement.

Enfin, de nouveaux appareils voient le jour fruit de la recherche, plus performants et permettant de rechercher spécifiquement la nature des contaminants.

L'ATPmétrie doit être utilisée :

- A la suite de modifications importantes dans le protocole de nettoyage / désinfection et surtout lors d'un changement du détergent, cela s'applique à toutes les surfaces en contact direct avec l'aliment. Pour les autres sites, les surfaces doivent être choisies selon les types de matériaux par exemple, pour obtenir une bonne représentation. Chaque unité doit choisir les points les plus pertinents et fixer lui-même ses valeurs seuils, car il n'est pas possible de contrôler toutes les surfaces.
- Pour le contrôle en routine de l'efficacité du nettoyage.

3. La contamination bactérienne et fongique de l'air et des surfaces

L'analyse des résultats des 27 sites de prélèvements issus de 07 unités agro industrielles d'activité différente révèle la présence d'une contamination bactérienne et fongique aérienne et des surfaces nettement supérieure aux seuils recommandés par les différentes références en la matière.

En effet la contamination bactérienne de l'air varie selon les différents sites entre une moyenne de 34,67 UFC/m³ et 197,5 UFC/m³ alors que la contamination fongique varie de 31,75 UFC /m³ et 97 UFC/m³, ces valeurs dépassent de loin les prescriptions de l'ASPEC constituant ainsi un niveau d'alerte pour la contamination bactérienne et fongique.

Concernant la contamination des surfaces, les résultats de l'ATPmétrie ont montré des écarts variant de 337333,33 URL à 5732,4 URL classant ainsi les surfaces analysés en « sales » dépassant le seuil de 500 URL conformément aux recommandations du fabricant de l'appareil.

Par ailleurs une étude comparative du niveau de contamination des unités montre que l'unité laiterie n°2 présente les niveaux les plus bas alors la laiterie n°1 le niveau le plus élevé de contamination.

Par ailleurs, l'analyse des relevés de température et d'hygrométrie des salles de production montre des valeurs élevées supérieures à 14°C et 50% d'hygrométrie créant ainsi les conditions optimales de développement des différents contaminants.

Sur la base de notre échantillon, les résultats obtenus montrent une situation globalement non satisfaisante, de non conformité avec la production alimentaire des unités choisies. Ceci s'explique par :

- L'inexistence d'un programme d'assurance qualité en cours d'exécution.
- L'absence d'autocontrôle portant sur la qualité hygiénique de l'air et des surfaces.
- L'existence de problèmes de conception et d'aménagements des bâtiments.
- Presque toutes les salles de production visitées sont dépourvues de système de climatisation ou de filtration de l'air.
- Les matériaux sont une source importante de la pollution. A chacune de nos visites, nous avons constatés des murs, plafond et systèmes d'aération colonisés par des moisissures dont la biodégradation peut s'accompagner de l'émission de particules biologiques. Concernant le relargage des particules fongiques à partir d'un substrat colonisé, si le mécanisme principal d'émission des spores est le flux d'air (**Gregory P. H., 1973**), d'autres facteurs entrent en jeu dans ce phénomène. Ainsi, Becker a démontré, en 1994 (**Becker R., 1994**), que l'activité hydrique, l'humidité et la température ambiantes, l'oxygène disponible, la présence de nutriments, les interactions ioniques et électrostatiques ainsi que la texture de la surface contaminée affectait la formation et l'émission des spores fongiques à partir de leurs sources.
- La marche en avant est respectée mais il ya absence de sas entre les différents compartiments au sein de l'usine.

- La mobilité et le flux du personnel n'est absolument pas maîtrisé. Sachant que l'homme est la première source d'émission de particules par les gestes, la paroles les éternuements ou la toux. Un éternuement peut émettre 10^6 particules en suspension (**JOKLIK, W.K., 1988**).
- L'absence d'un protocole de nettoyage et désinfection et de surcroit validé.
- L'absence de formation et de sensibilisation du personnel aux bonnes pratiques d'hygiène.

Enfin, nous pensons que la mise en place de systèmes d'assurance qualité et l'installation de guides de bonnes pratiques hygiéniques de fabrication pourra corriger cette situation et apporter les éléments d'une mise à niveau hygiénique à travers la maîtrise préventive des contaminants et le respect des procédures.

Par ailleurs, il semble souhaitable de mener des études plus approfondies pour fixer des valeurs d'acceptabilité des UFC en fonction du type d'activité de la salle et des URL pour chaque type de surface en contact avec l'aliment.

CONCLUSION GENERALE

A travers les résultats obtenus de la contamination aérienne et fongique des quelques unités agroalimentaires de la Wilaya d'Alger, nous avons constaté que la situation hygiénique est non satisfaisante faisant ressortir des valeurs dépassant de loin les limites fixées.

L'inexistence de guides de bonnes pratiques hygiéniques de fabrication, l'absence de moyens d'autocontrôle, la proportion importante du temps réservé à la production en sont les principales causes.

La maîtrise de la contamination de l'air et nos résultats le prouvent, est un paramètre indissociable de l'état de propreté des surfaces et de la qualité du produit fini en bout de chaîne. Elle doit être intégrée aux protocoles de nettoyage et désinfection au même titre que les autres étapes.

L'expérimentation de l'aérobiocollecteur et de l'ATP mètre comme techniques rapides de contrôle de l'hygiène et du niveau de contamination a montré toute leur utilité et leur avantage mis à disposition du responsable qualité notamment en matière de : temps de lecture, fiabilité des résultats, utilisation en routine pendant la production et intégration dans un processus d'assurance qualité et de prévention des risques afin d'apporter les mesures correctives à chaque écart et à tout instant.

- AFNOR (1986).** "NF T 72-281 Procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne", AFNOR. Paris.
- AL-DAGAL, M. (1989).** Aeromicrobiology: An assessment of a new meat research complex. A Master's thesis. Kansas State University, Manhattan, KS.
- AL-DAGAL, M. and D.Y.C. FUNG. (1990).** Aeromicrobiology: A review. Crit. Rev. in Food Sci. and Nutri. 29(5): 333-340.
- AMGAR, Albert. (1998).** Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires. Asept édition, p40.
- ANDERSEN, A.A. (1958).** New sampler for the collection, sizing and enumeration of viable airborne particles. J. Bacteriol., Vol. 76, pp. 471-484.
- ANONYME 1. (2006).** 250 cas de Listériose et de Salmonellose en 3mois. El Watan Edit 14/10 /2006.
- ASPEC., (2008).** Etablissement de santé. Contrôles de l'environnement dans les zones à hauts et très hauts risques infectieux. Aspec, association pour la prévention et l'étude de la contamination.
- BARON, P. A. et K. WILLEKE, Eds., (1993).** "Aerosol measurement: Principles, Techniques and Applications". New York, Van Nostrand Reinhold.
- BARRILLER, J., (1997).** Evaluation du système d'ATP-métrie Lightning pour mesure de la propreté des surfaces. IAA, 217-219.
- BECKER R., (1994).** Fungal disfigurement of construction - Analysis of the effects of various factors. Health implications of fungi in indoor environments. Elsevier. 2: 361-380.

BELLIN P, SCHILLINGER J., (2001). Comparison of field performance of the Andersen N6 single stage and the SAS sampler for airborne fungal propagules. *Indoor Air* 2001 ; 11 : 65-68.

BENDEDDOUCHE B et BENSID A., (2009). Evaluation de la méthode ATP-bioluminescence pour le contrôle de l'efficacité du nettoyage-désinfection en abattoir de volailles. *Revue Viandes et Produits Carnés VPC n°3 Vol 27.*

BIOMERIEUX. Communiqués de presse: Aérez IDEAL®, une solution complète, pratique et fiable pour le contrôle de contamination d'air [on line]
[http://www.biomerieux.com/servlet/srt/bio/portail/dynPage?doc=PRT_PRD_IND_CT_L_AIR] (consulté le 03octobre 2010).

BONNEFOY. C, GUILLET.F, LEYRAL.G et VERNE-BOURDAIS.E., (2002).
Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Collection bioscience et technique.

BONNES PRATIQUES DE FABRICATION. *Bulletin Officiel* n° 92/16 bis. Janvier 1993

BOTTON, A., BRETON, M., FEVRE, S., GAUTHIER, Ph., GUY, J.P., LARPENT, P., REYMOND, J.J., SANGLIER, Y., VAYSSIER, P., VEAU., (1990). Moisissure utiles et nuisibles importance industrielle 2^e édition Masson.

BOURGEOIS, C.M., et LEVEAU, J.-Y., (1991). Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Volume 3. Le contrôle microbiologique. Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires. Éd. Lavoisier-Tec. § doc., Paris.

BROCARD-LEMOR., (2000). Normes et recommandations en hygiène environnementale hospitalière *Annales de Biologie Clinique*. Volume 58, Numéro 4, 431-7, Juillet - Août 2000, Revues générales.

BURGE, H. A., (1995a). "Biological contamination of buildings in temperate climates". *Healthy Buildings'95*, Milano.

BURGE, H. A., Ed., (1995b). "Bioaerosols". *Indoor Air Research Series* Lewis Publisher.

CAC, COMMITTEE ON FOOD HYGIENE (1997). Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) and Guidelines for its Application. Alinorm 97/13. Food and Agriculture Organization, World Health Organization, Rome.

CAC, COMMITTEE ON FOOD HYGIENE/RCP (2003). Recommended International Code of Practice General Principles of Food Hygiene. CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003.

CEN TC 137. EN 13098 : Workplace atmospheres - Guideline for measurement of airborne microorganisms and endotoxin. Comité Européen de Normalisation, Bruxelles, 2000.

CHANTEFORT., (1994). La désinfection des blocs opératoires. *Techniques hospitalières*. N°590, p43-46.

COUNCIL DIRECTIVE 93/43/EEC (1993) of 14 June 1993 on the hygiene of foodstuffs. Official Journal L175, 19/07/1993, pp. 0001±0011.

COX, C. S., (1987). "The aerobiological pathway of microorganisms" John Wiley & Sons Ltd. 293p.

DEN AANTREKKER, E. D., BOOM, R. M., ZWIETERING, M. H. and VAN SCHOTHORST, M., (2002). 'Quantifying recontamination through factory environments ± a review', *Int. J.Food Microbiol.*, 80 (2), 117±130.

DRUILLES, J., CHANTEFORT, A., HUET, M., (1983). Etude comparative du gaz formaldéhyde et de quelques produits diffusés en désinfection par voie aérienne, *Techniques hospitalières*, 499, 49-55.

EDMONDS, R. L., (1979). *Aerobiology, The Ecological System Approach*, Dowden, Hutchinson & Ross, Stroudsburg, PA.

EHEDG: European Hygienic Engineering & Design Group. (2006). Guidelines On Air Handling In The Food Industry. *Trends in Food Science & Technology* N°17, 331–336.

FLEURETTE, J., FRENEY, J et al., (1995). "Antisepsie et désinfection".

FOURNAUD, J., (1982). Types de germes rencontrés aux différents stades de la filière viande. In : Hygiène et technologie de la viande fraîche : Edition du CNRS., 109-132.

GENERAL SERVICES ADMINISTRATION., (1987). Federal Standard 209C. The clean room and work station requirements, controlled environment. General Services administration, federal supply service, U.S. Govert. Printing Office: 1988-181-251/ 73222, Washington, D.C, 40 pp.

GLOSSAIRE HYGIENE DES ALIMENTS version-1 dernière mise à jour 30 avril 2004.

GRAVESEN, S., (1999). "Microbiology of indoor air" what is new and interesting ? An overview of selected papers presented in Edinburgh, August, 1999. Indoor Air 2000; 10: 74-80.

GREGORY P. H., (1973). The microbiology of the Atmosphere. Plymouth, Leonard Hill Books. **CEN TC 137. EN 13098 :** Workplace atmospheres - Guideline for measurement of airborne microorganisms and endotoxin. Comité Européen de Normalisation, Bruxelles, 2000.

GRIFFITHS, W.D. et DeCOSEMO, G.A.L., (1994). The assessment of bioaerosols: a critical review. J. Aerosol Sci., Vol.25, pp. 1425-1458.

GUIRAUD, J-P., (2003). Microbiologie alimentaire. p107-112.

HENNINGSON, E.W. and AHLBERG, M.S., (1994). Evaluation of microbiological aerosol samplers: a review. J. Aerosol Sci., Vol. 25, pp. 1459-1492.

HURST, C. J., et al., Ed. (1997). "Manuel of environmental microbiology". *Aerobiology*. Washington, D.C., ASM PRESS.

ISOARD, P., J. CALOP, et al., (1982). "La contamination microbiologique des atmosphères closes. Origines, méthodes d'études." J. Chir (Paris) 119- n°8-9: (503-512).

JENSEN , SCHAFER., (1998). Sampling and characterization of bioaérosols. In: NOSH Manuel of Analytical Methods, 4th ed, pp 82-112.

JOKLIK, W.K., WILLET, H. P., AMOS, D.B., and WILFERT, C.M., (1988). Zinsser Microbiology, 19th ed., Appleton and lange, Norwalk, CT/ San Mateo, CA.

JORA., (1991). Décret exécutif n° 91-53 du 23 février 1991 relatif aux conditions d'hygiène lors du processus de la mise à la consommation des denrées alimentaires. Journal officiel de la république Algérienne N° 009 du 27-02-1991. p. 285.

KANG , Y. J., et FRANK, J. F., (1989). Evaluation of air samplers for recovery of biological aerosols in dairy processing plants. Journal of food protection. 52(9): 655-659.

KANG, Y.J. AND FRANK, J.F., (1989a). Biological aerosols: a review of airborne contamination and its measurement in dairy processing plants. J. Food Prot., Vol. 52, pp. 512-524.

KREGER VAN RIJ, N.J.W., (1984). The yeast, a taxonomic study. 3ème édition. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1082 p.

KURTZMAN, C.P., and Fell, J.W., (1998). The yeasts, a taxonomic study, fourth edition. Amsterdam, the Netherlands: Elsevier. p. 915–947.

LARPENT, J. P., (1997). Mémento technique de la microbiologie. Ed. Tec. Et Doc Lavoisier.

LEVEAU, J.Y., BOUIX, M., (1979). Etude des conditions extrêmes de croissance des levures osmophiles. Ind. Alim. Agric., 11, 1147-1151.

LEVEAU, J.Y., BOUIX, M., (1986). Les microorganismes producteurs d'éthanol de fermentation. Colloque FCB. Ed. SEDA, 3-56.

LEVEAU, J.Y., BOUIX, M., (1999). Nettoyage, désinfection et hygiène dans les bioindustries. Collection science et techniques agroalimentaires. Ed. Tec et Doc ; Paris.

LJUNGQVIST, B. AND REINMULLER, B., (1998). Active sampling of airborne viable particles in controlled environments: a comparative study of common instruments. Eur. J. Parent. Sci., Vol. 3, pp. 59-62.

LJUNGQVIST, B. AND REINMULLER, B., (2000). Airborne viable particles and total number of airborne particles: comparative studies of active air sampling. *PDA J Pharma Sci Technol* 2000; 54: 112-116.

MACHER, J. M., (2000). Air sampling methods for biological contaminants", Andersen Instruments Inc.2001.

Mc DERMIT, A.S. et LEVER, M.S., (1996). Survival of *Salmonella enteritidis* PT4 and *Salm.typhimurium* Swindon in aerosols. Lett. Appl. Microbiol., Vol. 23, pp. 107-109.

MEAD, P.S., SLUTSKER, L., DIETZ, F., et al., (1999). Food related illness and death in the United States. In: Farm visits and undercooked hamburgers as Major risk factor for sporadic *Escherichia coli* O 157-H 7 infections : data from a case control study in 5 FoodNet Sites – United States, 2004.

METAY, M., COLLOBERT, J-F., (2002). Conditionnement d'ambiance et climatisation dans les industries agroalimentaires.

MISKIMIN, D., BERKOWITZ, K., SOLBERG, M., RIHA, W., FRANCE, W., BUCHANAN, R., (1976). Relationships between indicator organisms and specific pathogens in potentially hazardous foods. *Journal of Food Science*, 41, n°5, p1001-1006.

MORAWSKA, L., (2005). "Droplet fate in indoor environments, or can we prevent the spread of infection?" *Indoor Air 2005*, Beijing.

NILSON S., (1983). Atlas of airborne fungal spores in Europa. Ed. Springer, Berlin 1983, 139 pp.

NORME ISO 14644-1. 1999 (F). Salles propres et environnements maîtrisés apparentés. Partie 1 : Classification de la propreté de l'air. Organisation internationale de normalisation, 1999.

NORME NF EN ISO 14698 : Salles propres et environnement maîtrisés apparentés. Maîtrise de la biocontamination. Partie 1 et 2. Indice de classement français : X 44-110, X 44-111. Organisation internationale de normalisation, 1999.

NORME NF S 90-351. Procédure de réception et de contrôle des salles d'opérations. Association française de normalisation. Paris, décembre 1987.

PARAT, PERDRIX, MANN, S., BACONNIER, P., (1999). Contribution of particles counting in assessment of exposure to airborne microorganisms. *Atmos Environ* 1999; 33: 915-9.

PASANEN, P., (1998). "Emissions from filters and hygiene of air ducts in the ventilation systems of office buildings" *Department of Environmental Sciences*, University of Kuopio .p78.

PIBIRI, Marie-Cécile., (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles ; THÈSE NO 3311 ; ÉCOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE DE LAUSANNE.

PIGNOL, F., REGIMBAUD, M., GRIMALDI, F., (1992). L'air, véhicule de facteurs pathogènes. *Médecine d'Afrique Noire* : 39.

- PORTNOY, J., FLAPPAN, S., BARNES, C., (2001).** A procedure for evaluation of the indoor environment. *Aerobiologia* 17(1). p 43-48.
- RONDOUIN, O., (2001).** *Le concept de l'atelier ultrapropre dans ses aspects aérauliques*. Résumé de l'intervention présentée dans le cadre du Colloque organisé par l'ACIA et la SFPG Aéraulique et Industries alimentaires, Paris.
- ROULET, C.-A., (2004).** "Qualité de l'environnement intérieur et santé dans les bâtiments" *Collection gérer l'environnement*, PPUR Lausanne, (368).
- RUSSEL, I., STEWART, G.G., (1980).** Liquid nitrogen storage of yeast cultures compared to more traditional storage methods. *Current developments in yeast research. Advances in biotechnology.* Pergamon press, p123-128.
- SALTHAMMER, T., Ed. (1999).** "Organic indoor air pollutants: occurrence - measurement - evaluation" Wiley-VCH.
- SCHMITZ K, L., HOLZER, H., (1979).** Board decrease of ATP content in intact cells of *Saccharomyces cerevisiae* of sulfites. *Archives of Microbiology*, 121, p225-229.
- SHERETZ, P., (1993).** Bioaérosols, Virginia Departement of Health Richemond, Virginie.
- SHIMZ.K.L et HOLZER. H., (1979).** Rapid decrease of ATP content in intact cells of *Saccharomyces cerevisiae* after incubation with law concentration of sulfite. *Archive of microbiology* 121, 225-229.
- SMITH, D., (1997).** Controlled environment for food processing. *Food Rev.*, Nov, pp 23-27.
- STERSKY, A.K., HELDMAN, D.R et HEDRICK, T.I., (1972).** Viability of airborne *Salmonella newbrunswick* under various conditions. *J. Dairy Sci.*, Vol. 55, pp. 14-18.
- STETZENBACH, L.D., BUTTNER, M.P, and CRUZ, P., (2004).** Detection and enumeration of airborne biocontaminants. *Currents opinion in biotechnology.* 15(3):p.170-174.

VICKERS, V.T., (1986). Control of airborne contamination in dairy processing plants. N. Zeal. J. Dairy Sci. Technol. 21:89-98.

WACK. E, SAINT-LAURENT.P, DE ALMEIDA.N, FREYD.A, BIENTZ.M, MEUNIER.O., (2000). La désinfection par voie aérienne : quand ? et comment ?. N°651 , 7p.

WANNER, H.-U., A. VERHOEF, et al., (1993). "Biological Particles in Indoor Environments",CEC81.

WIRTANEN, GUN, MIETINNEN, et al., (2002). Clean air solution in food processing. VTTbiotechnology, VTT industrial system.

WOMBLE, S E, Burton L E, Kolb L et al., (1999). Prevalence and concentrations of culturable airborne fungal spores in 86 office buildings from the Building Assessment Survey and Evaluation (BASE) study. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 1 261-266.

ANNEXE I

Formule des milieux de culture utilisés

Plate count agar (PCA)

Le milieu Plate Count Agar (PCA) est utilisé dans la plupart des méthodes de dénombrement des microorganismes, il est préconisé dans l'analyse des produits alimentaires et particulièrement celle des viandes et produits à base de viande.

FORMULE (en g/l d'eau distillée)

Peptone 15.00

Extrait de viande 3.00

Extrait de levure 5.00

Glucose 1.00

Agar 15,00

pH = 7,0

Dissoudre les composants en chauffant si nécessaire.

Répartir en tubes ou en flacons.

Stériliser à 121°C pendant 15 minutes.

UTILISATION

Couler dans chaque boîte de Pétri environ 15 ml de milieu préalablement fondu et maintenu en surfusion au bain-marie à 45°C.

Mélanger soigneusement inoculum et milieu et laisser se solidifier sur une surface fraîche et horizontale.

Après solidification complète et si l'on suspecte le produit pouvant contenir des germes envahissants, coulez à la surface du milieu 4 ml de gélose blanche. Laisser se solidifier.

Milieu Sabouraud

La gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes.

Elle est recommandée essentiellement pour l'isolement des moisissures dans les prélèvements peu chargés en bactéries, les contrôles de stérilité des produits pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires, la culture des moisissures en vue de réaliser leur identification.

Composition

Formule en g.L-1 d'eau distillée :

Peptone pepsique de viande : 10

Glucose : 20

Agar : 15

pH= 7,0

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C: 5, 7 +/- 0,2.

Principe

La gélose de Sabouraud est un milieu peptoné et glucosé permettant la croissance des levures et des moisissures, et en particulier des dermatophytes.

La gélose de Sabouraud peut servir de base à la préparation de milieux spéciaux par addition d'antibiotiques, de sang ou de vitamines.

L'ajout de triphényltétrazolium à raison de 100 mg par litre en fait un milieu de différenciation pour les Candida.

Ensemencement

- Transférer l'échantillon à analyser sur le milieu.
- Etaler l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur en verre stérile.
- Incuber à 20 - 25°C de 3 à 5 jours.

ANNEXE 2

MICROFLOW



MICROFLOW

MICROFLOW has been developed for air biocontaminants sampling in critical places (e.g. clean rooms, food plants, fermentation's plants etc...).

MICROFLOW allows to verify and quantify microorganism presence.

In this way you can value the exposure or you can identify the source in order to put in place corrective actions.

PORTABLE MICROBIOLOGICAL AIR SAMPLER

MAIN FEATURES

- Autoclavable anodised aluminium sampling head, with conical holes:
60 mm head: 219 holes (ø 1 mm)
90 mm head: 380 holes (ø 1 mm)
- Autoclavable anodised aluminium support plate
- Bayonet head coupling system
- Rechargeable battery operated. Battery Ni/Mh (memory effect free) with 4 hours battery life
- Recharging battery in 3-4 hours
- Manual, sequential and programmed sampling
- Delay start function
- Preset sampling flow rates:
30-60-90-100-120 l/min
- Remote switch with infra-red rays control
- Storing and displaying up to 99 samplings
- Serial output interface for PC computer connection (optional)
- Dimensions: 300 x 120 x 140 mm (w x d x h)
- Weight:
 - Microflow 60: 1,3 Kg
 - Microflow 90: 1,5 Kg

AVAILABLE MODELS:

MICROFLOW 60: It works with contact plates (Ø 60 ± 2 mm)

MICROFLOW 90: It works with Petri dishes (Ø 90 ± 2 mm)

MICROFLOW 90/C: It works with Petri dishes (Ø 90 ± 2 mm)

MICROFLOW 60-90: It works with both contact plates (Ø 60 ± 2 mm) and Petri dishes (Ø 90 ± 2 mm)

MICROFLOW 60-90/C: It works with both contact plates (Ø 60 ± 2 mm) and Petri dishes (Ø 90 ± 2 mm)

* with automatic compensation system

Some possible **APPLICATIONS** are:

- clean rooms
- hospitals
- pharmaceutical plants
- food plants
- building air conditioning plants (HVAC)
- water depuration plants
- working places



AQUARIA

The **MCT MICROFLOW** includes:

- Carrying case
- Microbiological air sampler
- Spare aluminium sampling head
- Battery charger
- IR remote control
- Pencil torch for head sterilisation
- Pack of 7 plates PCA (only for Microflow 60, 60-90 and 60-90/C)
- User manual (in English)
- Calibration certificate



OTHER FEATURES

- Disinfectable polyurethane body
- Alphanumeric display for menu presentation
- Displaying of sampling operations "step by step"
- Prompts in five languages (Italian, French, English, German and Spanish)
- Total volume of sampled air programmable from 1 up to 1000 litres. 1 litre step (program and sequential sampling mode) or more (manual sampling)
- Calibration function (with optional calibration kit)
- Display alarm for low battery
- Two ON/OFF indicating lights to verify the instrument activation
- Sampling in vertical or horizontal position without tripod auxiliary
- Flow rate calibration system has been developed by "Politecnico di Milano" - Technical University Aerospace Engineering Department (rel. n.377 2003) and it has been certified by "Istituto di Metrologia G. Colsonetti" of Turin (Cert. n.393 2003)



ACCESSORIES

- Range of agars, depending on organisms to be monitored
- PC interface with software (MS WINDOWS 9x/2000/XP)
- Additional stainless-steel head



- Pencil torch

- Master tripod (maximum height 3,84 m)

- Calibration system designed by "Politecnico di Milano"



MICROFLOW



UNE EN ISO 9001
CERTIFICATED



Centre Commerciale "Il Grasso" - 20084 Lacchiarella (MI)
Tel. 02.96091289 Fax 02.9654881
e-mail: info@aquariaesrl.com
www.aquariaesrl.com

Distributed by:

CE

UK - nro - 1303

100

ANNEXE V

GLOSSAIRE HYGIENE DES ALIMENTS

TERME	DEFINITION
AFNOR	Association française de normalisation
Autocontrôle	Contrôle par l'exécutant lui-même du travail qu'il a accompli suivant des règles spécifiées.
Infection et toxi-infection alimentaire	Infection due à l'absorption de bactéries vivantes qui peuvent se multiplier dans l'intestin, causant des problèmes reliés soit à l'infection bactérienne, soit à la sécrétion de toxines par les bactéries ingérées.
Méthode	Ensemble ordonné de manière logique de principes, de règles, d'étapes permettant de parvenir à un résultat.
Norme	Document, établi par consensus et approuvé par un organisme reconnu, qui fournit, pour des usages communs et répétés, des règles, des lignes directrices ou des caractéristiques, pour des activités ou leurs résultats, garantissant un niveau d'ordre optimal dans un contexte donné.
Produit	Tout produit qui – également dans le cadre d'une prestation de services – est destiné aux consommateurs ou susceptible, dans des conditions raisonnablement prévisibles, d'être utilisé par les consommateurs, même s'il ne leur est pas destiné, et qui est fourni ou mis à disposition dans le cadre d'une activité commerciale, à titre onéreux ou gratuit, qu'il soit à l'état neuf, d'occasion ou reconditionné.
Référentiel	Document de référence regroupant l'ensemble des critères auquel un produit, un processus ou un service doit répondre pour pouvoir bénéficier de la certification conçue par son auteur. L'auteur du référentiel peut être un législateur (national ou international) ou une entité associative ou privée. Il est possible que plusieurs référentiels s'adressent à un même produit.
Toxi-infection alimentaire collective (TIAC)	Apparition d'au moins deux cas groupés similaires, d'une symptomatologie, en général digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire.
Unité de mesure	Grandeur particulière, définie et adoptée par convention, à laquelle on compare les autres grandeurs de même nature pour les exprimer quantitativement par rapport à cette grandeur.
Valeur (d'une grandeur)	
Conformité	
Contrôle (inspection)	
Echantillon	
Echantillon pour laboratoire	
Echantillonnage	
Prélèvement	

Qualité	
Assurance de la qualité	
Maitrise de la qualité	
Management de la qualité	
Politique qualité	
Processus	
Bonnes pratiques d'Hygiène (BPH)	
Contaminant	
Contamination	
Denrée alimentaire	
Denrée animale	
Denrée d'origine animale	
Désinfection	
Hygiène des aliments	
Micro-organismes	
Nettoyage	
HACCP	
Abattoir	
Atelier de découpe	
Viandes	
Viandes hachées	
Volaille	
Fromage	
Fromage fondu	
Lait	
Aliments surgelés	
Congélation	
Réfrigération	
Surgélation	

