

---

# Écologie microbienne des meubles frigorifiques de vente

Sous projet 1 - Tâche 1A

---

Emmanuelle LAGENDIJK

Laboratoire d'études et de Recherches sur la Qualité des  
Aliments et sur les Procédés agroalimentaires, Afssa



## Plan

- Objectifs
- Matériels et Méthodes
- Résultats
- Conclusion

# Plan

- Objectifs
- Matériels et Méthodes
- Résultats
- Conclusion

## Objectifs

- Prélèvements au sein des MFV horizontaux à la coupe (produits Charcutier traiteur)
  - Définir les 3 zones les plus fréquemment et fortement contaminées
  - Identifier et dénombrer les espèces microbiennes dominantes cultivables (B, L et M)
  - Rechercher 3 germes pathogènes à Gram positif : *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*

## Objectifs

- Prélèvements au sein des MFV verticaux en libre service (produits de charcuterie emballés)
  - Définir les 3 zones les plus fréquemment et fortement contaminées
  - Identifier et dénombrer les espèces de moisissures dominantes cultivables

## Plan

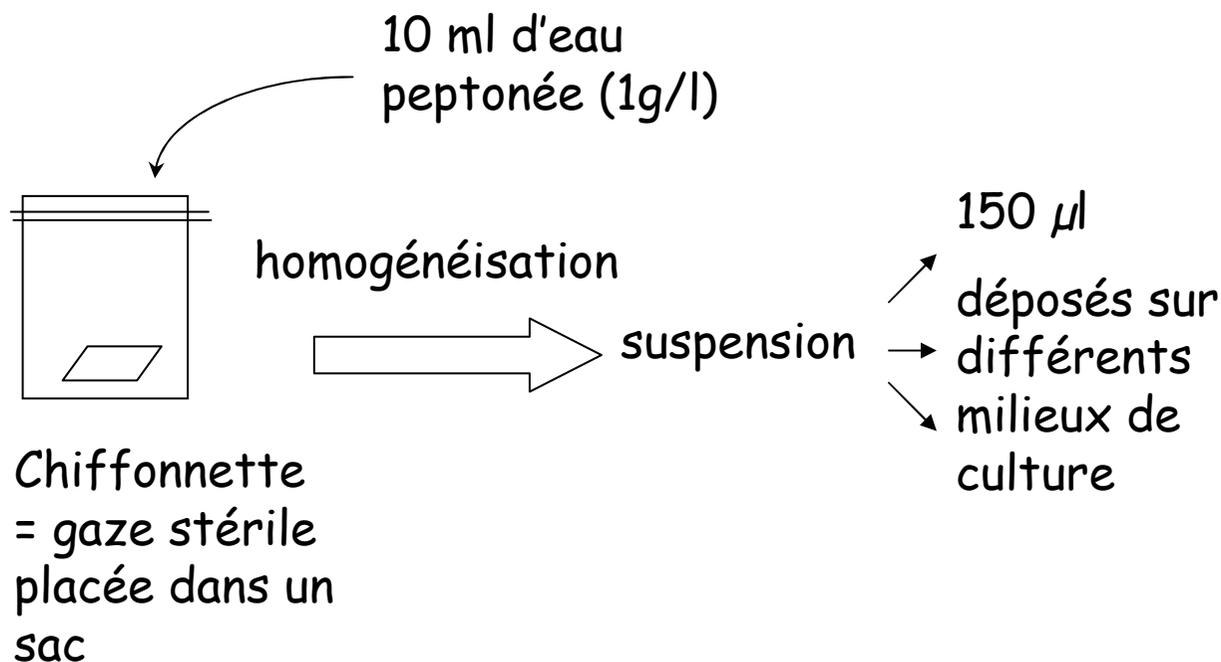
- Objectifs
- Matériels et Méthodes
- Résultats
- Conclusion

## Matériels et Méthodes

### ■ Prélèvements au sein des meubles



+ collecte de données (pH, T°, HR, ...)



## Matériels et Méthodes

### ■ Dénombrement et identification de la flore aérobie mésophile

- **Bactéries** : TSA-Ye + 0,1mg/l de pimaricine
  - galeries biochimiques
  - séquençage du gène codant l'ARN-16S (à venir)
- **Levures** : YPD + 50mg/l de chloramphénicol
  - séquençage du gène codant l'ARN-26S (INRA)
- **Moisissures** : EM et DRBC + 100mg/l de chloramphénicol
  - morphologie (MNHN)
  - séquençage du gène codant ITS ou  $\beta$ -tubuline

## Matériels et Méthodes

### ■ Recherche et dénombrement des germes pathogènes

- *Listeria monocytogenes* : 2 enrichissements + milieu ALOA
- *Staphylococcus aureus* : milieu Baird Parker testant l'activité de coagulase → présomptifs
- *Bacillus cereus* : milieu de Mossel + confirmation sur gélose au sang → présomptifs

# Plan

- Objectifs
- Matériels et Méthodes
- Résultats
- Conclusion

## Résultats

### ■ Cartographie de 4 MFV horizontaux

Zones	Densité surfacique en log(UFC/10cm <sup>2</sup> )			
	< 2	2 ≤ x < 3	3 ≤ x < 4	≥ 4
Rainure			1	3
<b>Plan de pose côté service</b>	1			3
<b>Reprise</b>			2	2
<b>Soufflage</b>		1	1	2
Plan de travail		1	1	2
Plan de pose au milieu	1		1	2
Derrière la grille en nid d'abeille	1	1		2
Plan de pose côté consommateur	1	2		1
Vitre partie haute	3		1	
Vitre partie inclinée	3	1		

Comparaison des zones en fonction de leur charge bactérienne

## Résultats

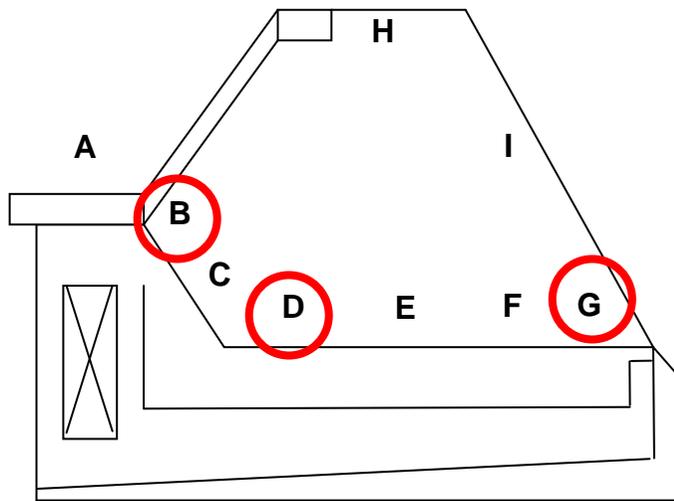
### ■ Cartographie de 3 MFV verticaux

Zones	Densité surfacique en log(UFC/10cm <sup>2</sup> )	
	< 2	≥ 2
Plaque métallique horizontale en bas	1	2
Reprise	1	2
Soufflage	2	1
Plaque métallique fond verticale en bas	2	1
Plaque métallique fond verticale au milieu	2	1
Derrière la reprise	2	1
Rainure	2	1
Plaque métallique horizontale au milieu	3	
Plaque métallique horizontale en haut	3	
Plaque métallique fond verticale en haut	3	

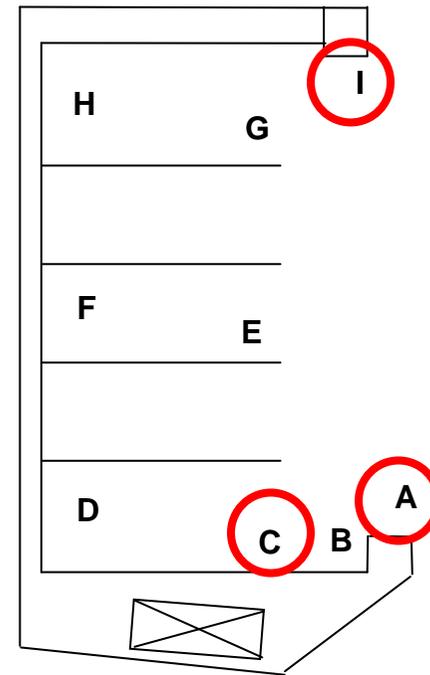
Comparaison des zones en fonction de leur charge en moisissure

# Résultats

## ■ Cartographie des MFV



Horizontaux



Verticaux

## Résultats

### ■ Flore transitoire/résidente

- ✓ Identification des bactéries dans le 1<sup>er</sup> et le 5<sup>ème</sup> prélèvement
  - ✓ Identification des levures et moisissures dans le 1<sup>er</sup> prélèvement uniquement
- Espèce trouvée uniquement dans prélèvement 1 : transitoire
- Espèce présente dans prélèvement 5 : nommée par la suite « résidente »

## Résultats identifications

3 zones de 5 meubles horizontaux, prélèvements 1 et 5

### ■ Bactéries

Meubles horizontaux	Réfrigérateurs domestiques
188 isolats dont 15 encore ND	198 isolats identifiés
36 espèces différentes	72 espèces différentes
75% bactéries à Gram positif	65% bactéries à Gram positif

## Résultats identifications

3 zones de 5 meubles horizontaux, prélèvements 1 et 5

### ■ Bactéries

	Meubles horizontaux	Réfrigérateurs domestiques
<i>Phylum</i>	% d'espèces appartenant aux différents phylum	
<i>Actinobacteria</i>	31	32
<i>Firmicutes</i>	44	30
<i>Proteobacteria</i>	22	35
<i>Bacteroidetes</i>	3	3

## Résultats identifications

3 zones de 5 meubles horizontaux, prélèvements 1 et 5

### ■ Bactéries

Meubles horizontaux	Réfrigérateurs domestiques
➤ <i>Staphylococcus xylosus</i> (5 Mbl)	➤ <u><i>Kocuria varians</i></u> (5 Fr)
➤ <i>Staphylococcus sciuri</i> (4 Mbl)	➤ <u><i>Staphylococcus xylosus</i></u> (5 Fr)
➤ <i>Pseudomonas putida</i> (4 Mbl)	➤ <u><i>Pseudomonas fluorescens</i></u> (5 Fr)
➤ <i>Kocuria varians</i> (3 Mbl)	➤ <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (5
➤ <i>Pseudomonas fluorescens</i> (3 Mbl)	Fr)

## Résultats identifications

3 zones de 6 meubles horizontaux, prélèvements 1

### ■ Levures

- 30 isolats dont 16 ND
- Une seule espèce trouvée *Debaryomyces hansenii* sur les 3 premiers meubles

### ■ Moisissures

- 41 isolats dont 1 ND
- 37 isolats appartenant au genre *Penicillium*

## Résultats identifications

3 zones de 5 meubles verticaux, prélèvements 1

### ■ Moisissures

- 72 isolats identifiés dont 2 ND
- 11 genres différents
  - *Penicillium spp.* (5 Mbl)
  - *Trichoderma harzianum* (4 Mbl)
  - *Cladosporium herbarum* (3 Mbl)

## Résultats

3 zones de 10 meubles horizontaux, prélèvements 1

### ■ Recherche de pathogènes

- *Listeria monocytogenes* n'a pas été détectée (idem frigos)
- *Staphylococcus aureus* présomptifs non détectés (retrouvés dans 43% des réfrigérateurs )
- *Bacillus cereus* présomptifs dans 30% des meubles (retrouvés dans 70% des réfrigérateurs)

# Résultats

## Données collectées

### ■ Meubles horizontaux

- Nettoyage toutes les semaines (partiel tous les jours)
- T° : Soufflage < Plan de pose < Reprise  
HR : Soufflage > Plan de pose > Reprise

### ■ Meubles verticaux

- Nettoyage une fois par an
- T° et HR : ~ les mêmes pour les 3 zones

Produits homologués utilisés pour le nettoyage

## Plan

- Objectifs
- Matériels et Méthodes
- Résultats
- Conclusion

# Conclusion

## Difficultés rencontrées

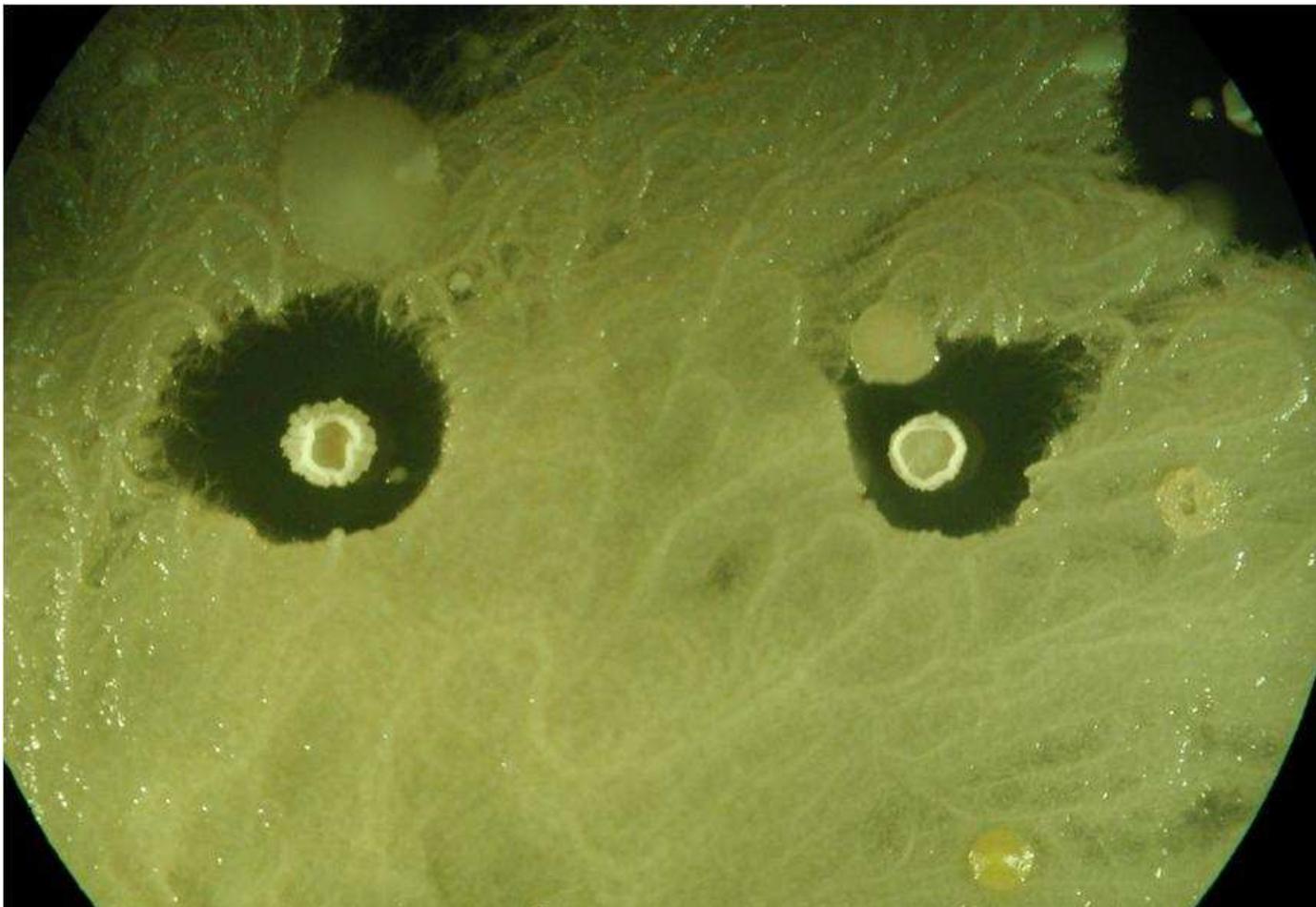
- Difficile de trouver un magasin volontaire
- Beaucoup d'acteurs (Equipe HPR, MNHN, INRA)
- Prélèvements le matin avant l'ouverture du magasin (~ 5h)
- Difficultés pour avoir des informations sur les procédures d'hygiène
- Probablement des décalages entre ce qui est dit et la réalité

## Conclusion

### ■ Les meubles horizontaux

- Diversité des espèces plus faible que dans les réfrigérateurs domestiques, mais espèces dominantes sont les mêmes
- Présentent moins de pathogènes présomptifs que les réfrigérateurs domestiques, seule *Bacillus cereus* détecté (3 Mbl sur 10)
- Nettoyage des meubles plus régulier explique vraisemblablement les différences observées

### ■ Les meubles verticaux, plus de diversité en moisissure



*Bacillus subtilis* VS *Bacillus mycooides*