

DS n°3

Microbiologie alimentaire – Flores d'altérations –Structure (paroi)

1. Salmonella - recherche de Salmonella

1. 1. Structure de la paroi et rôle dans la pathogénicité

1. Le document 1 représente un schéma de l'organisation de la paroi de *Salmonella*. Annoter ce schéma. Préciser le rôle des structures 1, 3 et 9.
2. Présenter la structure de l'élément 9 (pas de formule chimique exigée).
3. L'organisation de l'élément 6 est détaillée sur le document 2. Annoter ce document et donner le rôle exact des différentes fractions.
4. Cette structure (élément 6) est aussi désignée comme une endotoxine. Exposer les propriétés générales des endotoxines.

1. 2. Recherche de Salmonella dans un aliment

La recherche de *Salmonella* débute par une étape de préenrichissement puis d'enrichissement.

1. Quel est le rôle précis de ces étapes ? Citer un milieu possible pour chacune d'elle.
2. Après l'enrichissement est réalisé un isolement sur milieux sélectifs. On propose d'utiliser le milieu suivant : gélose DCL.
Composition pour IL :
Peptones 10g ; lactose 10g ; citrate de sodium 8,5g ; citrate de fer 1g ; désoxycholate 5g ; rouge neutre 20mg ; Na₂S₂O₃ ; agar 12g
3. Quel sera l'aspect des colonies suspectes de *Salmonella* sur ce milieu ? Justifier.
4. Le résultat de la recherche est donné sous la forme d'un plan à deux classes ; expliquer et donner le résultat attendu.
5. *Salmonella* est une bactérie fécale mais qui en fait pas partie de la flore commensale humaine (et animale) normale.
Quelle est la flore commensale intestinale de l'homme ?

2. Recherche et dénombrement de S.aureus

Certains *S.aureus* sont responsables d'intoxications alimentaires car produisent une entérotoxine, thermostable, donc encore présente dans des plats cuits.

1. La recherche se fait généralement sur milieu de Baird Parker.
Donner l'aspect des colonies suspectes de S. aureus en le justifiant.
Composition Baird Parker pour 1L :
peptones 10 g ; extrait de viande 5 g ; extrait de levure 1g ; pyruvate de sodium 10g ; glycine 12g ; LiCl 5g ; agar 20g ; émulsion de jaune d'oeuf 50cm³ ; tellurite de potassium 0,1g.
2. La recherche de l'entérotoxine peut se faire par méthode immunologique, mais on recherche plus couramment une autre protéine, la DNase. La majorité des souches entérotoxiques possèdent une DNase thermorésistante. Donner le principe de cette recherche.
3. L'origine de *S.aureus* dans un aliment est souvent exogène, et due à une contamination humaine.
S aureus fait-il partie de la flore commensale cutanée normale résidente d'un individu ? Décrire cette flore.
Quelles sont les origines des localisation possibles de *S.aureus* chez l'homme ?

3. Questions en vrac

1. Quelle est la température optimale et minimale de croissance des micro-organismes psychrotrophes ? Donner deux exemples dont un de bactérie pathogène.
2. Définir l'Aw
Quel est généralement l'ordre de grandeur de l'Aw des bactéries ? quel en est la conséquence au niveau de la conservation des aliments ?

Quels sont les micro-organismes supportant les Aw les plus bas ? donner un ordre de grandeur de cet Aw.

3. On dénombre dans des lots de viande hachée (par une méthode en milieu solide) les *E.coli*, les résultats sont :

Lot a) 160 ; 40 ; 170 ; 200 ; 50 (par gramme)

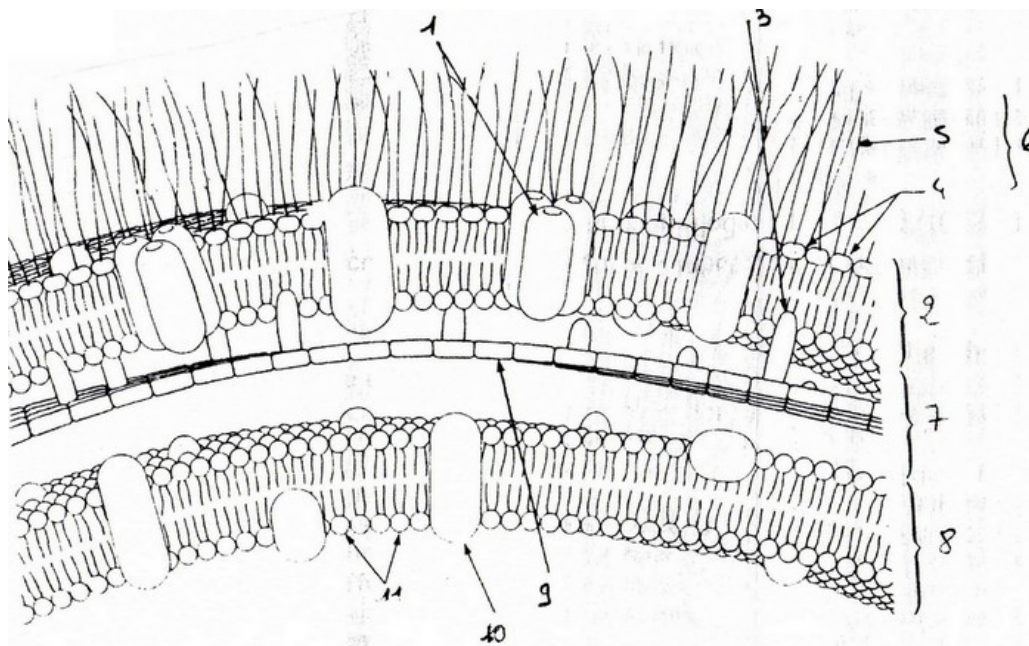
Lot b) 220 ; 140 ; 600 ; 150 ; 100 (par gramme)

Lot c) 110 ; 40 ; 30 ; 50 ; 20 (par gramme)

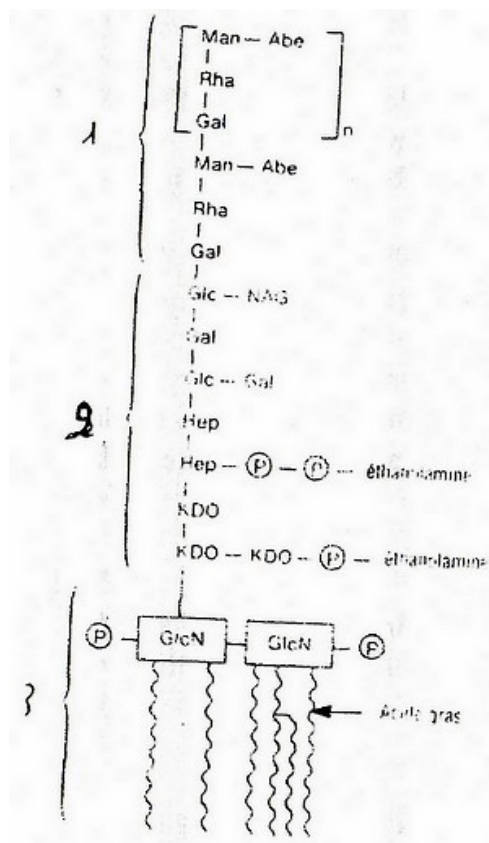
Les critères sont n = 5 ; c = 2 ; m = 50/g ; M = 500/g .

Quel sera le résultat rendu pour les trois lots A, B et C ? justifier (on rappelle qu'une tolérance analytique de 3xm est pratiquée pour les analyses en milieu gélose).

Document 1 :



Document 2 :



Corrigé

1. Salmonella

porine (protéine canal)
membrane externe
lipoprotéine de Braun
lipide A
chaîne latérale glucidique O
LPS (lipopolysaccharide)
Espace périplasmique
Membrane plasmique
Peptidoglycane
Protéine intrinsèque
Phospholipides membranaires

Rôles

1. Porine : passage de petites molécules hydrophiles -> perméabilité élevée de la membrane externe.
2. Lipoprotéine de Braun : liaison membrane externe-peptidoglycane.
3. Peptidoglycane : rigidité de la paroi ; forme de la bactérie ; évité les chocs osmotiques.

Peptidoglycane : constitué d'oseamines et d'acides aminés. Les oseamines : N-acétylglucoseamine et acide N-acétylmuramique s'enchaînent par liaisons β 1-4 osidiques.
L'acide N-acétylmuramique porte des tétrapeptides (L-Ala, D-Glu, L-Lys, L-Lys).
Les tétrapeptides sont reliés par des ponts peptidiques (réticulation) variables suivant les espèces bactériennes.

Chaîne latérale glucidique O variable : support de la spécificité antigénique donc à l'origine de la variabilité antigénique polysaccharide central : confère une charge négative à la surface bactérienne (présence de sucre et de phosphates donc charges -). lipide A : rôle toxique

Propriétés générales des endotoxines

Effet toxique : réaction fébrile (fièvre), leucopénie (diminution du nombre de GB), chute de la pression artérielle.

Thermostables

Faiblement antigéniques

Moins toxiques que les toxines protéiques.

Libérées lors de la lyse car elles font partie de la paroi.

Préenrichissement : non sélectif ; revivification et multiplication de toutes les bactéries y compris des salmonelles. Eau peptonnée tamponnée (conditions non stressantes car quantité très faibles au départ)

Enrichissement : sélectif . Inhibition de la flore gram + et éventuellement des coliformes. Les salmonelles se multiplient donc enrichissement. Bouillon au sélénite , bouillon au vert malachite et au chlorure de magnésium.

Les colonies suspectes de Salmonella seront incolore (lactose -, pas d'acidification) et à centre noir le plus souvent (réduction du thiosulfate en sulfures révélés par le sel de fer).

Présence (résultat non satisfaisant) / absence (résultat satisfaisant)

Pour salmonella : absence dans ...g (général 10 ou 25g)

Flore commensale intestinale (constante) 99% anaérobies stricts = flore de Veillon

1% aéro-anaérobies dont E.coli et autres entérobactéries, Entérocoques, *Lactobacillus*

2. S.aureus

Colonies noires brillantes, au moins 0,5 mm de diamètre -> réduction du tellurite en tellure
Entourées d'un halo clair -> protéolyse

Zone opaque au sein du halo clair -> action de la lécithinase avec précipitation des acides gras libérés.

La DNase thermostable résiste à un chauffage de 15 min à 100°C. L'action de l'enzyme sur l'ADN libère des nucléotides qui sont révélés par le bleu de toluidine (coloration rosé).

Flore cutanée constante est surtout gram + : *S.epidermidis*, Microcoques, Corynébactéries , Streptocoques. *S.aureus* est possible en flore transitoire.

Se retrouve aussi de façon inconstante mais fréquente dans la flore nasale et pharyngée, ou dans la flore intestinale.

Rem : infections cutanées fréquentes dues à S. aureus(abcès, impétigo)

3. Questions en vrac

Psychrotrophes : t° optimale 25 à 35°C - t° minimale 0 à 5 °C

Exemples : Pseudomonas, Bacillus, Listeria monocytogenes (pathogène), Yersinia interocoliticq,(pathogène).

Aw : teneur en eau libre (dans un aliment en général).

C'est le rapport entre la pression partielle de vapeur engendrée par un aliment dans une atmosphère close et la pression partielle de l'eau pure placée dans les mêmes conditions.

Aw - P/Po (définition basée sur la méthode de mesure de l'Aw)

On peut aussi écrire $Aw = \frac{n_{\text{solvant}}}{n_{\text{solvant}} + n_{\text{soluté}}}$

Pour les bactéries, croissance généralement pour des Aw de l'ordre de 0,95 à 1 (jusqu'à 0,9 ; en dessous de 0,9 développement surtout de levures + moisissures).

Donc conservation des aliments dont l'Aw est supérieur à 0,9 au réfrigérateur car prolifération bactérienne possible (viande, produits laitiers, fruits et légumes...).

Les Aw tolérés les plus bas sont de environ 0,7 : cas des moisissures ou bactéries xérophiles, osmophiles.

Si m = 50, 3m = 150 ; 10m = 500

Lot a) 160 ; 40 ; 170 ; 200 ; 50 (par gramme)

Trois résultats entre 3m et 10m ; lot non satisfaisant (il n'en faudrait que 2 sur 5)

Lot b) 220 ; 140 ; 600 ; 150 ; 100 (par gramme) Un résultat supérieur à 10m : donc lot non satisfaisant

Lot c) 110 ; 40 ; 30 ; 50 ; 20 (par gramme) Un résultat supérieur à m mais inférieur à 3m : lot satisfaisant Les critères sont n = 5;c = 2;m = 50/g ; M = 500/g .