

ETUDE DU COMPORTEMENT DES SOUCHES DE *BACILLUS CEREUS* ATCC 9139 ET D'*ESCHERICHIA COLI* ATCC 25922 PAR LA METHODE DES CHALLENGE-TESTS LORS DE LA CONFECTION DE BOUILLIES A BASE DE PATE DE MIL FERMENTEE EN PROVENANCE DE OUAGADOUGOU (BURKINA-FASO)

K. David AKAKI^{1,2,3,*}, Sadat AW³, Gérard LOISEAU² et Jean-Pierre GUYOT¹.

¹ Institut de Recherche pour le Développement (IRD), UR 106, 911 Avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier cedex 5, Montpellier, France.

² Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, (CIRAD), UR 24, Programme Agro-alimentaire, Avenue Agropolis, BP 5035, 34032 Montpellier cedex 1, France.

³ Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse et de l'environnement (LAPISEN), Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny (INP-HB), BP 1313 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

(Reçu le 06 Décembre 2007, accepté le 28 Mai 2008)

* Correspondance et tirés à part, e-mail : davidakaki@yahoo.fr

RÉSUMÉ

Très consommés comme aliments de complément à l'allaitement maternel, les bouillies infantiles à base de céréales fermentées de mil doivent être exemptes de germes susceptibles de provoquer des toxi-infections alimentaires. Ce travail s'inscrit dans cet objectif.

Notre méthodologie de travail est basée sur l'utilisation des challenge-tests. Les microorganismes utilisés sont *Bacillus cereus* (ATCC 9139) et *Escherichia coli* (ATCC 25922) issus de la collection de l'institut Pasteur.

Inoculés simultanément dans la farine à différentes étapes de fabrication nous avons examiné leur développement à travers des dénombrements sur des milieux sélectifs appropriés.

Il en ressort que lors du processus de décantation la population totale aérobie mésophile chute de 10^9 à moins de 1 UFC/g, *B. cereus* et *E. coli* de 10^8 à moins de 1 UFC/g. Au stade de la mouture, la flore totale aérobie mésophile décroît de 10^9 à 10^3 UFC/mL, *B. cereus* et *E. coli* de 10^8 à moins de 1 UFC/g. Les essais réalisés après la cuisson couplée à un séjour de 72 heures à la température ambiante de la pâte non fermentée inoculée ont renseigné sur la

présence éventuelle de spores de germes acides résistants et l'absence de spores de *B. cereus*.

La fermentation lactique et les bactéries lactiques sont bénéfiques pour la stabilisation des aliments testés. Les différents dénombrements des bactéries viables et cultivables donnent des résultats inférieurs aux quantités minimales infectieuses.

Mots-clés : *Challenge-test, céréales, fermentation lactique, bactéries pathogènes, hygiène, qualité sanitaire, Bacillus cereus, Escherichia coli.*

ABSTRACT

Study of *Bacillus cereus* ATCC 9139 and *Escherichia coli* ATCC 25922 behavior using challenge-tests method during preparation of traditional millet-based fermented gruels from Ouagadougou (Burkina-Faso).

Very consumed as food supplements to breastfeeding, boiled cereal-based fermented millet must be free of germs capable of causing foodborne illness. This work is part of this objective. Our work methodology is based on the use of challenge-tests. We used *Bacillus cereus* (ATCC 9139) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) from the collection of the Pasteur Institute. Simultaneously inoculated at different stages for achieving population levels between 10^6 and 10^7 CFU / g, we examined their development through counting on selective media. It appears that after the inoculation during the decanting the total aerobic mesophilic population drop from 10^9 to less than 1 CFU / g, *B. Cereus* and *E. coli* from 10^8 to less than 1 CFU / g. When inoculated during milling, total aerobic mesophilic flora decreases from 10^9 to 10^3 CFU / mL, *B. Cereus* and *E. coli* from 10^8 to less than 1 CFU / g. Tests of cooking and leaving 72 hours at ambient temperature of the non-fermented dough inoculated with the strain tests provided information on the possible presence of spores of acid resistant germs and the lack of spores of *B. cereus*. Both sets showed that the lactic fermentation and lactic acid bacteria are beneficial for the stabilization of this kind of food. Different bacteria counts viable and cultivable gave results below the minimum infectious numbers.

Keywords : *Challenge Test, cereals, lactic fermentation, pathogenic bacteria, sanitation, health quality, Bacillus cereus, Escherichia coli.*

I - INTRODUCTION

On estime que les micro-organismes pathogènes dans les aliments sont responsables d'environ 6,5 à 33 millions de toxi-infections et de plus de 9000 décès chez l'Homme par an dans le monde [1].

Plusieurs bactéries pathogènes ont été identifiées comme responsables de troubles liés à l'alimentation chez le jeune enfant en général. Ce sont *Bacillus cereus* [2-4], des souches pathogènes d'*Escherichia coli* [5], mais aussi *Clostridium perfringens*, *Campylobacter sp*, *Salmonella sp*, *Aeromonas sp*, *Shigella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio sp*, *Listeria monocytogenes* [6-9].

Escherichia coli est rencontrée dans la flore intestinale de l'homme à raison de 10^6 à 10^7 UFC par gramme dans les matières fécales soit 80% de la flore aérobie. De plus en plus, la découverte de nombreux sérotypes ont permis d'indexer cette bactérie comme une des causes majeures des maladies entériques. Les toxines produites sont soit sous contrôle plasmidique (hémolysines et entérotoxines) et/ou chromosomique (cytotoxine) [10].

Bacillus cereus est présent dans toutes les catégories de produits alimentaires à savoir les céréales, les épices, les légumes, les produits carnés, les produits laitiers [11] ainsi que dans le sol et l'environnement [2, 12]. Il est responsable de deux types de symptômes : le syndrome diarrhéique et le syndrome de type émétique [2, 11]. Le niveau de contamination dans les aliments incriminés se situe en général entre 10^3 et 10^9 UFC/g [11]. Tous ces symptômes conduisent à une déshydratation intense de l'organisme et à la perte de l'ingéré, deux effets qui portent gravement atteinte à la santé des enfants. La toxine émétique trouve dans l'aliment au moment où il est consommé. Elle est stable à 126°C pendant 90 minutes, à $+4^\circ\text{C}$ pendant 2 mois et à des pH compris entre 2 et 11. Elle résiste à l'activité de la trypsine et de la pepsine. La production d'entérotoxines diarrhéiques a lieu en phase stationnaire de croissance généralement avec une population par gramme d'aliment comprise entre 10^7 et 10^8 UFC [11]. Le siège de la production de toxines par les bactéries ingérées se trouverait au niveau de l'intestin grêle. Ces toxines sont instables entre $+4^\circ\text{C}$ et $+25^\circ\text{C}$, elles sont totalement inactivées par chauffage à 56°C pendant 5 minutes. De plus, les spores de ce germe sont très adhésives aux surfaces des matériaux [12, 13] à cause d'une forte hydrophobicité et la présence de longs appendices à la surface de ces dernières [11] qui les rendent très difficiles à éliminer par les procédés classiques de nettoyage et de désinfection.

L'analyse de la matière première et du procédé de fabrication montre que la présence de ces germes pathogènes est due à une conjonction de contamination par les ustensiles de cuisine, les mains, les bouillies infantiles elles-mêmes [7] et les additifs [3]. Les contaminations des bouillies fermentées cuites sont l'effet de manipulations, d'un stockage et d'un

conditionnement inadaptés [7]. Les micro-organismes en cause sont généralement neutrophiles [14]. Mais certains sont capables de résister aux conditions extrêmes telles que les faibles valeurs de pH des aliments acides et du suc gastrique, aux températures élevées lors des chauffages, aux fortes concentrations en sel [14-17].

Les moyens pour lutte sont multiples. On peut citer entre autres l'effet de l'élévation de la température [6], la réduction de l'activité d'eau dans l'aliment [18]. Cependant, ce type de traitement ne concerne que les formes végétatives. Aussi, l'aptitude à sporuler de certaines espèces telles que *Bacillus cereus* et *Clostridium perfringens* rend-elle difficile la lutte contre ces bactéries pathogènes dans les industries alimentaires [19]. La fermentation est aussi un moyen d'amélioration de la qualité microbiologique des aliments [9, 20]. Des essais menés avec ces deux types de pâtes de céréales (non fermentées et fermentées) fait ressortir que les bouillies à base de pâtes fermentées présentent un niveau de contamination pour les bactéries pathogènes nettement inférieur [6, 7, 9, 20]. De plus, on assignerait à la fermentation lactique une amélioration de la digestibilité des céréales en réduisant les facteurs anti-nutritionnels et augmentant ainsi la disponibilité des vitamines, des acides aminés essentiels [1, 9, 21-23]. Les produits de la fermentation lactique sont capables d'abaisser la valeur du pH en dessous de 4 avec pour conséquence le ralentissement voire l'arrêt de la croissance des micro-organismes responsables de la dégradation des aliments [1, 21, 24]. Il est établi que la multiplication des micro-organismes est fonction de facteurs environnementaux et nutritionnels tels que le pH, l'oxygène, l'activité de l'eau, la composition de l'aliment [17, 25-27]. Gaillard *et al.*[28] ont montré qu'il existerait une synergie entre la diminution du pH et l'augmentation de la température mais qu'à l'inverse l'acidification d'un milieu chaud réduit l'effet de la température. A cela, vient s'ajouter une possible interférence entre les différents germes présents dans le milieu [6]. Cette "co-habitation" peut entraîner soit une inhibition de la croissance soit une suppression de la virulence due probablement à une absence de synthèse de la toxine chez *Staphylococcus aureus* [21].

L'étude des voies d'amélioration de la qualité sanitaire des bouillies infantiles à base de céréales fermentées de mil est une exigence pour préserver la santé des jeunes enfants des pays en voie de développement. La méthode utilisée pour cette étude est la réalisation de "Challenge Tests" conformément aux recommandations de l'ADRIA (Association pour le Développement de la Recherche Agro-Alimentaires) [29-31]. Les microorganismes utilisés sont *Bacillus cereus* (ATCC 9139) et *Escherichia coli* (ATCC 25922) issus de la collection de l'institut Pasteur.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

II-1. Traitement du mil

Les essais ont porté sur de la pâte non fermentée, fermentée et après cuisson. La fermentation a été réalisée naturellement avec du mil en provenance des marchés de Ouagadougou (Burkina-Faso). Le mil est lavé à la main avec de l'eau de marque EVIAN et mis à tremper à 30 °C pendant 18 heures (ratio grains/eau : 1/1,5 w/v). Les grains trempés sont broyés à l'aide d'un mixeur THERMOMIX VORWERK (en fonction Turbo durant quatre minutes). La filtration est la séparation par passage sur un tamis de mailles 300 µm du broyat additionné d'eau. Le filtrat obtenu est soit conservé à 4°C (pâte non fermentée), soit mis à 30°C durant 18 heures suivi d'une élimination du surnageant (pâte fermentée). La pâte fermentée ainsi produite et le surnageant sont conservés au congélateur à -20°C. Avant chaque utilisation, la quantité nécessaire est prélevée et réchauffée à la température ambiante (25 °C) (30 minutes pour la pâte non fermentée et 24 heures pour la pâte fermentée).

Pour la cuisson de la pâte fermentée (étape ultime de transformation), deux volumes de surnageant (2/1 v/v) sont portés à ébullition pendant 6 à 10 minutes puis, on y additionne lentement un volume de pâte fermentée. Le mélange est agité à l'aide d'une spatule durant 10 à 15 minutes. Pour la cuisson de la pâte non fermentée, celle-ci est portée à 70 – 75 °C pendant 20 à 25 minutes.

II-2. Les souches bactériennes

Deux souches bactériennes pures de la Collection de l'Institut Pasteur ont été utilisées. Ce sont :

- *Bacillus cereus* souche ATCC 9139 [24],
- *Escherichia coli* souche ATCC 25922 [32] Il s'agit du sérotype O6 appartenant au groupe d'*Escherichia coli* entéro-toxique [10].

II-3. Les milieux de culture

Nous avons utilisé les milieux suivants : la gélose Columbia (Biorad Ref : 64674), la gélose pour *Bacillus sp* [33], la gélose Plate Count Agar (PCA) (Fluka Ref : 70152), le bouillon nutritif (Difco Ref : 234000), l'eau peptonée tamponnée (Biorad Ref : 64334), de l'eau physiologique [10], la gélose ECD MUG (4-Methylumbelliferyl B-D-Glucuronide *Escherichia coli*) (Fluka Ref : 44657) [34], la gélose Mannitol-Yolk-Polymyxin (MYP) (Biorad Ref : 69604) additionnée de sulfate de polymyxine (Sigma Ref : P-4932) et d'émulsion de jaune d'œuf (Sigma Ref : E-7899) [2].

La préparation des milieux est conforme aux indications de vente.

Pour la revivification des souches en provenance de l'Institut Pasteur, elle a été conforme aux exigences du fournisseur. Parallèlement, on réalise des isolements sur boîtes de Pétri de milieu de revivification (gélose Columbia ou gélose pour *Bacillus sp.*) Les colonies isolées sont mises en culture sur gélose Columbia ou gélose pour *Bacillus sp.* incliné et conservé à l'abri de la lumière au réfrigérateur à 4°C.

Pour la numération des bactéries testées, soit 1 mL de pâte non fermentée ou 20 g de pâte fermentée sont prélevées. Les dilutions sont réalisées dans de l'eau physiologique stérile et homogénéisées (vortex). On ensemence en surface trois boîtes de Pétri contenant les milieux PCA, MYP, et ECD MUG avec 0,1 mL de dilution. Ces milieux servent respectivement pour le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile, de *Bacillus cereus* et d'*Escherichia coli*.

- Flore totale aérobie mésophile

Le milieu PCA est incubé à 30 °C pendant 24 heures. Représentant la qualité microbiologique générale d'un produit naturel ainsi que le suivi de son évolution, toutes les colonies sur milieu PCA sont comptées.

- *Bacillus cereus*

-Sur milieu PCA

Le milieu PCA est incubé à 30 °C pendant 24 heures. Les colonies de *Bacillus cereus* sont de grandes tailles ($\varnothing > 0,5$ mm) irrégulières plates et blanchâtres.

-Sur MYP

Quant au milieu MYP les colonies de *Bacillus cereus* sont rugueuses, sèches, roses (mannitol-) et entourées d'un halo de précipité blanchâtre (lécithinase+) [10].

-Spores

Pour le dénombrement des spores de *Bacillus cereus*, on traite l'échantillon pendant 10 minutes à 80 °C pour détruire les formes végétatives. On laisse reposer à la température ambiante pendant 72 heures avant de réaliser les dilutions et étalement sur MYP.

- *Escherichia coli*

-Sur milieu PCA

Le milieu PCA est incubé à 44°C pendant 24 heures. Les colonies d'*Escherichia coli* sont de petites tailles rondes, brillantes et blanchâtres.

-Sur ECD MUG

L'incubation est faite à 44 °C sur milieu ECD MUG pendant 24 heures. Les boîtes de Pétri sont examinées sous lumière ultra violette. Les colonies entourées d'un halo de fluorescence bleue sont présumées être celles d'*E.*

coli. Car sur ce milieu, cette bactérie possède une activité β -glucuronidase. Cette enzyme catalyse l'hydrolyse du 4-Methylumbelliferyl β -D-Glucuronide (incolore) en méthylumbelliféron (fluorescent)

mesurer rapidement les populations microbiennes en fin de revivification juste avant l'ensemencement des pâtes. La mesure de la turbidité des cultures microbiennes répond à ces exigences. Pour les deux souches, la relation $UFC/mL = f(A_{600})$ est linéaire de 0 à 0,40 unité d'absorbance, c'est à dire jusqu'à ce que le niveau de population maximal soit atteint dans le bouillon nutritif dans ces conditions de culture.

III-2. Challenge tests

III-2-1. Sur la pâte non fermentée

La contamination des farines peut intervenir avant fermentation et permettre aux souches pathogènes de s'adapter aux conditions du milieu et se maintenir dans le produit fermenté à des niveaux de population suffisamment élevés pour constituer un danger pour la santé des consommateurs. Pour étudier le comportement des deux souches tests lors de cette étape, trois challenge-tests ont été réalisés à une semaine d'intervalle. Les deux premiers essais ont utilisé le même lot de petit mil.

Pour chaque essai, trois fermenteurs ont été inoculés. Entre la 5^{ème} et la 6^{ème} heure, les produits fermentés ont subi une cuisson de 25 minutes à 75 °C. Le dernier dénombrement (après 72 heures) est fait après traitement thermique du produit fermenté à 80 °C pendant 10 minutes puis séjour à température ambiante (72 heures). Les niveaux d'inoculation avec la souche *E. coli* ATCC 25922 et de *B. cereus* ATCC 9139 sont suffisamment élevés pour constituer un danger pour la consommation.

Les résultats sont consignés dans les **Figures 1, 2** et **3**. Si l'on compare l'évolution du pH au cours des trois essais, on observe une bonne cinétique d'acidification eu égard à la chute du pH. Il est passé de d'environ 5 à 4, 4 heures après l'inoculation par les souches tests.

Concernant l'évolution la flore totale aérobie mésophile (**Figure 1**), on observe un niveau de population initial voisin de 10^9 UFC/mL pour chaque essai. Ces niveaux se maintiennent à des valeurs relativement constantes pendant les premières heures pour décroître rapidement par la suite. L'effet de l'acidification sur la flore totale aérobie mésophile rend compte de l'inhibition de la croissance, voire la destruction des germes bactériens sensibles à l'acidité et aux acides produits pendant la fermentation et à toutes autres substances microbiennes produites par les bactéries lactiques responsable de la fermentation.

Pour cette série d'essais, le traitement thermique à une diminution de près de 6 log décimaux pour laisser un niveau de population aérobie mésophile de 10^3 UFC/mL ; niveau qui reste stable 72 heures à température ambiante.

Un traitement thermique de 80 °C (mesuré à cœur) pendant 10 minutes est efficace pour détruire les formes végétatives des bactéries mais insuffisant pour conduire à la destruction des spores bactériennes.

Les dénombrements des germes totaux aérobies mésophiles sur milieu PCA après 5 heures de fermentation ou après cuisson renseignent sur la présence éventuelle de spores bactériennes dans le produit. Ces spores thermorésistantes, acidorésistantes se maintiennent à un niveau constant dans le produit fermenté cuit. Sur le milieu PCA, les spores capables de germer conduisent à la formation de colonies.

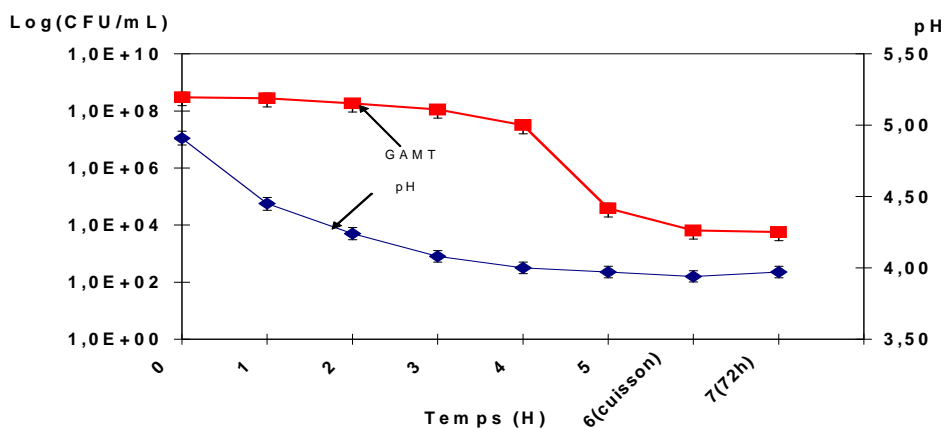


Figure 1 : Evolution de la flore totale aérobie mésophile et du pH en fonction du temps

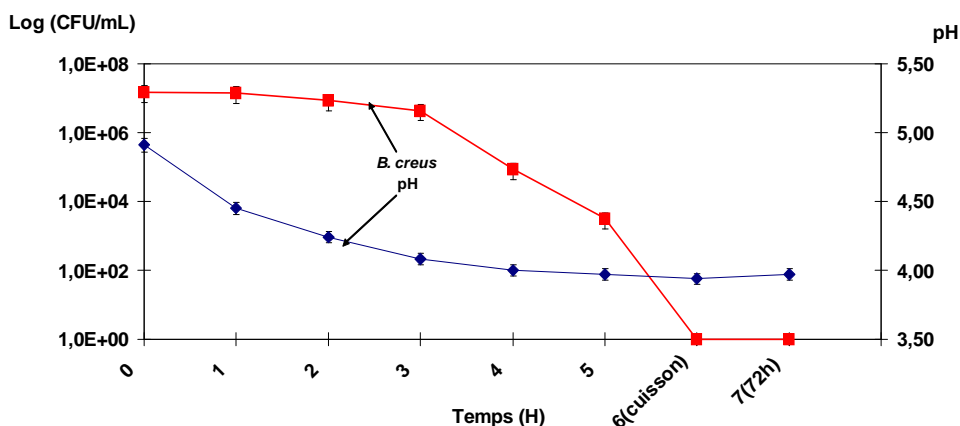


Figure 2 : Evolution de *B. cereus* ATCC 9139 et du pH en fonction du temps

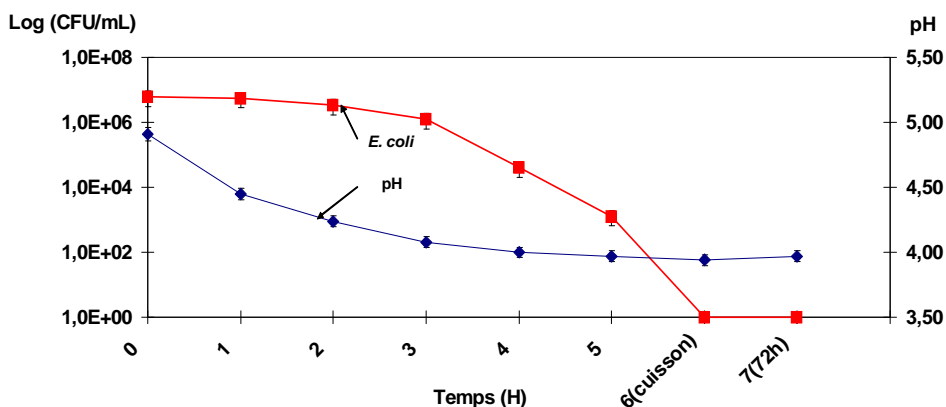


Figure 3 : Evolution d'*E. coli* ATCC 25922 et du pH en fonction du temps

Les évolutions des populations des deux souches tests lors de la fermentation (*Figures 2 et 3*) montrent que l'acidification du milieu entraîne une diminution des deux populations. La diminution des populations est étroitement corrélée à la diminution du pH. Quand la valeur du pH est au voisinage de 5, ce qui est le cas en début d'essai, les populations des deux souches tests varient peu. Par contre, des valeurs de pH proches de 4,5 entraînent aussitôt une forte diminution des populations. Pour les deux souches tests, un pH de valeur 4, conduit à une diminution rapide et importante des populations pouvant former des colonies sur les milieux de dénombrement utilisés.

Après cuisson et incubation à température ambiante pendant 72 heures, on ne dénombre aucune colonie d'*E. coli* ni de *B. cereus* sur les milieux utilisés. Cette absence de populations de la souche de *B. cereus* ATCC 9139 après cuisson et incubation de 72 heures à la température ambiante renseigne sur l'absence de spores de *B. cereus* dans le milieu.

III-2-2. Sur la pâte fermentée

Deux essais espacés d'une semaine ont été réalisés avec de la pâte fermentée préparée avec le même lot de mil. Les résultats sont illustrés par les *Figures 4, 5 et 6*.

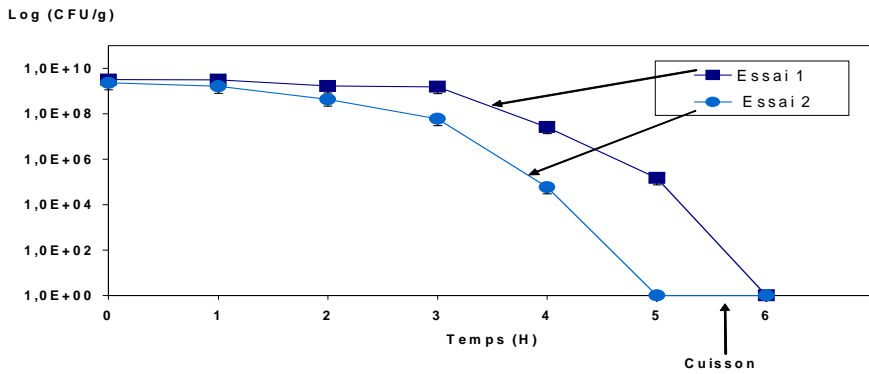


Figure 4 : Evolution de la flore totale aérobie mésophile dans une pâte de mil fermentée

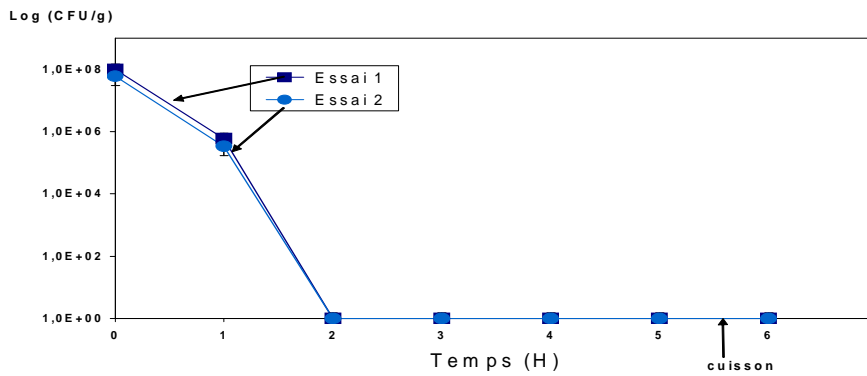


Figure 5 : Evolution de *B. cereus* ATCC 9139 dans une pâte fermentée de mil

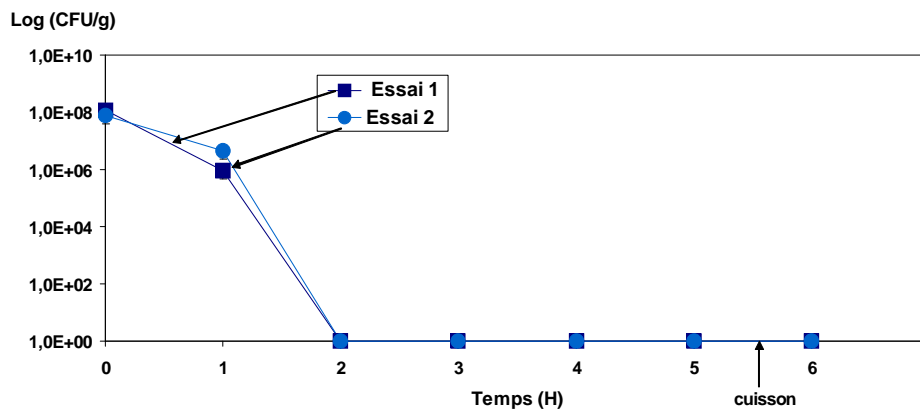


Figure 6 : Evolution d'*E. coli* ATCC 25922 dans une pâte fermentée de mil

L'évolution de la population aérobie mésophile après incubation des deux souches tests a été analysée sur milieu PCA (**Figure 4**). Chaque point est la moyenne des populations de trois lots de pâte fermentée inoculés à partir de la même pré-culture des souches tests. Entre la 5^{ème} et la 6^{ème} heure après inoculation, les pâtes fermentées inoculées ont été cuites.

Le niveau de population initial est élevé (10^9 UFC/g). Il correspond à la somme des populations présentes dans les pâtes fermentées, en particulier les bactéries lactiques responsables de la fermentation de la farine de mil et des deux souches tests. Les bactéries lactiques peuvent former des colonies sur milieu PCA.

Pour les deux essais, la population totale se maintient à son niveau initial pendant deux à trois heures puis chute rapidement, en particulier lors du 2^{ème} essai pour lequel, on note l'absence d'unité formant colonies 5 heures après l'inoculation dans les boîtes de Pétri de milieu PCA correspondant à la plus petite dilution (absence dans 0,02 g). Après la cuisson, pour les deux essais, on observe l'absence de germes totaux aérobies mésophiles dans 0,02 g de pâte.

Dans un milieu fermenté, le niveau de la population des bactéries lactiques se maintient à un niveau élevé pendant des durées supérieures à plusieurs jours voire à plusieurs semaines à des températures voisine de +4 °C.

Dans notre cas, la pâte fermentée pendant 18 heures pour atteindre un pH de 3,8, puis congelée lentement et stocké à -20 °C, est réchauffée à la température ambiante 24 heures avant les essais puis inoculée. Ces différents traitements thermiques ont sans doute altéré la viabilité des bactéries présentes dans la pâte fermentée.

L'évolution des populations de la souche *B. cereus* ATCC 9139 après inoculation de la pâte fermentée a été suivie sur milieu MYP (**Figure 5**). Le comportement de la souche de *Bacillus cereus* est très similaire d'un essai à l'autre. On observe une forte décroissance des populations dès l'inoculation d'environ 8 réductions décimales. L'effet de la cuisson ne peut être estimé car le protocole utilisé pour le dénombrement ne permet pas de dénombrer des populations à des niveaux inférieurs à 1 UFC/g dans 0,02g de la dilution 10^{-6} .

Les résultats des dénombrements de la souche *E. coli* ATCC 25922 sont montrés dans la **Figure 6**. Lors des deux essais successifs, la population diminue rapidement pour passer de 10^8 UFC/g à moins de 1 UFC/g dans 0,1 mL de la dilution 10^{-6} deux heures après l'inoculation.

Les deux essais confirment bien la protection que confère la fermentation lactique vis à vis des deux contaminants bactériens, introduits à des niveaux de population très élevés (10^7 UFC/g), en regard des niveaux pouvant être atteints lors de contaminations accidentelles.

Deux heures après l'inoculation, les populations en *B. cereus* et *E. coli* sont très éloignées des valeurs de doses minimales infectieuses soit 10^5 UFC pour *B. cereus* et 10^6 UFC pour *E. coli* (voire 10^3 UFC pour les souches entérohémorragiques).

En dehors de tout autre mécanisme, la valeur du pH de 3,8 de la pâte fermentée est en elle-même une barrière efficace. Les résultats obtenus montrent clairement que la fermentation lactique permet effectivement d'abaisser les niveaux de la population en dessous des doses minimales infectieuses pour *E. coli* ATCC 25922 quand le pH se rapproche de 4 et quand la valeur du pH est proche de 4,5 pour *B. cereus* ATCC 9139.

IV - CONCLUSION

Les challenge-tests réalisés avant la fermentation de la pâte ont montré un effet bénéfique de la réduction du pH sur la décroissance de la population des germes testés. La cuisson réalisée en fin de fermentation conduit à l'absence de spores de *B. cereus*.

Les résultats obtenus en utilisant la pâte fermentée ont montré que l'acidité de la pâte entraînait une chute plus rapide de la population des germes inoculés lorsque l'inoculation a lieu en milieu acide.

Ces résultats confirment l'intérêt de la fermentation lactique et des bactéries lactiques pour la stabilisation des aliments. Le pH, la présence d'acides organiques à des concentrations élevées, de bactériocines, etc... issus du métabolisme des bactéries lactiques protègent les aliments fermentés des contaminations pouvant être néfastes pour le jeune consommateur.

Le stress acide pouvant modifier le métabolisme des souches microbiennes pour les rendre viables mais non cultivables, il importe d'utiliser des méthodes de revivification plus sensibles. A ce titre, la PCR (Polymerase Chain Reaction) quantitative en temps réelle est potentiellement capable d'étudier la diversité microbienne d'un milieu et de quantifier chacune des populations microbiennes présentes. A un moindre coût, la DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) permet d'obtenir aussi ces résultats. L'étude de l'incidence de l'état physiologique des souches tests, sur leur aptitude à résister aux conditions du milieu, mériterait d'être aussi étudiée.

RÉFÉRENCES

- [1] - O'Sullivan, R. P. Ross and C. Hill, *Biochimie*, vol. 84 (2002) 593-604.
- [2] - R. Shaheen, M. A. Andersson, C. Apetroaie, A. Schulz, M. Ehling-Schulz, V.-M. Ollilainen and M. S. Salkinoja-Salonen, *International Journal of Food Microbiology*, vol.107 (2006) 287–294
- [3] - H. K. Olmez and N. Aran, *International Journal of Food Microbiology*, vol.98 (2005) 135-143
- [4] - R. B. Williams and J. Catchpole, *Vaccine*, vol.18 (2000)1178-1185
- [5] - S. J. Achá, I. Kühn, G. Mbazima, P. Colque-Navarro and R. Möllby, *Journal of Microbiological Methods*, vol.63 (2005) 229-238
- [6] - G. Duffy, R. C. Whiting and J. J. Sheridan, *Food Microbiology*, vol.16 (1999) 299-307
- [7] - N. F. Kunene, J. W. Hastings and A. von Holy, *International Journal of Food Microbiology*, vol.49 (1999) 75-83.
- [8] - J. Cleveland, T. J. Montville, I. F. Nes and M. L. Chikindas, *International Journal of Food Microbiology*, 71 (2001)1-20
- [9] - Y. Motarjemi, *International Journal of Food Microbiology*, vol.75 (2002) 213-229.
- [10] - J. P. Guiraud, “*Microbiologie alimentaire* ”, Ed Dunod, Paris, (1998).
- [11] - J. L. Chen, M. L. Chiang and C. C. Chou, *International Journal of Food Microbiology*, vol.128 (2008) 424-428.
- [12] - H. Abriouel, M. Maqueda, A. Gálvez, M. Martínez-Bueno and E. Valdivia, *Applied Environmental Microbiology*, vol. 68 (2002) 1473-1477.
- [13] - [N. Agata, M. Ohta and K. Yokoyama, *International Journal of Food Microbiology*, vol.73 (2002) 23-27.
- [14] - C. Hill, B. O'Driscoll and I. Booth, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 28 (1995) 245-254.
- [15] - F. Diez-Gonzalez and J. B. Russell, *Food Microbiology*, vol. 16 (1999) 367-374.
- [16] - M. G. Gänzle, C. Hertel and W. P. Hammes, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 48 (1999) 37-50.
- [17] - J.-H. Ryuand and L. R. Beuchat, *Food Microbiology*, vol. 16 (1999) 317-324.
- [18] - 18] J. A. Sarrias, M. Valero and M. C. Salmeron, *Food Microbiology*, vol. 19 (2002) 589-595.
- [19] - W. P. Hammes, M. J. Brandt, K. L. Francis, J. Rosenheim, M. F. H. Seitter and S. A. Vogelmann, *Trends in Food Science & Technology*, vol. 16 (2005) 4-11

- [20] - A. I. Sanni, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 18 (1993) 85-95.
- [21] - E. Caplice and G. F. Fitzgerald, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 50 (1999) 131-149.
- [22] - S. H. A. Elyas, A. H. El Tinay, N. E. Yousif and E. A. E. Elsheikh, *Food Chemistry*, vol. 78 (2002) 75-79.
- [23] - M. A. M. Ali, A. H. El Tinay and A. H. Abdalla, *Food Chemistry*, vol. 80 (2003) 51-54.
- [24] - L. M. Cintas, P. Casaus, M. F. Fernandez and P. E. Hernandez, *Food Microbiology*, vol. 15 (1998) 289-298.
- [25] - S. H. Beattie and A. G. Williams, *Food Microbiology*, vol. 19 (2002) 329-340.
- [26] - P. M. Molina, M. E. Sanz, P. M. A. Lucchesi, N. L. Padola and A. E. Parma, *Food Microbiology*, vol. 22 (2005) 469-473.
- [27] - E. de Boer and R. R. Beumer, *International Journal of Food Microbiology*, vol 50 (1999) 119-130.
- [28] - S. Gaillard, I. Leguerinel and P. Mafart, *Journal of Food Science*, vol. 63 (1998) 887-889.
- [29] S. Notermans, P. H. in't Veld, T. Wiltzes and G. C. Mead, *Food Microbiology*, vol. 10 (1993) 145-157.
- [30] S. Notermans and P. in't Veld, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 24 (1994) 33-39.
- [31] E. M. Vestergaard, *Dairy Food and Environmental Sanitation*, vol. 21 (2001) 206-209.
- [32] I. S. Boziaris and M. R. Adams, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 53 (1999) 105-113.
- [33] Institut Pasteur, “*Collection of bacterial strains of Institut Pasteur*”, Ed. Sixth, (1994).
- [34] CNERNA-CNRS, in “*Commission Evaluation de la Qualité Microbiologique des Aliments*”, Ed. Polytechnica, (1993) 52-123