

La biocontamination des surfaces

- Secteur agro-alimentaire -

P. GARRY

C.T.S.C.C.V. 7, avenue du Général de Gaulle, 94700 Maisons-Alfort

Mots clefs : Contamination / Biocontamination / Surface / IAA / Adhésion / Microbiologie / Méthode / Analyse

1. INTRODUCTION :

Dans les industries agro-alimentaires, les produits, qu'ils soient d'origine animale ou végétale, peuvent être contaminés par des micro-organismes tels que bactéries, levures, ou encore moisissures. La multiplication de ceux-ci peut entraîner une évolution du produit se traduisant par des modifications de goût, d'odeur et de couleur le rendant ainsi impropre à la consommation. Outre les pertes économiques liées à la multiplication de micro-organismes d'altération, la présence de micro-organismes pathogènes dans les denrées peut avoir des conséquences plus graves sur le plan de la santé publique. La durée de vie des produits ne subissant aucun procédé de décontamination après le conditionnement dépendra non seulement de la température de conservation, mais également de leur charge microbienne au moment de l'emballage. C'est pourquoi, il est important de maîtriser la qualité microbiologique des surfaces, vecteurs de contamination, utilisées pour le transport des denrées au cours de cette dernière étape du procédé de fabrication. Afin d'assurer cette maîtrise, les industriels réalisent régulièrement des opérations de nettoyage et désinfection. Pour en contrôler l'efficacité, ils ont à leur disposition différentes techniques de contrôle.

2. ORIGINE DES BACTERIES PRESENTES SUR LES SURFACES

Les surfaces en contact avec le produit alimentaire peuvent être un vecteur important de la contamination microbiologique. Les bactéries présentes sur les surfaces de travail peuvent avoir de nombreuses origines. L'une des premières sources de contamination est le produit

lui-même qui va contaminer par simple contact les surfaces comme les trancheurs ou les bandes convoyeuses. Cette contamination peut également provenir des particules en suspension dans l'air qui vont sédimenter sur la surface. Par ailleurs, les bactéries peuvent être apportées par l'homme. En effet, la peau humaine est recouverte de milliards de bactéries (entre 1 et 10 millions de bactéries/cm²). La plupart de ces micro-organismes sont inoffensifs. Ce nombre augmente fortement lors de blessures surtout si celles-ci sont purulentes. Comme l'homme émet en permanence des particules (squames de peau, cheveux, poils, gouttes de Flugge), il contamine alors en permanence l'air, l'ensemble de ces particules pouvant servir de véhicule pour les micro-organismes. En sédimentant, ces particules vont contaminer les surfaces.

Afin d'éliminer cette contamination, il est régulièrement réalisé des opérations de nettoyage et désinfection. Cependant, ces opérations, si elles sont mal réalisées, vont générer une quantité importante d'aérosols qui vont pouvoir contaminer l'ensemble des surfaces de l'atelier de production.

Mécanismes de l'adhésion microbienne

Après contact avec la surface, les bactéries vont adhérer à celle-ci, ce qui rendra leur élimination plus difficile. L'adhésion bactérienne est le résultat d'interactions intermoléculaires entre les surfaces des bactéries et la surface solide.

Les forces d'interactions entre une bactérie et une surface résultent des interactions entre molécules composant ces deux corps ainsi que de leur distance de séparation (cf. Figure 1). Parmi les différentes interactions intermoléculaires, on peut citer :

LA BIOCONTAMINATION DES SURFACES

- les interactions électrodynamiques dues aux forces de van der Waals et comprenant les forces de Keesom (dus à un effet d'orientation entre deux molécules polaires), les forces de Debye (dus à un effet d'induction entre une molécule polaire et une molécule apolaire) et les forces de London (dus à un effet de dispersion entre deux molécules apolaires),

- les interactions acido-basiques au sens de Lewis correspondant à des interactions entre un accepteur et un donneur d'électron(s). Parmi ces interactions, on peut citer la liaison hydrogène,

- les interactions hydrophobes définies comme "des interactions entre deux molécules ayant plus d'affinité l'une pour l'autre que pour l'eau",

- les forces de répulsion électrostatique liées au recouvrement des nuages électroniques des atomes.

Après son immobilisation par ces différentes forces, les bactéries vont synthétiser des exopolymères qui vont consolider l'adhésion bactérienne. Les bactéries vont ensuite pouvoir se multiplier et coloniser l'ensemble de la surface; on parle alors de biofilm. Ce phénomène rend plus difficile le décrochage des bactéries, donc leur élimination par les opérations de nettoyage et désinfection et leur détection par les techniques classiques de contrôle de surface (voir chapitre 4).

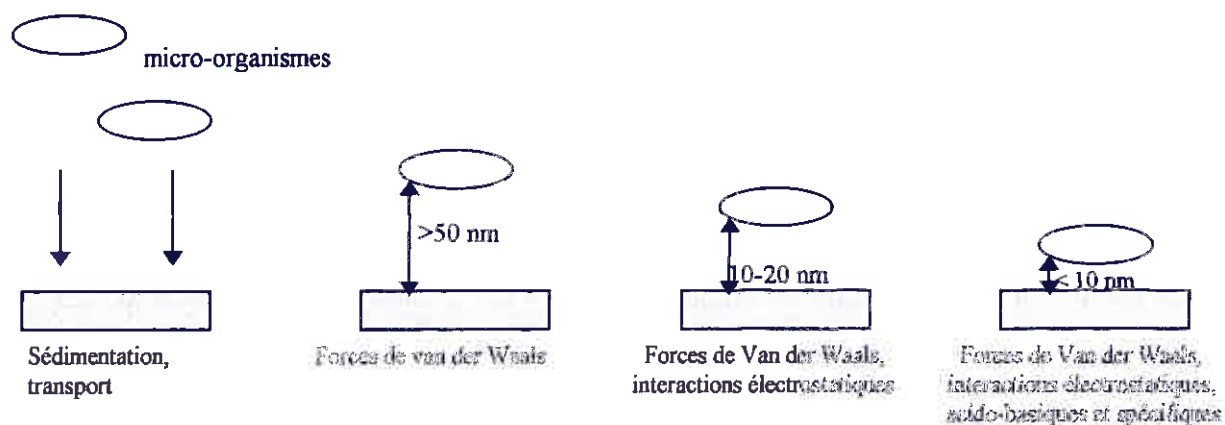


Figure 1 : Interactions entre un micro-organisme et une surface en fonction de leur distance de séparation.

LA BIOCONTAMINATION DES SURFACES

3. CONSEQUENCES DE LA CONTAMINATION MICROBIOLOGIQUE DES SURFACES

Dans l'industrie agro-alimentaire, le produit est en général lui-même une source de contamination ce qui rend la lutte antimicrobienne plus difficile. C'est pourquoi à l'exception de certains produits (lait UHT, ...), un certain taux de contamination peut être toléré. De plus, la présence de micro-organismes peut être volontaire (produits fermentés comme le yaourt ou le saucisson sec).

Cependant, la présence de certains micro-organismes (Brochotrix thermosphacta, Pseudomonas fragi, Bacillus cereus...) peut être néfaste pour le produit (altération du produit et de ses propriétés organoleptiques), mais aussi pour le consommateur (présence de bactéries pathogènes comme Listeria monocytogenes, Salmonella typhimurium, Clostridium perfringens...).

4. LES DIFFERENTES METHODES D'ETUDE

Méthodes par empreinte

Un support recouvert d'un substrat nutritif est appliqué sur la surface à analyser. Les bactéries présentes sur la surface vont être transférées sur le substrat gélosé. Des cellules viables cultivables vont alors se multiplier et donner naissance à une colonie. La contamination de la surface s'exprime donc en UFC/cm² (Unité Formant Colonie). Ces méthodes correspondent donc à une empreinte de la surface. On peut séparer ces méthodes en trois catégories (cf. Figure 2) :

Lame gélosée, il s'agit d'une lame dont l'une ou les deux faces sont recouvertes de substrat nutritif sélectif ou non ;

Boîte de contact, le substrat est contenu dans une boîte "Rodac" (boîte type boîte de Pétri) ;

Petrifilm™ (3M Santé, 92, Clamart, France), le substrat nutritif est déposé sur une feuille. Contrairement aux autres méthodes, l'utilisation du Petrifilm™ nécessite un équipement spécifique puisqu'il faut réhydrater le substrat nutritif avec de l'eau distillée stérile.

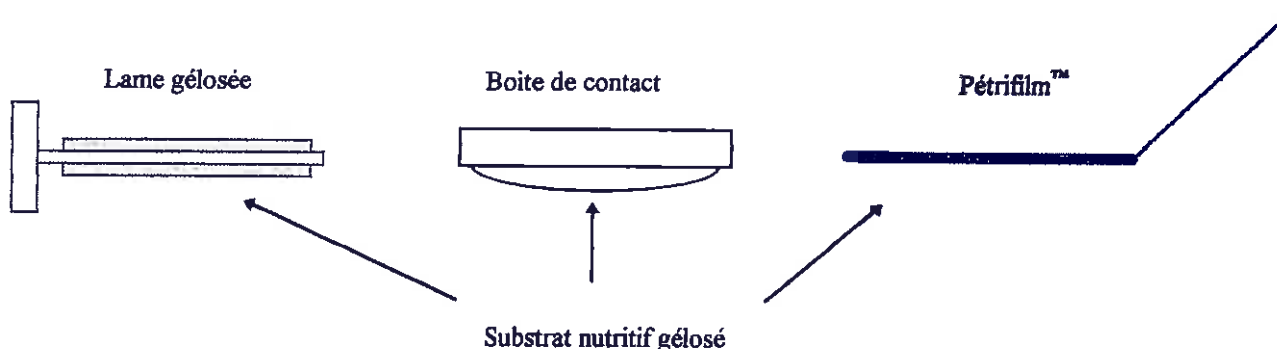


Figure 2 : Les différentes méthodes de prélèvement par empreinte

LA BIOCONTAMINATION DES SURFACES

Méthodes par frottis

La surface à analyser est " frottée " à l'aide d'un **écouvillon** ou d'une **éponge** ou d'une **chiffonnette**. Les micro-organismes décrochés de la surface sont ensuite transférés dans un liquide de suspension (tryptone-sel). La suspension bactérienne ainsi obtenue est ensuite traitée selon les techniques de microbiologie classique (dilutions décimales et ensemencement sur milieu nutritif gélosé sélectif ou non). En ce qui concerne l'écouvillonnage, nous préconisons l'utilisation d'un premier écouvillon humide puis d'un deuxième sec. Des études effectuées sur le terrain par le CTSCCV ont montré un meilleur taux de récupération que ceux obtenus avec un simple écouvillonnage.

• Dépôt de gélose nutritive sur la surface

Cette méthode est plutôt réservée à des études ponctuelles ou à des études dites de laboratoire. Elle consiste à recouvrir la surface à contrôler de gélose nutritive. La contamination de surface est évaluée par dénombrement des colonies s'étant formées dans la gélose. Cette technique est souvent employée pour le contrôle de la nettoyabilité de surfaces difficilement accessibles (tuyaux, surfaces coudées...).



Figure 3 : Principe simplifié de l'ATPmétrie

Autres méthodes

• ATPmétrie

Les micro-organismes, comme tous les êtres vivants, contiennent de l'ATP. L'ATPmétrie consiste donc à effectuer un dosage enzymatique de cette molécule (Figure 3). Cette technique ne permet en aucun cas de connaître la quantité de bactéries présentes sur la surface, mais donne plutôt une indication de la propreté de la surface. En effet, la quantité d'ATP contenue dans une cellule bactérienne dépend de l'espèce et de l'état physiologique de la cellule microbienne. Par ailleurs, les souillures organiques contiennent également de l'ATP, c'est pourquoi cette méthode peut être un moyen rapide de contrôle de l'efficacité d'une opération de nettoyage.

• AMPS™

Cette technique a été développée par la société Ecoprisme (92, Bagneux, France). Les micro-organismes sont décrochés de la surface par des ultrasons et mis en suspension dans un liquide. La suspension bactérienne est ensuite traitée selon les techniques de microbiologie classique.

5. CONCLUSION

Les industriels ont à leur disposition de nombreuses techniques de contrôle de l'état microbiologique des surfaces. Cependant, aucune de ces méthodes ne donne entièrement satisfaction. En effet, une étude conduite au CTSCCV a montré que, quelle que soit la technique (Pétrifilm, boîte de contact, lame gélosée ou double écouvillonnage), le taux de contamination des surfaces était sous estimé (faible taux de décrochage, bactéries stressées par les opérations de nettoyage donc non cultivables). Les autres techniques sont d'une utilisation plus complexe pour être appliquées en industrie.

Pour tout renseignement complémentaire,
veuillez contacter :

Pascal GARRY
CTSCCV
Tél : 01 43 68 57 85
Fax : 01 43 76 07 20
E-mail : garry@vet-alfort.fr