



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Abbès Laghrou. Khenchela

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master académique en
Biologie

Filière: Biologie

Option: microbiologie appliquée

Thème:

Contribution à l'étude de la qualité bactériologique des repas de Fast-Food de la ville KHENCHELA



Présenté par:

M^{lle} ABABSA Walida

Devant le jury:

Présidente : M^{eme} SEBIHI F. Z (MCB) Univ. Abbès Laghrou -Khenchela

Promotrice : M^{eme} KHEDDOUMA A. (MAA) Univ. Abbès Laghrou -Khenchela

Examinatrice : M^{eme} NAILI O. (MAB) Univ. Abbès Laghrou -Khenchela

Année Universitaire : 2018-2019

Remerciement

Je remercie tout d'abord ALLAH tout puissant qui m'a donnée le courage et la volonté et de m'avoir accompagné tout le long de la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier les membres du jury; M^{eme} SEBIHI F. qui nous fait l'honneur de présider le jury et M^{eme} NAILI O. pour son rôle d'examinatrice, je les remercie grandement pour le temps qu'ils ont consacré à l'évaluation de mon travail.

Je tiens à remercier ma promotrice M^{eme} KHEDDOUMA A. Pour l'attention qu'elle a porté à mon travail, pour toute l'aide qu'elle m'a fournit pendant la réalisation de ce travail. Malgré votre occupation vous étiez toujours disponible .Merci encore pour la patience ainsi que votre munificence, je n'ai pas assez des mots pour décrire votre surveillance et direction. J'ai l'honneur d'apprendre à côtés de vous. Que Dieu vous protège.

Je remercie encore tous mes enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie et en particulier M. BOUSSAA A. M^{eme} Dalaa Y. et M. Benghaneme M.

Ce travail a été réalisé aux laboratoires pédagogiques de l'université de KHENCHELA avec l'aide des ingénieurs de ces laboratoires, qu'elles trouvent ici le témoignage de nos profondes reconnaissances et nos sincères gratitude.

On ne sera terminé sans remercier tous les collègues avec qui nous avons passé d'agréables moments pendant les cinq années de nos études, on les remercie tous pour leurs soutiens. En terminant, on remercie toute personne qui m'a aidée de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACE

Je tiens tout d'abord à remercier *ALLAH* le tout puissant et miséricordieux, *Ce travail est dédié à mon grand-mère. J'aurais bien aimé ta présence le jour de ma soutenance de mémoire de Master, mais hélas, Dieu a voulu autrement. Que Dieu préserve ton âme.*

A mon très cher père,

À la source de ma fierté, mon appui, qui a consacré sa vie pour faire de moi ce que je suis.

A ma très chère mère,

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma Considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et Mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le tout puissant, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A mes chers frères : Khire Eddine et aze Eddine

J'espère atteindre le seuil de vos espérances. Que ce modeste travail soit L'expression de ma profonde affection. Je vous remercie pour le soutien moral et l'encouragement que vous m'avez accordés. Je vous souhaite tout le bonheur que vous méritez.

A toute ma famille : Mes oncles Rachid, Abdel Salem, Nacer Hamza ,Ahmed Oussema

A mes tantes: Salima Dalila , khadidja, saida, Djahida ,et cousines Nouara Imen Sabra ainsi les petites Arin Massil Abdel haque, Amani Braa

Toutes mes amies sans exception.

A tous les enseignants qui ont participé à ma formation durant mes Cinq ans, sans les nommer, car la liste est longue et le risque est grand d'en oublier un. A tous ceux qui m'ont aidé de près et de loin pour la réalisation de ce travail.

WALIDA/SALSABIL



| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figure 1. Le diagramme d’Hishikawa (5M) ou causes à effets permet de recenser les origines des contaminations des aliments | 06 |
| Figure 2. <i>Salmonella</i> après coloration Gram (microscope électronique) de nombreux flagelles couvrant les bactéries | 12 |
| Figure 3. <i>Shigella flexneri</i> vue au microscope électronique | 15 |
| Figure 4. Morphologie d’ <i>Escherichia coli</i> sous microscope électronique | 16 |
| Figure 5. Cellules végétatives de la souche <i>B. cereus</i> en microscopie électronique à balayage | 18 |
| Figure 6. Aspect de <i>S. aureus</i> en microscopie électronique (X 20000) | 21 |
| Figure 7. Microphotographies de <i>C. jejuni</i> en microscopie électronique Grossissement x 4000 et Grossissement x 10 ⁵ | 24 |
| Figure 8. Photographie représente les plats servis dans le E1 et ces prix | 34 |
| Figure 9. Photographie représente les plats servis dans le E2 et ces prix | 35 |
| Figure 10. Photographie représente les plats servis dans le E3 et ces prix | 35 |
| Figure 11. Photographie représente les plats choisis des trois sites pour les analyses microbiologiques A : <i>Humburger</i> , B : <i>Bourak</i> , C : <i>Plat de chawarma</i> | 36 |
| Figure 12. Préparation de la solution mère (SM) | 37 |
| Figure 13 . Photographie montrant les résultats d’isolement sur gélose PDA. | 42 |
| Figure 14. Photographies montrant les résultats d’isolement sur gélose VRBL. | 44 |
| Figure 15. Photographies montrent les résultats de la culture sur la gélose Chapman | 46 |
| Figure 16. Résultats du test catalase (+) (A) et de test coagulase (-) (B) | 47 |
| Figure 17. Photographies montrant les résultats sur la gélose <i>Salmonella-Shigella</i> (SS). | 48 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Tableau I. Les germes spécifiques de quelques matières premières alimentaires | 05 |
| Tableau II. Facteurs de risques d'infections à <i>Salmonella</i> non typhique | 13 |
| Tableau III. Différents caractères bactériologiques de <i>Staphylococcus aureus</i> | 21 |
| Tableau IV. Les résultats de dénombrement sur le milieu PDA | 43 |
| Tableau V. Les résultats de dénombrement sur le milieu VRBL | 45 |
| Tableau VI. Les résultats des tests biochimiques | 49 |

Ac : Anticorps

ADN : Acide désoxyribonucléique

AEEC : *Escherichia coli* capables de lésions d'attachement et d'effacement

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

Ag H : Antigène flagellaire H

Ag H1 : formule de l'antigène flagellaire, 1ère phase

Ag H2 : formule de l'antigène flagellaire, 2ème phase

Ag O : formule de l'antigène somatique O

AMP : Adénosine monophosphate.

ARN : Acide ribonucleique ribosomale.

ATP : Adénosine triphosphate.

a_w : Activité de l'eau (water activity).

β : Béta

B. cereus : *Bacillus cereus*

BGN : Bacille Gram Négatif

C. jejuni : *Campylobacter jejuni*

C° : Degré Celsius

CF : Coliformes fécaux

CT : Coliformes totaux

DAEC : *Escherichia coli* d'adhésion diffuse

DO : Déclaration obligatoire.

E. coli : *Escherichia coli*

ECE Agg : *Escherichia coli* Enteroaggregativeeffacing *Escherichia coli*).

EHEC : *Escherichia coli* entérohémorragique

EIEC : *Escherichia coli* entéro- invasifs

EPEC : *Escherichia coli* entéro-pathogènes

ETEC : *Escherichia coli* entérotoxinogène

FMAT : Flore Mésophile Aérobie Totale

Gb3 : globotriaosylceramide

GEA : Gastro-entérite aigüe

h : heure

H₂S: Hydrate de soufre.

ICAM : intracellular cell adhesion molecule

IgA : Immunoglobuline de type A

IgG : Immunoglobuline de type G

IgM : Immunoglobuline de type M

IL : interleukine

ISO : Organisation Internationale de normalisation

LPS : Lipopolysaccharide.

Le signe + : positive

Le signe - : négative

min: minute

ml : Millilitre

O₂ : Oxygène

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONPG: Ortho-Nitro-Phenyl-Galactopyranoside

PCR : Réaction en chaîne par polymérase (Polymerase chain reaction).

PDA : Potato Dextros Agar

pH : Potentiel d'hydrogène

S. aureus:*Staphylococcus aureus*

SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique

SM : Solution mère

sp : espèce /specie

spp : pluriel specie

STEC :*Escherichia coli* productrices de shigatoxines.

Stxs : Shiga-like toxines

TIA : Toxi-infection alimentaires.

TIAC : Toxi-infection alimentaire collective

TSST-1 :Toxic Shock Syndrome Toxin-1

UFC : Unité formant colonies

VP : Voges Proskauer

% : Pour cent

| | |
|------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Introduction | 01 |
| Etude Bibliographique | |
| I. la contamination alimentaire | 04 |
| I. 1. Définition | 04 |
| I. 2. Les origines de la contamination alimentaire | 04 |
| I.2.1 La Contamination endogène | 04 |
| I.2.2. La Contamination exogène | 05 |
| I.3. Les Conséquences de la présence de micro-organismes sur l'aliment | 09 |
| I.3.1.Conséquences positives | 09 |
| I.3.2 Conséquences négatives | 09 |
| II. Les intoxications alimentaires | 11 |
| II.1.Toxi-infections alimentaires collectives | 11 |
| II.1.1.Intoxication | 11 |
| II.1.2.Toxi-infection alimentaire | 11 |
| II.1.3. Intoxication | 11 |
| II.2. Les agents responsables de la toxi-infection alimentaire | 12 |
| II.2 .1. <i>Salmonella</i> | 12 |
| II.2.2. <i>Shigella</i> | 14 |
| II.2.3. Colibacilles: <i>Escherichia coli</i> | 15 |
| II.2.4.Toxi-infection à <i>Bacillus cereus</i> | 18 |
| II.2.5. <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | 19 |
| II.2.6. Intoxication staphylococcique | 20 |
| II.2.7. Intoxication botulinique | 23 |
| II.2.8. <i>Campylobacter jejuni</i> | 23 |
| III. Les maladies infectieuses d'origine alimentaire | 26 |
| III.1. Choléra | 26 |
| III.2. La salmonellose | 27 |
| III.3. La shigellose | 28 |
| III.4. L'intoxication alimentaire staphylococcique | 28 |
| III.5. Le botulisme | 29 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| III.6. La gastroentérite à <i>Campylobacter jejuni</i> | 29 |
| III.7. La gastroentérite à <i>Escherichia coli</i> /Colibacillose | 30 |
| IV. Hygiène et sécurité alimentaire | 31 |
| IV.1. Notion de qualité hygiénique | 31 |
| IV .2. Sécurité alimentaire | 31 |
| IV. 3 .La Différence entre l'hygiène des aliments et l'hygiène alimentaire | 32 |
| IV .4. Hygiène des aliments | 32 |
| IV.5. Maîtrise de la sécurité des aliments | 32 |
| IV. 6. Applications à la sécurité des aliments | 33 |

Matériel et Méthodes

| | |
|--------------------------------------------------------------|-----------|
| I. Sites de prélèvements (Enquête) | 34 |
| I.1. Le site 1 (E1) | 34 |
| I.2. Le site 2 (E2) | 35 |
| I.3. Le site 3 (E3) | 35 |
| II. Echantillonnage | 36 |
| II.1. Choix de plats à tester | 36 |
| II.2. Préparation des échantillons | 36 |
| III. Analyses microbiologiques | 37 |
| III.1. Dénombrement la Flore Mésophile aérobie totale (FTAM) | 37 |
| III.2. Dénombrement des coliformes thermo tolérants | 38 |
| III.3. Recherche des <i>staphylocoques</i> pathogènes | 38 |
| III.4. Recherche des <i>salmonelles</i> | 39 |
| III.4.1. Le pré-enrichissement | 39 |
| III.4.2. L'enrichissement | 39 |
| III.4.3.L'isolement | 39 |
| III.4.5. L'identification | 40 |

Résultats et Discussion

| | |
|-------------------------------------------------------------------|-----------|
| I. Dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux. | 42 |
| II. Dénombrements des indicateurs de contamination fécale. | 44 |
| III. Recherche des germes pathogènes | 46 |
| III.1. Recherches de <i>Staphylococcus aureus</i> | 46 |
| III.2. Recherche de <i>Salmonella</i> | 47 |
| Conclusion | 50 |

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Les « Fast-food » sont des unités de restauration rapide à amplitude d'ouverture importante, où l'on peut consommer ou emporter les repas sur place (assis ou debout). Un assortiment limité (parfois une prestation unique) de produits à faible prix unitaire et présentés dans un emballage approprié excluant la vaisselle traditionnelle. On y sert principalement le Hamburger, les pommes de terre frites, diverses boissons... Le type de restauration rapide le plus important et le plus répandu est de loin le fast -Food. Il est possible que certains établissements de fast-food proposent à la fois, à côté des hamburgers et des frites, d'autres produits tels que des pizzas. [13]

La restauration rapide de type fast-food connaît actuellement un essor grandissant dans notre pays. Différentes raisons expliquent ce phénomène :

- L'évolution des conditions de vie et de travail:
- L'éloignement du lieu de travail (souvent plusieurs kilomètres) du lieu de résidence, le trafic urbain difficile dans les grandes agglomérations,
- le nombre croissant de femmes exerçant une activité professionnelle hors de leur foyer, le travail à horaire continu, n'accordant que 15 à 20 minutes de pause pour le déjeuner.

Ces facteurs rendent pratiquement impossible le retour à domicile surtout à midi et contribuent donc au développement de la restauration rapide.[04]

La diffusion de plus en plus large des Fast-Food et leur développement à l'heure actuelle s'accompagnent d'un risque de plus en plus élevé de TIAC ; l'investigation épidémiologique de tels foyers devient donc un outil indispensable pour les décideurs de santé afin de mieux connaître, et donc de mieux traiter et prévenir ce problème de santé publique. [01]

Les maladies d'origine alimentaire sont une cause importante de morbidité et de mortalité à travers le monde, de telle sorte que l'assurance de la sécurité alimentaire représente un enjeu majeur pour les pouvoirs publics, les consommateurs et les professionnels de produits destinés à la consommation humaine. L'OMS estime que deux millions de personnes meurent chaque année de diarrhées infectieuses consécutives à la consommation de denrées alimentaires [49].

Des études antérieures indiquent que les micro-organismes pathogènes les plus fréquemment rencontrés dans les aliments sont *Salmonella*, *Clostridium*, *Staphylococcus* et *Escherichia coli* [63]

Des bactéries pathogènes peuvent être retrouvées sporadiquement dans ces aliments du fait de l'utilisation de matières premières contaminées et de la contamination apportée par la transformation du produit ou de son stockage. L'efficacité des techniques utilisées pour maîtriser le risque microbiologique est profondément liée aux propriétés physico-chimiques du produit alimentaire, notamment l'activité de l'eau, ainsi qu'à la nature et à l'état physiologique de la flore pathogène présente [01].

Les bactéries pathogènes *Campylobacter*, *Salmonella*, *Klebsiella* et *E. coli* sont les causes les plus communes d'infection entérique au niveau mondial [12] et l'incidence de ces micro-organismes demeure préoccupante.

Aucun produit alimentaire ne peut maintenir sa qualité originale et optimale indéfiniment. Pendant le stockage, il est inévitable qu'une certaine détérioration se produise, qui rendra le produit inacceptable pour la consommation [02].

Il est cependant très difficile de concilier sécurité microbiologique et qualités organoleptiques, du fait de la grande variabilité existante, tant au niveau biologique (aliments crus, microorganismes différents), qu'au niveau pratique (temps de stockage, températures, vie des produits chez le consommateur...) [03].

Les questions de recherches qui découlent du thème traité étaient: Quels sont les facteurs de risques de consommation des repas servis dans Fast- Food ? Quels sont les bactéries pathogène présentes? Quel est le lien qui existe entre les germes présents et l'émergence des maladies infectieuses alimentaires, particulièrement ceux impliqués dans les diarrhées humaines?

De l'ensemble de ces questions, l'hypothèse formulée est la présence des germes possèdent une pathogénicité et une virulence (facteurs de virulence) qui peuvent s'accroître et persister dans ces endroits et contaminer des repas préparés.

L'objectif général de cette étude était de contribuer à la réduction des risques de toxi-infections alimentaires liés à la consommation des repas contaminés.

L'objectif spécifique consiste en la mise en évidence et évaluer la qualité bactériologique hygiénique et sanitaire des repas du Fast- Food dans la ville de Khenchela (Algérie), identifier les germes isolés des repas et déterminer les caractéristiques phénotypiques et biochimiques des souches isolées.

Notre étude comporte trois parties :

1^{ère} partie bibliographique consacrée aux généralités sur la contamination et l'intoxication alimentaire, en particulier la microbiologie des plats cuisinés et les affections liées à leur ingestion.

2^{ème} partie expérimentale comporte les analyses microbiologiques effectuées au niveau du laboratoire pédagogique de la faculté de science de nature et de la vie, Khenchela

3^{ème} partie fournisse et interpréter les résultats obtenus, leur discussion et les perspectives.

I. La contamination alimentaire

I.1.Définition

Pour qu'il y ait infection, il faut d'abord qu'il y ait eu contamination. On distingue différents mécanismes: contamination directe par contact (homme à homme, animal à homme, objet à homme, etc.), contamination par l'intermédiaire de l'environnement(aérosols respiratoires, eaux de baignade..), contamination par ingestion d'un produit (lui-même contaminé), intervention directe ou indirecte d'un vecteur. La prévention de ces intoxications non spécifiques consiste au respect des règles d'hygiène et le refroidissement rapide des denrées empêchant la prolifération des germes. [05] Une contamination n'évolue pas forcément vers une infection car les micro-organismes peuvent être en trop faible quantité (il existe des doses minimales infectantes) ou bien être détruits ou éliminés avant d'agir. [06]

I.2.Les origines de la contamination alimentaire

Les micro-organismes des aliments peuvent préexister dans la matière première avant toute manipulation et /ou transformation, être apportés accidentellement lors des manipulations ultérieures de l'aliment, et /ou être ajoutés volontairement. [07] La contamination microbienne est ainsi inévitable pour presque tous les aliments et revêt deux formes: originelle ou primaire d'une part et secondaire et d'autre part. [08]

I.2.1 La Contamination endogène

Les aliments bruts ne sont pas stériles : ils portent des microorganismes divers et adaptés appelés germes spécifiques [09]. L'abattage d'urgence d'animaux malades ou accidentés constitue aussi un risque particulier. En effet, l'affaiblissement de la résistance organique, les troubles digestifs par décubitus peuvent entraîner l'ensemencement profond de la viande. De même, les conditions d'abattage (saignée tardive et malpropre, éviscération tardive) contribuent à alourdir les contaminations. La viande peut également se contaminer au moment de l'abattage à partir de la flore de l'intestin, de la peau, des muqueuses de l'animal. [08]

Tableau I. les germes spécifiques de quelques matières premières alimentaires [01]

| Germes spécifiques | | |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Produit brut | Micro-organismes présents B : bactérie ; M : moisissure ; L : levures | Actions des microbes |
| LAIT | B : bactéries lactiques (Streptocoques, lactobacilles) B : Bactéries protéolytiques (<i>Alcaligenes viscolactis</i>) B : <i>Pseudomonas</i> | fermentation lactique lait visqueux goût de poisson |
| VIANDE | B : Lactobacille, <i>Leuconostoc</i> , <i>Pseudomonas</i> , | goût et odeur avariés |
| VOLAILLE | B : <i>Achromobacter</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Alcaligenes</i> | détérioration de la peau et mauvaise odeur |
| ŒUFS | M : <i>Pénicillium</i> , <i>Sporotrichum</i> B : <i>Salmonelles</i> | Moisissures bleues-vertes, rosées Production de toxines |
| LÉGUMES | M : <i>Pénicillium</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Trichoderma</i> B : <i>Pseudomonas</i> , <i>Erwinia</i> , B : <i>Cellulomonas</i> , <i>Cladosporium</i> , | Moisissures bleues-vertes Moisissures grises Moisissures cotonneuses Moisissures vertes Goût douceâtre de champignon, pourriture Destruction de la cellulose |
| FRUITS | M : <i>Pénicillium digitatum</i> (agrumes) M : <i>Diplodia</i> , <i>fusarium</i> L : <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Diverses moisissures de surface et dans la pulpe Fermentation alcoolique |
| GRAINS | Diverses moisissures, levures et bactéries B : acétiques et alcooliques | Moisissures des grains, hydrolyse de l'amidon Fermentations |
| FARINE | Diverses moisissures et levures B : <i>Acetobacter</i> | Fermentation acide |

I.2.2. La Contamination exogène

La règle des 5M détaille cinq origines possibles :

- Matière première
- Matériel
- Main-d'œuvre
- Milieu
- Méthode[07]

Les aliments sont confrontés à différentes sources de contaminations microbiennes. Par exemple, les végétaux sont contaminés par l'air, le sol, l'eau, les engrais ... Les manipulations et les traitements technologiques sont également impliqués. 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 l'hygiène. Au cours des opérations de fabrication, la flore évolue qualitativement et quantitativement. [06]

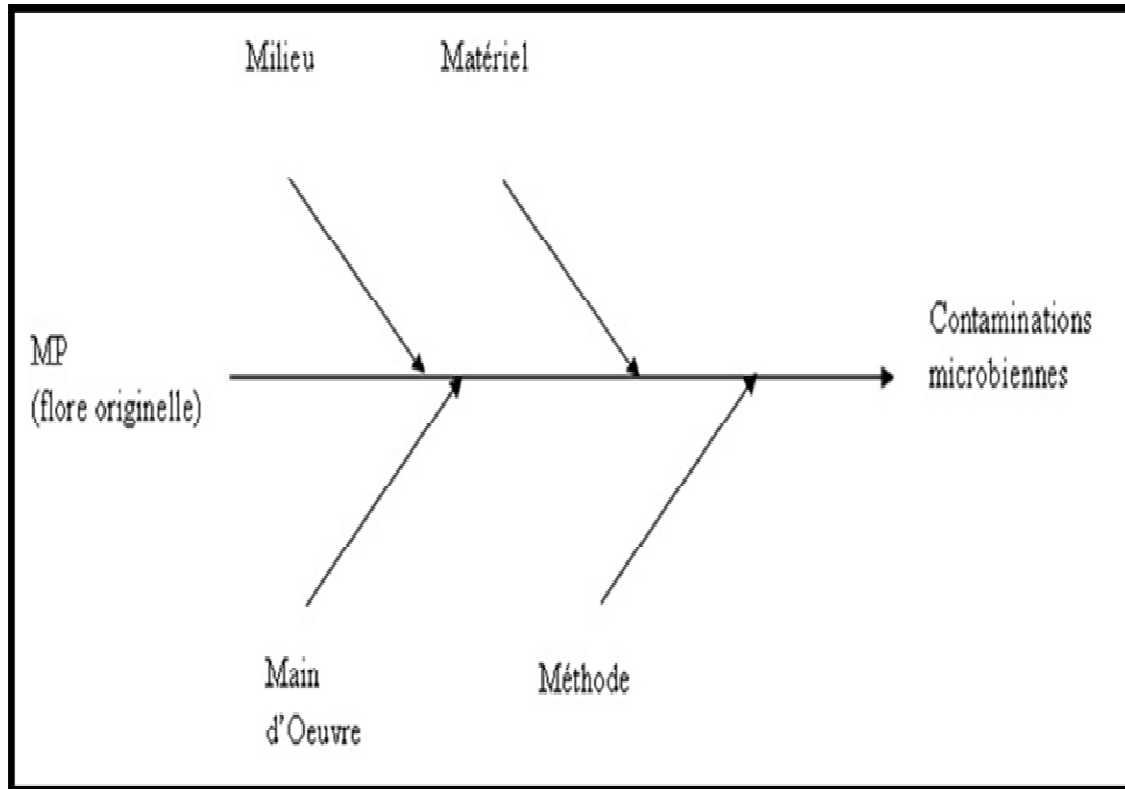


Figure 1. Le diagramme d’Ishikawa (5M) ou causes à effets permet de recenser les origines des contaminations des aliments [01]

I.2.2.1. Contamination parmatière première

C’est la flore issue des animaux et des végétaux. On peut distinguer la normale, rencontrée chez les sujets sains (flore commensale) 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. La flore pathogène est totalement différente : la flore végétale au métabolisme plutôt orienté vers les glucides, alors que celle des animaux l’est vers les protéines. [06] La matière travaillée est source de l’apport initial sur le site considéré. Elle est à l’origine de la contamination croisée, c’est-à-dire d’apports secondaires. [08] Tous les aliments sauf l’eau proviennent des êtres vivants ou une partie d’êtres vivants, animaux, végétaux ou champignons. Or, les parties des êtres vivants en contact avec l’extérieur (peau, tube digestif) ne sont pas stériles : Les micro-organismes de ces zones peuvent donc se retrouver dans l’aliment. Leur nombre dépendra des conditions de conservation.

D'autre part, les animaux comme les végétaux peuvent être malades, et les micro-organismes pathogènes responsables peuvent se retrouver dans l'aliment correspondant. [07]

I.2.2.2. Contamination par les manipulateurs

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 en général, les cheveux et autres pilosités sont très riches en micro-organismes (10^2 à 10^4 germes /cm² pour la peau). La contamination est de contact, Les germes incriminés sont surtout *Staphylococcus*, *Streptococcus*...etc. qui sont véhiculés par une peau saine ou par des plaies, abcès ou furoncles. [06] Manipulant les aliments, le personnel de préparation peut apporter de nombreux micro-organismes par l'intermédiaire :

- **de la peau**, des poils et cheveux souvent en contact direct avec les aliments, d'où le port de gants et d'une coiffe couvrante dans les industries alimentaires. [07] Le manque d'hygiène peut entraîner la présence sur la peau de bactéries intestinales contamination fécale : *Salmonella*. [06]
- **de la bouche** (éternuements, crachats), et aussi de la classique dégustation Les plats par les cuisiniers prélevant l'aliment avec leurs doigts, d'où le port de masques dans les industries alimentaires. [07] Des contaminations par aérosols : toux, éternuement, respiration peuvent également avoir lieu : germes d'angines, de sinusites, aussi bien bactériens (*Staphylococcus*, *Streptococcus*) [06]
- **des vêtements**, d'où le port d'une tenue de travail spécifique réservée aux ateliers de fabrication dans les industries alimentaires. Il s'agit de toute personne impliquée dans la fabrication des denrées alimentaires, depuis la production jusqu'au consommateur en y incluant les visiteurs. Le personnel des industries agro-alimentaires peut être des porteurs intestinaux, épidermiques et bucco-pharyngés de germes pathogènes. Ainsi, toutes les personnes atteintes de troubles digestifs, de rhinopharyngite, de sinusite, de lésions cutanées suppurées, constituent un danger potentiel en raison l'abondance de l'émission des germes. La goutte dorée pendante du nez peut contenir plusieurs millions de *Staphylococcus aureus* [08]

Le problème des infections cutanées ou rhinopharyngées et de l'hygiène générale du personnel est donc crucial : on ne peut pas admettre qu'un pâtissier prépare une crème avec une plaie ou un panaris au doigt.

Le cas des porteurs asymptomatiques (sains), personnes hébergeant comme commensales des bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes, est beaucoup plus délicat [07].

I.2.2.3. Contamination par le milieu (l'environnement)

L'air et surtout le sol sont riches en micro-organismes. L'air contient des poussières chargées de spores et conidies fongiques, de spores bactériennes *Bacillus* et de formes bactériennes non sporulées microcoques. Le sol et en particulier la terre végétale contiennent un très grand nombre d'espèces microbiennes tels que *Bacillus*, *Clostridium*, *Streptomyces*, *Corynebacterium*, spores et conidies de *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium* ...etc.

La flore naturelle de l'eau douce et salée est constituée de bactéries aérobies Gram-dont des *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Zooglea*, etc. [06]

Il peut être aussi source de contamination, notamment :

- **par l'air**, apportant des micro-organismes adhérant aux diverses particules en suspension (aérosols), ce qui conduit parfois à travailler en salle microbiologiquement maîtrisée,
- **par les insectes et arachnides** qui sont des vecteurs très dangereux de microorganismes :

Imaginons la mouche qui s'est posée sur une crotte de chien.

- **par les rongeurs** (souris et rats) Il est donc nécessaire de lutter contre les ravageurs. [07]

L'eau est utilisée dans l'industrie alimentaire : cette eau peut contenir des micro-organismes variés et être à l'origine de contaminations. Ces micro-organismes peuvent avoir des origines

Diverses : sol *Streptomyces*, *Bacillus*, etc. Matière fécales *Entérobactéries*, *Streptocoques*, etc. Plantes, animaux. L'eau peut être le vecteur de micro-organismes pathogènes. [06]

I.2.2.4 Contamination par le matériel

Le matériel et les machines utilisée pour les transformations (couteaux, broyeurs, plats,)Ainsi que les eaux de lavage ne sont pas stériles. Ils apportent donc des micro-organismes, et cela d'autant plus qu'ils ne seront pas nettoyés et désinfectés correctement. [07] ils véhiculent des germes des eaux souillées ou d'autres aliments en cas de mauvaises pratiques de nettoyage et de désinfection. [09]

Le matériel industriel est une source de contamination, en particulier les surfaces poreuses, les outils et machines, les tissus (torchons,toiles diverses), 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. [06]

I.3. Les Conséquences de la présence de micro-organismes sur l'aliment

I.3.1.Conséquences positives

L'addition volontaire de microorganismes est un élément essentiel du procédé de fabrication pour certains aliments. Les microorganismes présents dans la matière première ou apportés par les locaux peuvent aussi intervenir dans le procédé de façon peu contrôlée, Toutefois, on préfère aujourd'hui maîtriser au mieux l'action des microorganismes en les ajoutant volontairement à partir de souches industrielles sélectionnées. Les transformations provoquées par les microorganismes sont avant tout la production de métabolites responsables des qualités organoleptiques de l'aliment et intervenant sur sa conservation. [07]

I.3.2 Conséquences négatives

L'action microbienne sur un aliment est variée et affecte les caractères physico-chimiques, nutritifs et organoleptiques. L'activité microbienne se manifeste souvent au travers de réactions enzymatiques. [06]

L'altération superficielle et profondeassocie leurs effets pour transformer les caractères du produit. Ces effets provoquent des modifications localisées ou généralisées des caractères organoleptiques (aspect, consistance, texture, couleur, odeur et goût), entraînant ainsi une perte de la qualité marchande des poissons. En effet, ces altérations sont généralement à prédominance bactérienne. [10]

Les bactéries dont la multiplication altère les qualités organoleptiques des aliments et la conservabilité. Ces bactéries n'ont pas toujours un effet nocif pour la consommation, mais les modifications qu'elles entraînent rendent les produits impropres à la consommation [11]. 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 étant 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 et principalement de sa teneur en glucides, protéines et lipides : les produits formés sont issus du catabolisme de ces grandes familles de composés. L'environnement physico-chimique joue aussi un grand rôle. [06]

II. Les intoxications alimentaires

II.1. Toxi-infections alimentaires collectives

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) peuvent être définies comme les accidents toxiques ou infectieux résultant de l'absorption d'une denrée alimentaire.

D'apparition plus ou moins rapide, elles atteignent en général plusieurs consommateurs et prennent des allures d'affections familiales ou d'épidémies collectives se traduisent par des symptômes digestifs, nerveux et/ou circulaires [70].

II.1.1. Intoxication

On désigne par intoxication, une TIAC dont la toxine responsable, est préformée dans l'aliment consommé. En exemple on peut citer le botulisme dû à *Clostridium botulinum* et l'entérototoxicose staphylococcique due à *Staphylococcus aureus* [71].

II.1.2. Toxi-infection alimentaire

Les toxi-infections alimentaires surviennent suite à une multiplication dans l'intestin de bactéries vivantes contenues dans l'aliment ingéré. Les principaux germes responsables des toxi-infections sont : *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, *Colibacilles* [72].

Selon l'activité des germes responsables, on distingue deux types de toxi-infections:

- Le germe se multiplie et libère une anatoxine ; exemple de la gastro-entérite à *Salmonella*.
- Le germe est toxigène dans le tube digestif ; exemple des accidents à *Clostridium perfringens* de type A.

II.1.3. Intoxication

Les intoxications font suite à la consommation d'aliments contenant des substances toxiques comme les amines biogènes. Les principaux agents sont l'histamine et les pesticides [71].

II.2. Les agents responsables de la toxi-infection alimentaire

II.2.1. *Salmonella*

Le genre *Salmonella* est l'un des 32 genres de la famille des *Entérobacteriaceae* [50]. *Salmonella* est un bacille Gram négatif non sporulant, dont la mobilité est assurée par des flagelles péritriches (à l'exception de *S. gallinarum* qui n'en possède pas) et qui est de type aéro-anaérobie. Ces bâtonnets de 2 à 3 µm de long sont des bactéries mésophiles, peu exigeantes d'un point de vue nutritionnel. Leur développement est optimal pour des températures proches de la température corporelle des animaux à sang chaud, 35 à 37°C, et un pH de 6,5 à 7,5. [51].

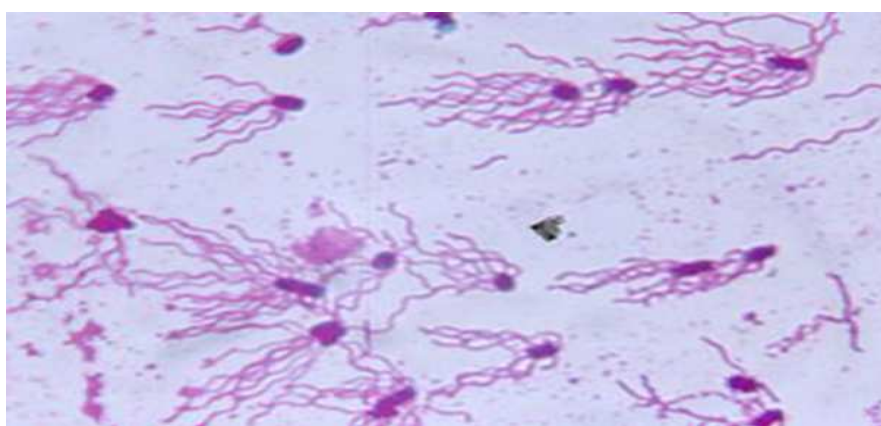


Figure 2. *Salmonella* après coloration Gram (microscopie électronique). De nombreux flagelles couvrant les bactéries. [54]

Salmonella possède comme caractères biochimiques la réduction du nitrate en nitrites; la possibilité d'utiliser le citrate comme source de carbone; la production de gaz à partir du glucose (sauf *S. typhi*); la synthèse de H₂S en milieu triple sucre ou «Triple Sugar Iron» (TSI) et la réaction négative au test à l'oxydase qui traduit l'absence de l'enzyme phénylène diamine oxydase, spécifique aux bactéries Gram négatives [51].

La majorité des souches de *Salmonella* sont ubiquistes. Elles franchissent la barrière d'espèce et peuvent se transmettre de l'animal à l'homme et réciproquement. Elles sont potentiellement pathogènes pour l'homme, à différents degrés [57]. Les souches de *Salmonella* sont des pathogènes intestinaux [58], présentes dans les intestins de l'homme et des animaux qui constituent leur réservoir principal; elles peuvent suite à une contamination fécale, survivre dans l'environnement pendant plusieurs mois [51]. Leur ubiquité se traduit par un large spectre de réservoirs: humains [59] et animaux, mammifères [60], volailles [61], reptiles [62], crustacés [63].

Leur capacité de survie leur permet également de persister dans des réservoirs secondaires comme les boues d'épuration [64], Les aliments d'origine animale [65] ou végétale [66], les fruits et légumes [67].

La principale voie de contamination pour l'homme est alimentaire [68]. L'infection résulte alors de la consommation d'aliments contaminés. [69], la contamination peut être intrinsèque, comme cela peut être le cas pour les œufs; elle peut être secondaire, suite au contact avec des matières fécales. La contamination peut provenir d'une surface contaminée, d'un aliment contaminé lors de sa préparation. Enfin cette contamination peut provenir de la transformation des denrées alimentaires; on parle alors de contamination croisée [51]. Un premier groupe de sérotypes particulièrement pathogènes n'est exclusivement isolé que chez l'homme, il est responsable de la fièvre typhoïde et paratyphoïde. A ce jour, il n'existe pas de réservoir animal à *S. typhi*, *S. paratyphiet S. Sendai* [62].

Tableau II. Facteurs de risques d'infections à *Salmonella* non typhique [58]

| Sérotype de <i>Salmonella enterica</i> | Les Facteurs de risque |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>S. typhimurium</i> | Consommation de viande ou de bœuf haché, de produits laitiers, et en particulier des œufs; |
| <i>S. enteritidis</i> | Consommation d'œufs, surtout à l'extérieur de la maison, voyage international |
| <i>S. newport</i> | Antibiotiques avant l'exposition, consommation de viande de bœuf crue ou bœuf haché, Omelette préparée à la maison ; |
| <i>S. heidelberg</i> | Consommation de volailles ou d'œufs, consommation d'œufs à l'extérieur de la maison |
| Tous les sérotypes de <i>Salmonella</i> | Consommation de légumes crus, acquisition nosocomiale de germes, exposition aux reptiles (lézards, serpents et tortues) amphibiens (grenouilles et salamandre) volaille et animaux domestiques, aliments crus, et d'autres aliments d'origine animale. |

Le genre *Salmonella* comporte trois espèces: *S. enterica*, *S. bongori* et *S. subterranea*. Les sous-espèces de *Salmonella* sont enfin subdivisées en sérovars selon leurs caractères antigéniques. La majeure partie des sérovars appartient à la sous-espèce *S. enterica subsp.* Les sérovars sont définis selon les antigènes: somatique O (nature polysaccharidique), flagellaire H (nature protéique), et capsulaire Vi. Ces derniers sont rares, ils n'ont été identifiés que chez trois sérovars, *S. typhi*, *S. paratyphi* et *S. dublin* [52].

La taxonomie se base aussi sur l'espèce génomique, qui est définie maintenant comme un groupe de souches reliées par un taux d'hybridation ADN-ADN supérieur à 70 % avec une instabilité thermique des hybrides inférieure à 5 °C [53].

Domaine: *Bacteria*

Phylum: *Proteobacteria*

Classe: *Gamma proteobacteria*

Ordre: *Enterobacteriales*

Famille: *Enterobacteriaceae*

Genre: *Salmonella*

Espèce: *Salmonella enterica* [55]

II.2.2. *Shigella*

Bacille Gram négatif, les *Shigelles* sont ainsi nommées en l'honneur du bactériologiste japonais Kiyoshi Shiga (1870-1957) qui découvrit l'agent de la dysenterie bacillaire en 1897 au cours d'une grave épidémie au Japon. Cette épidémie toucha plus de 90 000 personnes avec un taux de mortalité > 20 %. [73]

Les *Shigelles* ne constituent plus un genre ni une espèce : le groupe *shigelle* appartient désormais à l'espèce *colibacille* en raison de similitudes phénotypiques et génétiques. *Escherichia coli* entéro-invasif et *Shigella* formant d'ailleurs un même et unique pathovar d'*Escherichia coli*. Les *shigelles* appartiennent donc à la famille des *entérobactéries*, Ce sont des pathogènes strictes des humains et sont sous forme de courts bâtonnets de 2 à 3 µm de long, immobiles, aflagellés, non encapsulés. Leur température optimale de croissance est de 37°C en milieu aéro ou anaérobie. Elles sont peu résistantes

en milieu extérieur, ne produisent pas de gaz lors de la fermentation du glucose et ne dégradent pas le glucose. [73]

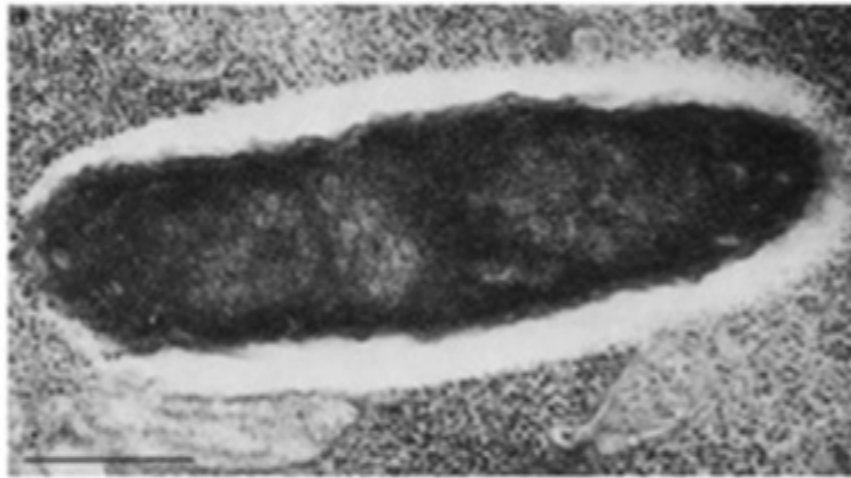


Figure 3. *Shigella flexneri* vue au microscope électronique. [74]

Les *Shigelles* ont pour unique réservoir naturel le tube digestif de l'homme exception faite des primates en captivité. On les trouve uniquement dans les selles des malades et des porteurs sains [75].

La propagation de *Shigella* s'effectue par voie féco-orale directe interhumaine du malade à son entourage par les mains sales .L'eau de boisson contaminée et les aliments souillés (lait, crèmes glacées, salades, produits carnés, etc.) par des déjections contenant *Shigella* représentent l'autre source traditionnelle de contamination, dite indirecte. [75].

II.2.3. Colibacilles : *Escherichia coli*

Bacille à bout arrondi, Gram-, mesure approximativement 2 à 4 μ de longueur sur 0.6 μ de largeur, ne possédant ni capsule ni spores, elle se présente isolé ou en courtes chaînettes, et en quelque cas, sous forme de très long filaments [76].

Pourvu de cils, elle est généralement mobile grâce à une ciliature péritriche mais cette mobilité est très variable selon le milieu où la souche a étéensemencée. Certaines souches développent des capsules et cultivent sur milieux solides en donnantdes colonies muqueuse [77].

La famille des *Entérobactéries* se définit par les caractères suivants :

- Bacille à gram négatif (2 à 4 μ de long sur 0.4 à 0.6 μ de large)
- Immobiles ou mobiles grâce à des flagelles disposés de manière péritriche poussent sur milieu ordinaire

- aérobies-anaérobies facultatifs
- réduisent le nitrate en nitrite
- ont une réaction d'oxydase négative [78]

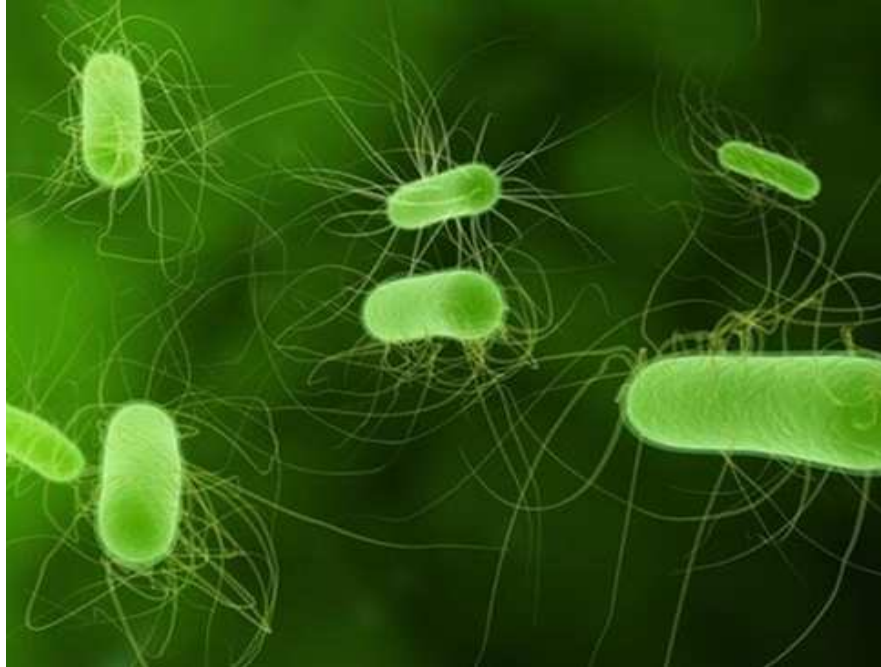


Figure 4. Morphologie d'*Escherichia coli* sous microscope électronique [79]

Entérobactérie lactose positif, indole positif oriente vers une *Escherichia coli*.

[80]. environ 70 % des souches mobiles donnent les caractères suivants:

- Gaz en glucose positifs en général
- Production d'indole positif
- Lactose, mannitol, sorbitol positif
- β -galactosidase (ONPG) positive
- Phénylalanine-désaminase, uréase, oxydase, H_2S , négatifs
- Rouge de méthyle positif,
- Vogues Proskauer (VP) négative [81]

Escherichia coli se retrouve en abondance dans la flore commensale humaine, en particulier dans le tube digestif de l'homme qu'elle colonise dès les premières heures de la naissance. Elle constitue l'espèce dominante de la flore aérobie anaéro-tolérante [82].

Les *colibacilles*, hôtes normaux de l'intestin, ne provoquent normalement pas de maladie. Cependant ils possèdent un potentiel pathogène qu'ils expriment dans certaines circonstances (pathogènes opportunistes [83]). C'est une des espèces bactériennes les plus souvent rencontrées en pathologie humaine. La plupart sont commensales, mais certaines souches possèdent des facteurs de virulence qui leur permettent de déclencher des diarrhées. *Escherichia coli* est une cause majeure de diarrhée aiguë dans le monde [84].

La propagation de l'infection à l'homme peut s'effectuer directement par contact de personne à personne par la route oro-fécale, indirectement par la consommation d'aliments ou d'eau contaminés. De nombreux cas d'infection à *E. coli* ont été associés avec la consommation de bœuf haché insuffisamment cuit, de lait cru, de fruits et légumes ou d'eau contaminée avec des matières fécales [85].

Le genre *Escherichia* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* du fait de leur isolement fréquent du tube digestif de l'homme et /ou de fèces des mammifères [86]. Les genres appartenant à cette famille sont des bacilles à gram négatif, ne possédant pas d'oxydase, aéroanaérobies facultatifs et parfois mobiles grâce à une ciliature péritriche. Le genre *Escherichia coli* est constitué de 5 espèces : *E. coli* ; *E. blattae* ; *E. fergusonii* ; *E. hermannii* et *E. vulneris*

Domaine: *Bacteria*

Phylum: *Proteobacteria*

Classe: *Gamma proteobacteria*

Ordre: *Enterobacteriales*

Famille: *Enterobacteriaceae*

Genre: *Escherichia*

Espèce: *Escherichia coli* [55]

II.2.4. Toxi-infection à *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est une bactérie Gram positive mobile, aéro-anaérobie facultative dont la cellule végétative mesure 3 à 5 µm de long pour un diamètre de 1 à 2 µm. Certaines souches sont psychrotrophes et peuvent se développer lors du stockage en froid positif, à savoir entre 0 et 4 °C, mais celles-ci sont rares. Sa gamme de températures de croissance s'échelonne plutôt entre 5 et 50°C *Bacillus cereus* peut se développer à des pH variant de 4,3 [87] capables de produire une endospore quand les conditions deviennent défavorables. Elles ont des capacités physiologiques très diversifiées. En effet, elles peuvent être impliquées dans la minéralisation du phosphate [88], la dénitrification [89], la protéolyse [90], ou la production d'antibiotiques [91].

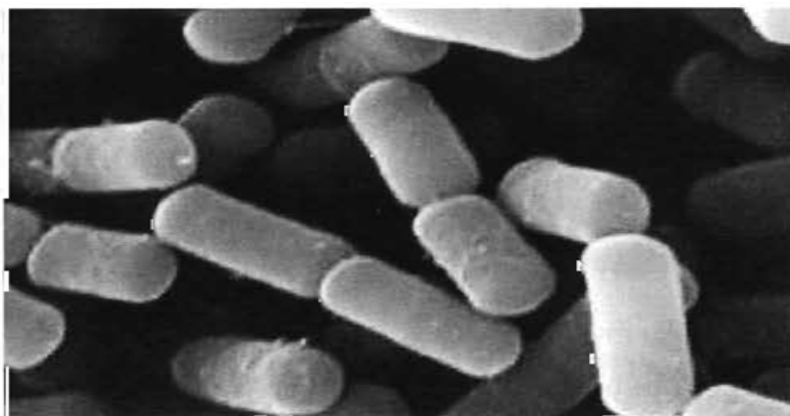


Figure 5. Cellules végétatives de la souche *B. cereus* en microscopie électronique à balayage [92].

L'espèce *B. cereus* au sens strict est capable de coloniser différents habitats. Elle est fréquemment isolée à partir du sol, de plantes et de l'intestin de différents animaux. Elle est capable de synthétiser des enzymes extracellulaires d'intérêt industriel, des toxines et des antibiotiques. [93]

C'est une bactérie d'origine tellurique qui est ubiquitaire. Les aliments dans lesquels on peut la rencontrer sont par conséquent très variés : lait, légumes, sauces, riz, épices, oeufs, ingrédients, etc. [94]

Les souches pathogènes de *B. cereus* sont capables de contaminer toutes sortes de nourriture comme le lait, les légumes, la viande, le poisson, le riz, la pomme de terre, le fromage, etc. Les spores des souches pathogènes de *B. cereus* adhèrent à l'épithélium de l'intestin grêle, germent et produisent des toxines [92][95].

II.2.5. *Vibrio parahaemolyticus*

Vibrio parahaemolyticus a été reconnu pour la première fois comme responsable de maladies d'origine alimentaire à Osaka (Japon) en 1951. Il causa un foyer majeur ayant impliqué 2752 patients dont 20 morts, associé à la consommation de sardines [96].

Depuis, il a été identifié comme la cause commune des maladies consécutives à la consommation de produits de la pêche dans plusieurs pays asiatiques [97]

Les *Vibrio* sont des bacilles à Gram négatif, droits ou incurvés, d'un diamètre compris entre 0,5 et 0,8 μm et d'une longueur comprise entre 1,4 et 2,6 μm . Ils présentent habituellement une mobilité polaire due à un seul flagelle, mais certaines souches possèdent plusieurs flagelles latéraux lorsqu'elles poussent sur un milieu solide en particulier pour l'espèce *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* présente un flagelle «engainé» dans la paroi caractéristique [98].

Le propriété biochimique est utile pour l'identification conventionnelle de *Vibrio*. Ce dernier fait apparaître des caractères communs aux trois espèces (*V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*) et des caractères distinctifs. Les premiers permettent, dans une démarche de diagnostic bactériologique, de confirmer l'appartenance des isolats aux trois espèces. Ils concernent l'oxydase positive, la lysine décarboxylase positive, la lipase positive et l'arginine dihydrolase, l'ONPG, Vogues proskauer est négative. La fermentation des glucides (saccharose, lactose et arabinose) qui est négative pour *Vibrio parahaemolyticus*, la croissance en présence NaCl à différentes concentrations 0% est absente, 3% et 8% NaCl est présente et la sensibilité au composé vibriostatique O129. Cette dernière propriété a été utilisée pour différencier les souches du *Vibrio parahaemolyticus* qui est sensible à 50 μg et résistante à 10 μg . [127]

Vibrions non cholériques n'ont qu'un réservoir, le réservoir environnemental, et appartiennent à l'écosystème marin et estuarien. Ils sont naturellement présents dans l'environnement en l'absence de toute pollution d'origine humaine [99]. D'ailleurs, la plupart des scientifiques s'accordent pour constater l'absence de corrélation entre la

présence des vibrions pathogènes dans l'environnement et la colimétrie, qui est universellement adoptée pour évaluer la salubrité des zones conchylicoles.

Dans le cas de *Vibrio parahaemolyticus*, la consommation de crustacés, crevettes ou crabes insuffisamment cuits ou recontaminés après cuisson, et de mollusques, notamment les huîtres crues, constitue la voie de transmission la plus fréquente et se traduit généralement par une atteinte intestinale (gastro-entérite). Les infections extra-intestinales sont plus rares et concernent des contaminations de plaies par l'eau de mer ou de blessures occasionnées par la manipulation des produits de la mer [100]. Les septicémies exceptionnelles, surviennent toujours chez les sujets présentant un terrain prédisposant (immunodépression, diabète, pathologies hépatiques, cirrhose) [99].

Le genre *Vibrio* appartient à la famille des *Vibrionaceae* qui a été décrite pour la première fois par Véron en 1965 [101]. Ce dernier s'est basé sur deux critères majeurs pour différencier les espèces des *Vibrionaceae* de celle des *Enterobacteriaceae* : la présence d'une cytochrome oxydase et la mobilité à l'aide de flagelle polaire, anaérobies facultatifs, possédant une oxydase, un métabolisme à la fois respiratoire et fermentatif et fermentant (le plus souvent sans gaz) le glucose. [102],

II.2.6. Intoxication staphylococcique

Staphylococcus aureus est un germe appartenant au groupe des cocci à Gram positif qui pousse en amas. Cette bactérie non productrice de spores mais résistante, peut survivre longtemps sur des objets inanimés et secs, elle résiste aussi relativement bien à la chaleur [103]. *Staphylococcus* sont des coques d'un diamètre compris entre 0,8 à 1 µm, généralement en amas, immobiles, aéro-anaérobie facultatif, catalase positive et oxydase négative. [104], mesurant de 0.8 à 1 µm, parfois encapsulés, *S. aureus* est identifié sur l'aspect pigmenté des colonies A ccuprobe *S.Aureus* [112]

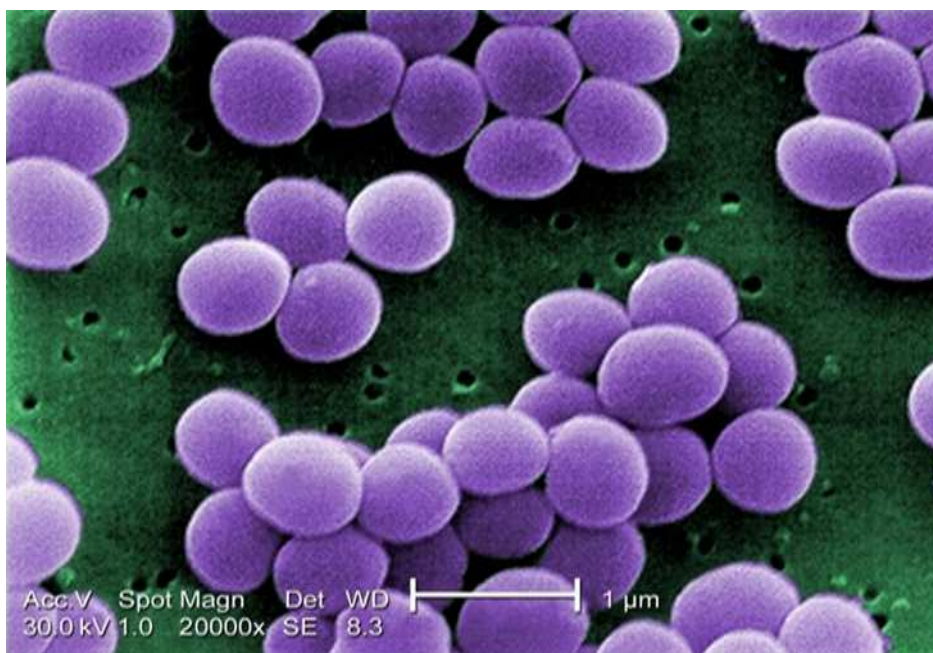


Figure 6. Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique (X 20000) [105]

Tableau III. Différents caractères bactériologiques de *Staphylococcus aureus* [105]

| Morphologie | Regroupé en paire, tétrade ou amas réguliers Immobile ; non sporulé |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Dimension (µm) | 0,5-1 |
| Teneur en GC (mol%) | 33% |
| Taille du génome (Mb) | 2,8 - 2,9 |
| Type respiratoire | Aéro anaérobie facultatif |
| Type trophique | Chimioorganotrophe |
| Métabolisme | Fermentaire et /ou respiratoire |
| Autres caractères | Catalase positive – oxydase négative Halophile – mésophile (37°C) et psychrophile (6-12°C) Neutrophile pH =7 ; pH _{Aw} : basse, jusqu'à 0,83 |

Le réservoir naturel des *staphylocoques* est l'homme et les animaux à sang chaud. Ils peuvent également survivre sur des surfaces inanimées telles que la literie, les vêtements, et les poignées de portes [106].

Chez l'homme, les *staphylocoques* font partie de la flore résidante cutanée qui joue un rôle dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constitue une barrière contre l'implantation des bactéries de la flore transitoire [107]. Les fosses nasales antérieures constituent avec les zones humides de la peau comme les aisselles et le périnée, un site de portage préférentiel de cette bactérie [108].

Le réservoir essentiel de *S. aureus* est l'homme lui-même, de 30 à 50 % des sujets sains hébergent *S. aureus* au niveau, de la gorge et de l'intestin [109].

Les mains sont le vecteur principal de transmission interhumaine. Le *S. aureus* diffuse dans son environnement après contact des mains avec les fosses nasales ou des surfaces contaminées. On observe également une diffusion par voie aérienne, chez des patients porteurs de *staphylocoques* et atteints de pathologies rhino-sinusiennes. Ces deux modes de transmission expliquent la diffusion dans les sphères familiales et hospitalières puisqu'on évalue jusqu'à 80% la proportion de porteurs sains au sein du personnel soignant [110].

Le genre *Staphylococcus* est classé dans la famille des *Staphylococcaceae* qui comprend 45 espèces et sous espèces dont dix sept ont été retrouvées chez l'homme [111].

Règne: *Bactéria*

Phylum : *Firmicutes*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Bacillales*

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus* [105]

II.2.7. Intoxication botulinique

Clostridium botulinum est un bacille, Gram positif, droit ou légèrement incurvé, de 2 à 10 centimètres de long et 0.1 micromètre de large mobile par ciliature péritriche .

Les formes jeunes peuvent présenter de courtes chainettes tandis que des formes d'involution vacuolaire et des spores sont observées chez les bactéries plus anciennes [113]. Il s'agit d'un germe anaérobie strict. Sa température optimale de croissance se situe entre 30 et 37 C°, un pH inférieur à 4.5 inhibe son croissance, Enfin la concentration en chlorure de sodium, les nitrites, les antioxydants phénoliques, les polyphosphates, bloquent sa croissance [114] ; [115].

Est un germe tellurique très répandu dans la nature, Il est présent sous forme de spores dans l'eau, les sédiments aquatiques, les végétaux, le contenu intestinal des vertébrés et invertébrés [116] ; [117].

Le botulisme transmis par les aliments ou intoxication botulique est consécutif à l'ingestion de toxines préformées dans un aliment contaminé ; le bacille botulique étant incapable de se multiplier dans l'organisme. C'est la manifestation la plus connue de la maladie et l'une des plus fréquentes. [118] ; [117] ; [116].

le botulisme infantile représente la forme la plus fréquente de la maladie et se manifeste chez des enfants de quinze jours à six mois, le botulisme par blessure est la forme la plus rare de la maladie. [116]

II.2.8. *Campylobacter jejuni*

Les *Campylobacter* sont des bacilles fins (bâtonnets avec un diamètre de 0,2 à 0,3 µm), à coloration de Gram négative. De longueur variable (0,5 à 8 µm), ils peuvent être soit incurvés, soit en forme de S, en hélice ou en spirale. Les *Campylobacter* présentent une ou plusieurs ondulations et possèdent généralement un unique flagelle polaire, d'environ 20 nm de diamètre. Ils peuvent parfois avoir un flagelle à chaque pôle (amphitriche) (décrit dans les stades de pré-division) [119]. Cette structure confère à *Campylobacter* une grande mobilité, très caractéristique (dite en « vol de moucheron » ou en « tire-bouchon »), facilement observable au microscope et souvent utilisée comme élément d'identification et de diagnostic.

Les *Campylobacter* sont asporulés. Des travaux récents ont montré la présence d'une capsule et l'existence du locus correspondant chez certaines souches de *C. jejuni* [120].

Le rôle exact n'est pas déterminé mais l'hypothèse de son implication dans la virulence et la survie de cette souche est à considérer [121]



Figure 7.Microphotographies de *C. jejuni* microscopie électronique

Grossissement x 4000 et Grossissement x 10^5 [122]

Existe ainsi une véritable interaction entre les différents réservoirs puisque la contamination du réservoir animal et de l'Homme agissent sur celle du réservoir hydrotellurique dans la mesure où des *Campylobacter* sont diffusés dans l'environnement par l'intermédiaire des eaux de ruissellement, des égouts et des boues d'épandage. Ces eaux contaminées entrent ensuite de nouveau en contact avec le réservoir animal voire avec l'Homme.

La transmission par contact direct avec un réservoir possible de *Campylobacter* est un événement relativement rare touchant principalement les agriculteurs, les vétérinaires et les ouvriers d'abattoir (cas de maladie professionnelle). Il existe également des circonstances à risque comme la proximité des animaux de ferme. [123]. La transmission indirecte se fait, dans 80% des cas, par la consommation d'aliments

Contaminés [124].

Le genre *Campylobacter* fait partie, avec les genres *Arcobacter* et *Sulfurospirillum*, de la famille des *Campylobacteraceae*, réunis avec les familles des *Helicobacteraceae* et *Hydrogenimonadaceae* au sein de l'ordre des *Campylobacterales*, de la classe des *Epsilonproteobacteria*, du phylum des *Proteobacteria*, dans le domaine des *Eubacteria* [125].

Au sein de cette superfamille, l'ordre des *Campylobacterales* est défini sur la base des séquences d'ARNr 16S et rassemble des procaryotes gram négatifs avec une morphologie en bâtonnets minces (droits, incurvés ou spiralés) et présentant une grande diversité métabolique et écologique avec de nombreuses espèces pathogènes pour l'Homme et les animaux. La famille des *Campylobacteraceae* regroupe deux genres phylogénétiquement et morphologiquement proches : *Campylobacter* et *Arcobacter*

Domaine: *Bacteria*

Phylum: *Proteobacteria*

Classe: *Epsilon proteobacteria*

Ordre: *Campylobacterales*

Famille: *Campylobactéraceae*

Genre: *Campylobacter*

Espèce: *Campylobacter jejuni* [55]

III. Les maladies infectieuses d'origine alimentaire

Les maladies d'origine alimentaire constituent à l'heure actuelle l'un des problèmes de santé publique les plus répandus à l'échelle internationale. Leurs répercussions sur la santé et sur l'économie mondiale sont de plus en plus largement reconnues. Ces maladies sont causées par divers agents en particulier les microorganismes pathogènes.

Les maladies bactériennes transmises par l'eau et les aliments sont devenues très rares dans les pays développés, en raison du niveau d'hygiène des populations et de l'application rigoureuse de mesures draconiennes de sécurité alimentaire. Ce qui est loin d'être le cas dans les pays en voie de développement qui est encore régulièrement touchés par des épidémies plus ou moins étendues. [08]

Les maladies transmises par les plats cuisinés autrement appelés les toxi-infections alimentaires se définissent par des bactéries, des virus et des parasites dues à la consommation d'un aliment contaminé. Ce concept englobe aussi bien les infections alimentaires classiques à *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp* ou *Clostridium perfringens* que les pathologies infectieuses moins classiques liées à la conservation d'aliments contaminés par les virus, les parasites, des prions [11]

III.1. Choléra

Le choléra est une maladie infectieuse intestinale aiguë, contagieuse à caractère épidémique. Il est due à une bactérie, le *vibron cholérique* strictement humaine, à l'origine de pandémies et représentant un problème majeur de santé publique. [22]

C'est une maladie à transmission oro-fécale, essentiellement interhumaine directe et favorisée par l'hypochlorhydrie gastrique [23]. La sensibilité de cet agent pathogène au pH acide explique la nécessité d'un inoculum important pour déclencher des symptômes mais aussi la fragilité des sujets dénutris ou sous traitement antiacide. [22]. La dose infectante est de 10^5 à 10^7 bactéries. [06]

Ces symptômes résultent de l'action de l'exotoxine cholérique, une entéro-toxine qui pénètre les cellules de la muqueuse et provoque une hypersécrétion d'eau et d'électrolytes, tout en inhibant l'absorption de minéraux. La maladie se manifeste par : de fortes diarrhées liquides, des vomissements, de la fièvre, des douleurs abdominales. [08]

L'incubation dure 12 à 72 heures après l'infection de l'hôte. Les bactéries adhèrent aux muqueuses intestinales de l'intestin grêle ou elles ne sont pas invasives, mais sécrètent

le choléragène. Il s'agit d'une toxine AB. [26] Après passage dans l'estomac, les *vibrions* qui ont survécu se fixent au niveau de la partie proximale de l'intestin grêle, traversent la couche de mucus et adhèrent aux entérocytes grâce à leurs pili.

Ils sécrètent alors la toxine cholérique, principale toxine produite par le *vibron cholérique*, composée d'une sous-unité A et de 5 sous-unités B, dont l'action va altérer les transports ioniques membranaires, à l'origine de la diarrhée. La diarrhée est due à la production par *Vibrio cholerae* d'une toxine qui active l'adénylate-cyclase des entérocytes, entraînant une élévation de l'AMP cyclique. Elle induit une augmentation de la sécrétion des cellules cryptiques et une diminution d'absorption au niveau des cellules du sommet des villosités [24].

Ce dérèglement ionique entraîne une perte massive d'eau et d'électrolytes dans la lumière intestinale, aboutissant à la diarrhée caractéristique du choléra. Le volume d'eau éliminé peut atteindre 15 à 20 L par jour, ce qui explique la gravité de la déshydratation [25]

III.2. La salmonellose

Les salmonelles constituent une des principales causes de maladie bactérienne d'origine alimentaire dans les pays développés. Elles se manifestent sous forme de cas sporadiques, de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) ou d'épidémies communautaires. [27]

La salmonellose (la gastroentérite à *Salmonella*) est due à plus de 2000 sérovars de *Salmonella*. Sur la base des homologues de séquence, on considère que toutes les *Salmonella* appartiennent à la même espèce *S. enterica*, sont capables de provoquer des épidémies occasionnelles. La fièvre typhoïde est due à sérovar *S. typhi* et est acquise par ingestion de nourriture ou d'eau contaminées par des selles humaines infectées ou par des contacts entre individus. Au cours des siècles passés, la maladie a été à l'origine de grandes épidémies.

L'incubation dure 10 à 14 jours. Les bactéries colonisent l'intestin grêle, pénètrent dans l'épithélium et se répandent dans le tissu lymphoïde, le sang, le foie et la vésicule biliaire. La plupart des individus n'éliminent plus de bactéries dans leurs selles après environ 3 mois. Quelques individus cependant continuent d'en éliminer longtemps sans manifester de symptômes. Chez ces porteurs, les bactéries poursuivent leur multiplication dans la vésicule biliaire et atteignent l'intestin par le canal biliaire. [26]

III.3. La shigellose

Les *Shigellas* sont des parasites intracellulaires qui colonisent les cellules épithéliales du colon. Les bactéries induisent leur propre phagocytose par les cellules des plaques de Peyer. Après ingestion elles détruisent la membrane du phagosome et se répandent dans le cytoplasme pour s'y multiplier. Elles vont ensuite envahir les cellules mucosales voisines et initient une réaction inflammatoire dans la muqueuse. [26]

Des exo- et des endotoxines participent à la progression de la maladie, mais les bactéries ne se répandent généralement pas au-delà de l'épithélium du colon. Les selles aqueuses contiennent souvent du sang, du mucus et du pus. Dans les cas graves, le colon peut être ulcéré. Les *Shigellas* virulentes produisent une exotoxine AB thermolabile (Sxt) connue comme la toxine Shiga (anciennement Véro toxine).

La molécule complète de la toxine est du type A-5B et se fixe aux cellules vasculaires de l'hôte en stimulant son internalisation. La sous-unité protéique A est ensuite libérée de la protéique B, se fixe aux ribosomes de l'hôte et inhibe la synthèse protéique. Une cible spécifique de la protéine B semble être l'endothélium glomérulaire. L'action de la toxine sur ces cellules aboutit à une défaillance des reins. De plus, comme *Y.pestis* et la souche ECEagg d'*E. coli*, les *Shigellas* utilisent aussi un système de sécrétion de type III pour introduire des facteurs de virulence spécifiques dans les cellules épithéliales cibles. [26]

III.4. L'intoxication alimentaire staphylococcique

L'intoxication alimentaire **staphylococcique** est le principal type d'intoxication alimentaire aux États-Unis. Elle a pour origine l'ingestion d'aliments mal conservés ou mal cuits (plus particulièrement du jambon, des viandes traitées, de la salade de poulet, de la pâtisserie, de la crème glacée et de la sauce hollandaise)

Dans lesquels *Staphylococcus aureus* se sont multiplié. Comme les *Staphylocoques* produisent des entérotoxines thermostables, elles ne sont pas détruites même si les bactéries sont tuées par une bonne cuisson des aliments. [26]

Le traitement de cette intoxication est basé sur l'apport de liquides pour assurer l'élimination de la toxine. La toxémie se résout généralement sans médication. La prévention suppose un bon lavage des mains lors de la préparation des aliments et l'utilisation de pratiques de cuisson et d'alimentation adéquates. [26]

III.5. Le botulisme

Est une forme d'intoxication alimentaire. Les conserves de nourriture faites à la maison sont sa source la plus fréquente. Si elles n'ont pas été chauffées suffisamment pour tuer les spores contaminantes de *Clostridium botulinum*, ces spores germent et se développent en anaérobiose produisant une exotoxine. Si la nourriture est consommée plus tard sans cuisson adéquate, l'exotoxine active provoque la maladie [26]

La toxine botulique est une neurotoxine qui se lie aux synapses des neurones moteurs.

Elle clive sélectivement la synaptobrevine, une protéine membranaire de la vésicule synaptique. Ce qui empêche l'exocytose et la libération de l'acétylcholine, un neurotransmetteur. En conséquence, les muscles ne se contractent plus en réponse à l'activité neuronale motrice et il en résulte une paralysie flasque. Les symptômes du botulisme apparaissent 12 à 72 heures après l'ingestion de la toxine et engendrent un trouble de la vision, des difficultés de déglutition et de parole, une faiblesse musculaire, des nausées et des vomissements. Le traitement est basé sur des soins symptomatiques et une antitoxine polyvalente. Sans traitement adéquat, 1/3 des patients meurent après quelques jours à la suite d'une défaillance respiratoire ou cardiaque .Il y a moins de 100 cas de botulisme aux Etats-Unis par an. [26]

III.6. La gastroentérite à *Campylobacter jejuni*

Les campylobactérioses à *Campylobacter* thermotolérants (*C.jejuni* et *C.coli*) sont reconnus depuis 1972 comme l'une des premières causes de maladies diarrhéiques chez l'homme. [36]

La période d'incubation de la campylobactériose est de 2 à 10 jours .*C.jejuni* envahit l'épithélium de l'intestin grêle, provoque une inflammation et sécrète également une exotoxine semblable à la toxine cholérique au niveau antigénique. Les symptômes sont une diarrhée, une fièvre élevée, une inflammation importante de l'intestin accompagnée d'ulcération et de selles sanguinolentes.

La campylobactériose a été également associée au syndrome de Guillain- Barré, qui résulte d'une attaque des nerfs périphériques par le système immunitaire et qui provoque une paralysie mortelle[26]

La contamination croisée quand un aliment infesté contamine un aliment sain qui sera quant à lui responsable de la transmission à l'homme. Cette contamination peut soit s'effectuer par un contact direct entre les deux aliments, soit le plus souvent par l'intermédiaire d'un élément relais [37] tel que : le couteau de cuisine, la planche de découpage ou plus simplement par les mains du cuisinier.

III.7. La gastroentérite à *Escherichia coli* /Colibacillose

Les aliments et l'eau contaminés sont les principales voies de dissémination de la maladie, vu qu'il faut de nombreuses bactéries pour initier l'infection. C'est la raison des conseils populaires donnés aux voyageurs internationaux : « Ne buvez pas l'eau locale » et « Fais-la bouillir, pèle-le, cuis-le ou oublie-le ».

Si la grande majorité des souches d'*E. coli* sont des membres non pathogènes de la microflore intestinale normale, certaines souches peuvent utiliser plusieurs mécanismes pour déclencher une diarrhée. On reconnaît les souches diarrhéogènes : *E. coli* entérotoxigène (ECET), *E. coli* entéro-invasif (ECEI), *E. coli* entérohémorragique (ECEH), *E. coli* entéro-pathogène (ECEP), *E. coli* entéroagréatif (ECEAgg) *E. coli* à adhésion diffuse (ECAD). [26].

IV. Hygiène et sécurité alimentaire

IV.1. Notion de qualité hygiénique

La qualité hygiénique est la mesure dans laquelle un aliment un service répond aux besoins et attentes qui ont été communiquées .qui vont de soi ou qui ont été imposées (par le consommateur et la loi). Quant aux produits alimentaires .il s'agit en règle générale de la sécurité.de la santé et du bien-être du consommateur [14].

C'est aussi l'aptitude d'un produit à bien nourrir l'homme. Cette dernière à trois composantes essentielles : la qualité hygiénique, la qualité organoleptique et la qualité nutritionnelle [15].

La qualité hygiénique est l'aptitude d'un aliment à ne pas rendre malade les cosommateurs, Cela comporte les maladies alimentaires liées aux bactéries, aux corps étrangers chimiques et physiques et à la présence de composants de la préparation en dose anormale [16].

IV .2. Sécurité alimentaire

Sécurité alimentaire : C'est l'assurance que les aliments ne causeront pas de dommage au consommateur quand ils sont préparés et /ou consommés conformément à l'usage auquel ils sont destinés.

La garantie que les aliments n'entraînent pas de conséquences néfastes pour la santé du consommateur quand ils sont préparés et ingérés, en tenant compte du but et de la manière de les consommer [14].

La sécurité alimentaire, dont la qualité microbiologique des aliments est une composante essentielle, représente un enjeu considérable. Sur le plan du commerce international, elle est très souvent invoquée pour renforcer les barrières aux importations .de plus, elle a un rôle évident à jouer dans la prévention des maladies d'origine alimentaire et par voie de conséquence. Elle participe à la maitrise des dépenses de santé [21].

IV. 3 .La Différence entre l'hygiène des aliments et l'hygiène alimentaire

L'hygiène alimentaire est le plus souvent utilisée abusivement pour désigner les règles d'hygiène à respecter dans le souci d'accroître la sécurité des aliments. Or, l'hygiène alimentaire est une expression médicale se rapportant au choix raisonné des aliments ,c'est-à-dire que l'on devrait utiliser cette expression d'hygiène alimentaire pour le règle de nutrition et de diététique .Par conséquent , le texte de base se rapportant à l'hygiène des aliments est celui du Codex Alimentarius [17].

IV .4. Hygiène des aliments

L'hygiène alimentaire correspond à une alimentation saine répondant aux besoins de l'organisme, et n'engendrant pas de problèmes de santé .désigne l'ensemble des conditions et mesures nécessaires pour assurer la sécurité et la salubrité des aliments à toutes les étapes de la chaine alimentaire [17].

L'hygiène des aliments assure la sécurité et la salubrité des aliments, elle englobe plusieurs domaines tous aussi importants les uns que les autres, L'hygiène du personnel, l'hygiène, des locaux (nettoyage, désinfection, matériels , agencement ..).Les conditions de stockage .de manipulation de transport (nettoyage, désinfection, matériaux) et Les matières premières [18].

IV.5. Maîtrise de la sécurité des aliments

La garantie d'une sécurité des aliments irréprochable passe par la maîtrise de la qualité hygiénique des aliments les techniques appropriées de sécurité alimentaire et la manipulation des aliments doit être pratiquée afin de protéger le consommateur contre les conséquences graves. Les maladies d'origine alimentaire ont fait des milliers de décès et d'hospitalisations [19].

Davantage de recherche et les études doivent être menées pour étudier à quel point la négligence généralisée de bonnes pratiques abusives de salubrité des aliments se produisent,et quels types de remèdes peuvent être fournis pour rendre le service de traiteur un service de denrées alimentaires plus sûres pour le consommateur [20].

IV. 6. Applications à la sécurité des aliments

La sécurité des aliments est un défi qui demande des efforts quotidiens aux professionnels. Pour ce faire, ils mettent en application les enseignements sur le développement bactérien. En restauration, les facteurs à maîtriser se rassemblent de Milieu (les locaux), du Matériel, de la Main-d'œuvre, de la Matière (matières premières, produits finis) et des Méthodes (règles de fonctionnement) selon un raccourci mnémotechnique classique. Ces cinq facteurs sont liés entre eux, à l'image des « maillons d'une chaîne » au sein de laquelle la faiblesse d'un élément n'est pas compensée par le renforcement d'un autre. Cette notion illustre la nécessité de la cohérence de la prestation. [16]

I. Sites de prélèvements (Enquête)

Les prélèvements (trois plats de différentes compositions) sont effectués à partir de trois sites différents :

I.1. Le site 1 (E1)

Parmi les pizzerias les plus populaire de la ville de Khenchela, situe à la route de Babar, l'hygiène dans cette pizzeria est généralement acceptable et confortable ; dont on remarque l'absence totale des insectes et de cigarettes. Le nettoyage des tables se fait avec un torchon et un désinfecteur après chaque repas servis. La viande hachée et les escalopes sont conservés dans un réfrigérateur jusqu'à l'utilisation.

Le nombre des serveurs est deux, mais ne portent pas de blouses de travail, la propriété corporelle et sanitaire est bonne.

Les plats sont cuisinés à l'avance comme les plats variés et conservés dans un endroit fermé, on remarque la préparation de certains plats à l'extérieur tels que : les plats de chawarma et les bourek.

Les clients généralement sont des étudiants et des élèves et aussi des femmes dont les plats les plus consommables sont : les plats variés, les hamburgers et la pizza (**fig. 8**).



Figure 8. Photographie représente les plats servis dans le E1 et ces prix

I.2. Le site 2 (E2)

Cette pizzeria est située à proximité de placette d'Abbés Laghrou, l'hygiène générale de cet endroit est moyenne, le nombre des serveurs est quatre personnes ; dont un seul serveur qui porte la blouse. Quelques plats sont cuisinés à l'avance comme le bourek et d'autres plats sont cuisinés à l'extérieur, tels que les plats de chawarma et les mhadjebe.

Le nettoyage des tables se fait à l'aide de torchon seulement et les appareils utilisés sont en mauvais état.

Les clients sont de différentes catégories de citoyens de la ville, et on remarque la présence d'une toilette collective pour les manipulateurs et les consommateurs.



Figure 9. Photographie représente les plats servis dans le E2 et ces prix

I.3. Le site 3 (E3)

Cet endroit est situé au centre-ville à proximité de la maison de culture. Le niveau de l'hygiène est moyen, il y a deux serveurs qui ne portent pas de blouses. Les clients sont de différentes tranches d'âge, le nettoyage des tables se fait par brassage avec torchon.



Figure 10. Photographie représente les plats servis dans le E3 et ces prix

II. Echantillonnage

II.1. Choix de plats à tester

L'objectif de ce travail est l'étude de la qualité microbiologique des plats servis au niveau de fastfood de la ville de Khenchela, pour cela trois plats de compositions différentes sont choisis au hasard de trois sites différents pour effectuer les analyses microbiologiques.

Les plats choisis sont les hamburgers, plats de chawarma et le bourek (**fig. 11**) ; et sont transportés au laboratoire dans une glacière contenant des glaçons à 4°C.

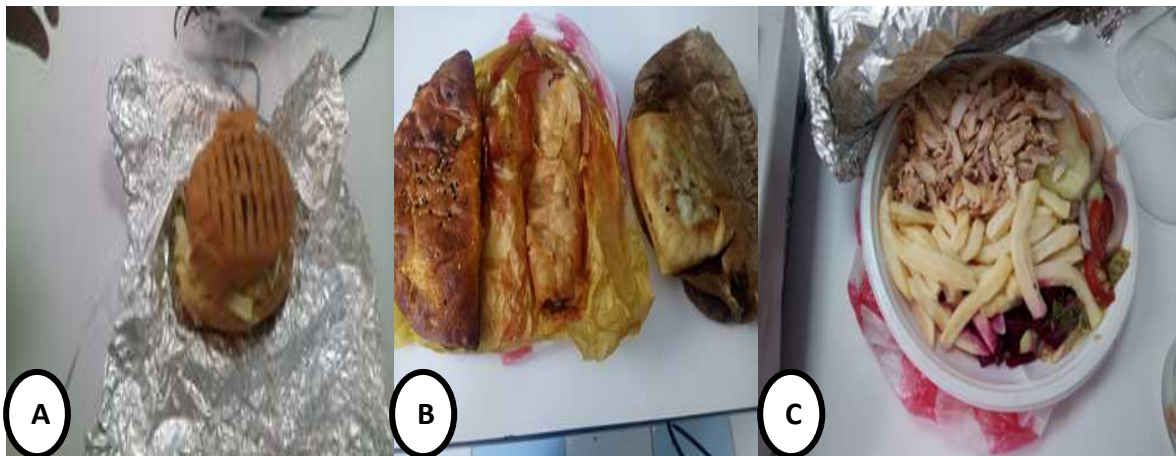


Figure 11. Photographie représente les plats choisis des trois sites pour les analyses microbiologiques ; A : *Hamburger*, B *Bourak*, C : *Plat de chawarma*

II.2. Préparation des échantillons

Vingt-cinq grammes (25g) de chaque échantillon sont pesés et broyés avec 225 ml d'eau physiologique stérile à l'aide d'un broyeur électrique (**fig.12**), constituant ainsi la suspension mère (SM) [70].

Les dilutions décimales allant jusqu'à 10^{-2} sont préparées à partir de la SM dans l'eau physiologique, ce qui permet d'obtenir seulement les microorganismes dominants dans les dilutions les plus élevées.



Figure 12. Préparation de la solution mère (SM)

III. Analyses microbiologiques

Toutes les analyses sont effectuées au niveau de laboratoires pédagogiques de l'université Abbes Laghrour Khenchela. Commenant par un dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale à savoir les coliformes thermo tolérants, ainsi la recherche des germes pathogènes comme les staphylocoques et/ ou les salmonelles.

III.1. Dénombrement la Flore Mésophile aérobie totale (FTAM).

La recherche de la FTAM a été effectuée suivant une méthode normalisée actuellement ; la Norme **NF V 08-051 [130]** relative au dénombrement des micro-organismes par comptage des colonies obtenues à 37 °C et la norme **XP V 08- [129]** relative aux règles générales pour le comptage des colonies et l'expression des résultats.

Le principe consiste à étaler en surface 0.1 ml de la solution mère et des dilutions décimales sur la gélose PDA préalablement coulée dans des boîtes de Pétri et déjà numérotées. L'incubation des boites couvercle en bas se fait à 37°C pendant 24h à 48 h.

Pour le dénombrement ; on compte toutes les colonies apparues à la surface de la PDA (**Annexe**). Seules les boites contenant entre 30 et 300 colonies seront prises en considération.

On calculera le nombre N, de microorganismes dénombrés à 37°C en Tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \sum c / 0.1 \times d$$

Où: $\sum c$: est la somme des colonies comptées sur les deux boites retenues.

D : est le taux de dilution correspondant à la première dilution.

III.2. Dénombrement des coliformes thermo tolérants

La recherche se fait sur milieu solide : gélose au cristal violet au rouge neutre et à la bile (V.R.B.L.). Pour chaque analyse, les deux boîtes de pétri sontensemencées à raison de 0.1 ml avec SM et les dilutions correspondantes 10^{-1} , 10^{-2} . En étalant avec un écouvillon stérile sur toute la surface de milieu de culture. L'incubation des boites couvercle en bas se fait à 37°C pendant 24h à 48 h.

Pour le dénombrement : on compte toutes les colonies apparues à la surface de milieu VRBL (**Annexe**) et seules les boites contenant entre 30 et 300 colonies seront prises en considération.

III.3. Recherche des *staphylocoques* pathogènes (NF V 08-057-1)

A partir de la solution mère et des dilutions décimales, on porte aseptiquement 0.1 ml dans une boite de pétri contenant de la gélose Chapman (**Annexe**), qu'on étale par écouvillon stérile. Les boites sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h.

Les *staphylocoques* pathogènes forment des colonies luxuriantes, pigmentées, entourées d'une auréole jaune due à la fermentation du mannitol. Les staphylocoques non pathogènes forment en général de petites colonies rouges qui ne modifient pas la teinte du milieu [131].

Après l'incubation, les colonies caractéristiques pures feront l'objet de trois tests complémentaires à savoir : une coloration de Gram, une recherche de l'enzyme catalase et une Staphylocoagulase.

III.3.1. Test catalase

On dépose sur une lame propre et sèche une goutte d'eau oxygénée H_2O_2 à l'aide d'une pipette Pasteur on prélève une colonie et on la dissocie dans la goutte d'eau oxygénée. Si la bactérie possède la catalase, elle dégrade le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles d'air visible à l'œil nu [132].

III.3.2. Test coagulase

Ce test permet la recherche de la coagulase, exoenzyme capable *in vitro* de coaguler le plasma oxalate de lapin. Parmi les Cocci Gram +, catalase +, seules les souches de *Staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma oxalaté de lapin [133].

Au laboratoire, la détection de la coagulase a été effectuée en mettant 0.5 ml de plasma de lapin hépariné avec 0.5 ml de la suspension bactérienne à étudier dans un tube à hémolyse.

On mélange bien le plasma avec l'inoculum puis on incube les tubes à 37°C; la prise en masse du mélange est réalisée en 3 à 6 ou parfois en 24 heures ; la coagulation peut être suivie d'une dissolution du caillot par suite de l'action de la Staphylokinase.

Si après incubation pendant 24 heures à 37°C, il y a coagulation du plasma de lapin, le test est coagulase +. Ces *staphylococcus aureus* sont dit catalase +, coagulase +.

III.4. Recherche des *salmonelles*

L'analyse microbiologique pour la recherche de *Salmonella* a été faite selon la méthode NF U 47- 100 de février 2005, en différentes étapes: pré-enrichissement permettant de récupérer les bactéries ayant subi un stress; puis un enrichissement sélectif, favorisant la multiplication des *salmonelles* par rapport à la flore compétitrice; suivies d'un isolement sur des milieux sélectifs spécifiques et d'une identification biochimique [134]

III.4.1. Le pré-enrichissement

Il s'agit d'incuber la solution-mère à 10^{-1} à 37°C pendant 24 heures, de manière à favoriser une multiplication des germes

III.4.2. L'enrichissement

Cette phase d'enrichissement se fait par l'utilisation de deux milieux de culture spécifiques aux *Salmonelles* ; le bouillon au sélénite.

III.4.3. L'isolement

Par la technique des stries d'épuisement, une goutte de culture d'enrichissement est ensemencée sur l'un des milieux suivant : *Salmonella-Shigella*. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 20 à 24 h. Après incubation, on examine les boîtes afin de rechercher la présence de colonies caractéristiques des *salmonelles* pour le milieu d'isolement utilisé [135].

III.4.5. L'identification

L'identification est basée sur la détermination des caractères morphologiques et biochimiques [136].

a) L'identification morphologique

La lecture des ensemencements vise à noter La couleur ; l'odeur ; la taille et l'aspect des colonies. Cette observation à l'œil nu est une première clé d'identification [137].

La double coloration de Gram et l'observation à l'état frais sont la deuxième étape de l'identification. [137]. Une préparation à l'état frais permet d'examiner la mobilité des bactéries et d'en déceler la forme, bien que ce renseignement soit plus accessible sur des frottis colorés.

b) L'identification biochimique

- **Le test oxydase :** La recherche de l'oxydase est un test fondamental pour l'identification des bacilles à Gram négatif. Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée, à oxyder la forme réduite incolore de dérivés N-méthylé du paraphénylène diamine, en leurs formes oxydées semi-quinone rose-violacées [140].

Le disque d'oxydase est déposé sur une lame propre et imbibé avec une goutte d'eau distillée stérile. Une colonie est prélevée à l'aide d'une pipette pasteur puis déposer sur le disque. En présence de l'oxydase se manifeste par une coloration violet foncé apparaît immédiatement ou en quelque secondes, puis noircit (rose violette puis elle devient brun foncé) [141].

- **Le test catalase :** La catalase est une enzyme respiratoire qui catalyse la libération de molécules d'eau et d'oxygène à partir de peroxyde d'hydrogène.

Reposent sur la mise en évidence des caractères biochimiques différentiels qui permettront de classer les souches selon leur activité métabolique par l'utilisation de sucre et/ou leur activité enzymatique [143].

- **Le test Citrate de Simmons :** Ce test est effectué sur le milieu citrate de Simmons qui contient le bleu de bromothymol comme indicateur de pH. La pente du milieu est ensemencée avec des stries puis l'incuber à 37°C pendant 24heures, [142]. Ce test permet la mise en évidence du citrate perméase : enzyme permettant à la souche l'utilisation du citrate comme seule source de carbone .l'utilisation du citrate se traduit par la libération

des ions « OH⁻ », qui alcalinisent le milieu en se traduisant par une couleur bleue après le virage du vert de brome-thymol [144].

- **Le test TSI (milieu triple sucres) :** Ce milieu permet d'étudier la fermentation de trois sucres (glucose, lactose, saccharose), d'apprécier la production ou non d'H₂S qui fait virer le milieu au noir ce qui est dû à la formation du sulfure de fer .et de noter la production ou non de gaz à partir du glucose (Dellarras, 2007). La technique consiste à ensemencer avec la souche à étudier le culot par piqûre puis la pente de la gélose par stries serrées, la lecture se fait après 24h d'incubation à 37°C. La réaction est dite positive si le milieu devient jaune orange. [145].

- **Le test de mannitol-mobilité :** L'utilisation du mannitol se traduit par une acidification entraînant un jaunissement de l'indicateur du milieu mannitol ; Le milieu Mannitol Mobilité a été ensemencé par piqûre centrale. Les germes immobiles ne poussent qu'au niveau de la piqûre central [146].alors la mobilité se traduit par une diffusion à partir de la piqûre centrale vers le fond du tube. [147]

- **Le test ONPG:** Il s'agit d'une recherche particulière dans le cadre de l'étude de la dégradation du lactose, Dans le cas de bactéries lactose négatif (dans le but de préciser l'origine de l'incapacité à Utiliser le lactose). Le test ONPG consiste à rechercher la présence de -galactosidase. On utilise comme substrat, non pas le lactose, mais un autre -galactoside : l'ortho-nitro-phenyl-galactoside(ONPG) qui présente l'avantage d'être hydrolysé en un produit coloré (l'orthonitrophenolONP). Ceci est possible car la -galactosidase n'est pas spécifique du lactose, mais des galactosides.

La souche étudiée est ensemencée dans un tube de 2 ml d'eau physiologique auquel on ajoute un disque d'Ortho-Nitro-Phenyl-Galactopyranoside (ONPG). Après incubation à 37°C, pendant 24heures la réaction positive se traduit par une coloration jaune due à la libération d'orthonitrophenol dans le milieu [148].

- **Le test nitrate réductase :** Le bouillon nitrate est ensemencé avec la souche à tester, après incubation à 37°C 24 heures on ajoute une goutte de nitrate réductase I et une goutte de nitrate réductase II, si la coloration vire vers le rouge le teste est dit positif [149].

- **Le test d'acétone :** La souche à identifier est ensemencé dans un tube qui contient le milieu Clark et Lubs, après incubation à 37°C, pendant 24 heures une goutte de VP I et une goutte de VP II (VP : Voges Proskauer), sont ajoutées ; si après 10 min la couleur rouge au préalable devient rose la réaction est dite alors positive [150].

I. Dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux.

La **figure 13** montre les résultats d'isolement des germes sur le milieu gélosé PDA. Après incubation à 37°C pendant 24h à 48 h, on remarque l'apparition de colonies à la surface des milieux de culture blanches et crémeuses, bombées, arrondies ou irrégulières.



Figure 13. Photographie montrant les résultats d'isolement sur gélose PDA.

Le dénombrement de ces colonies est représenté dans le **tableau IV**, on remarque l'absence des bactéries dans le site 1 et 2 du plat Hamburger et aussi dans le site 2 du plat Bourek. Les FTAM sont des germes qui se développent à des températures comprises entre 30°C et 37°C. Cette flore renseigne sur la propreté des manipulateurs, l'efficacité des procédés de traitement et la fraîcheur des produits [151]. Ces résultats montrent qu'il y'a une amélioration des règles d'hygiène au niveau de ces sites.

D'autre part on remarque la présence des bactéries dans le site 3 du plat d'hamburger qui est de 39UFC/ml mais la valeur est inférieure à 3.10^5 acceptable selon les normes.

Pour le deuxième plat ; chawarma dans le site1 on estime la valeur de 69.10^2 UFC/ml, alors que dans le site 2 elle est de 127.10^2 UFC/ml, tandis que le site 3 la valeur s'atteindre à 57.10^2 UFC/ml. Sur le plan technologique, une flore mésophile nombreuse indique que le processus d'altération microbienne est engagé. Ces germes sont témoins de la rupture de la chaîne du chaud, de la chaîne du froid ou d'une durée de conservation trop longue [152].

Sur le plan sanitaire, il n'y a pas de relation directe entre la flore mésophile totale importante et la présence de germes pathogènes dans le produit, mais le dénombrement de la flore totale reste une bonne méthode d'appréciation de la qualité microbiologique générale des aliments. La recherche de germes pathogènes doit être systématique pour que la sécurité sanitaire soit assurée [152].

Le tableau IV. Les résultats de dénombrement sur le milieu PDA

| Plats | Site de prélèvement | Concentrations | Résultats des colonies poussées | Dénombrement |
|--------------------|---------------------|------------------|---------------------------------|----------------------------|
| Plat 1 : Hamburger | Site 1 | SM | 07 | <30 |
| | | 10 ⁻¹ | 12 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 09 | <30 |
| | Site 2 | SM | 09 | <30 |
| | | 10 ⁻¹ | 00 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 00 | <30 |
| | Site 3 | SM | 39 | 39UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 02 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 00 | <30 |
| Plat 2 : Chawarma | Site 1 | SM | 34 | 34UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 69 | 69.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | >300 | >300 |
| | Site 2 | SM | 231 | 231UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 127 | 127.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | >300 | >300 |
| | Site 3 | SM | >300 | >300 |
| | | 10 ⁻¹ | 57 | 57.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | 11 | <30 |
| Plat 3 : Bourak | Site 1 | SM | Boîtes Contaminées | |
| | | 10 ⁻¹ | | |
| | | 10 ⁻² | | |
| | Site 2 | SM | 00 | <30 |
| | | 10 ⁻¹ | 00 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 00 | <30 |
| | Site 3 | SM | 00 | <30 |
| | | 10 ⁻¹ | Boîtes Contaminées | |
| | | 10 ⁻² | | |

Concernant le site 1 et 3, le plat Bourek est contaminé par les moisissures, et, d'après l'aspect macroscopique des colonies, nous pourrions affirmer qu'il s'agirait d'un champignon: la moisissure blanche du pain (*Mucor mucedo*) ; les feuilles ayant servi à la préparation de ce plat auraient été stockées durant une période assez longue, et influencées par l'humidité. Ce volet n'entre pas dans l'objet de notre étude.

II. Dénombrements des indicateurs de contamination fécale.

La **figure 14** montre le résultat du dénombrement des indicateurs de contamination fécale (coliformes thermo-tolérants) sur les milieux solides VRBL, après incubation à 37°C pendant 48 h.

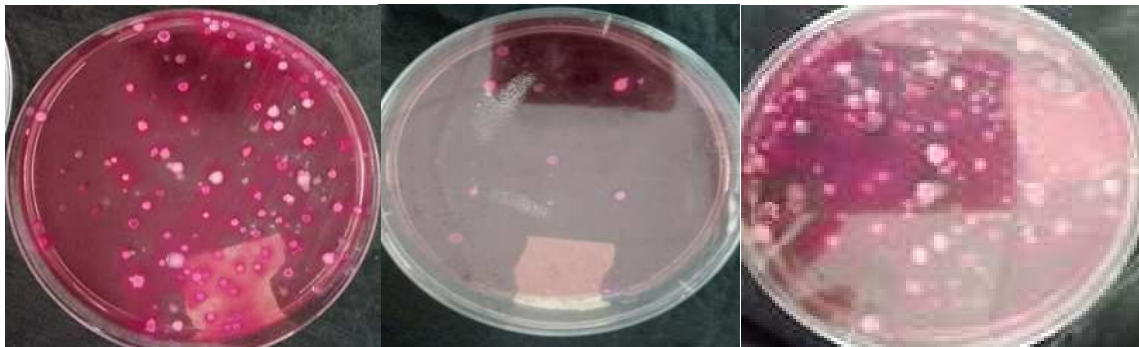


Figure 14. Photographies montrant les résultats d'isolement sur gélose VRBL.

On obtient des colonies de bactéries de couleur violette et quelques colonies de couleur blanche, de formes irrégulières bombées qui peuvent être des coliformes fécaux : *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* et plus particulièrement *Escherichia coli* sont de fidèles indicateurs de la contamination fécale des aliments.

Le tableau V montre les résultats de dénombrement ; on remarque l'absence des bactéries (< 30) dans le plat du hamburger sur le site 1 et 2, la charge bactérienne (coliformes thermo-tolérants) est inférieure à 3.10^5 , acceptable selon les normes AFNOR: donc le plat en question est considéré comme sain. Le taux de satisfaction est de 100% comparable aux résultats de Cisse en 2005 [153], cela explique le respect des bonnes pratiques des règles d'hygiène notamment une bonne hygiène corporelle du personnel [159].

D'autre part, le site 3 du prélèvement d'hamburger montre la présence d'un taux de 68UFC/ml ainsi, le deuxième plat chawarma qui montre une charge considérable comprise entre 29.10^4 UFC/ml, 227.10^3 UFC/ml et 164.10^3 UFC/ml pour les sites 1, 2 et 3 successivement. Le troisième plat « Bourek » dont la charge bactérienne varie d'un site à l'autre de 4.10^4 UFC/ml dans le site 1 et 47.10^3 UFC/ml dans le site 2 et 37.10^2 UFC/ml dans le site 3.

Cette population microbienne est assimilable en pratique à *Escherichia coli* ; la présence de ces germes indique une contamination d'origine fécale. Leur dénombrement permet de suivre l'hygiène des manipulations du personnel de fabrication ainsi que l'efficacité de la technologie employée pour réduire la contamination initiale [155].

Ce type de contamination peut faire redouter la présence de germes plus dangereux comme les salmonelles [156].

Le tableau V. Les résultats de dénombrement sur le milieu VRBL

| Plats | Site de prélèvement | Concentrations | Résultats des colonies poussées | Dénombrement |
|--------------------|---------------------|------------------|---------------------------------|----------------------------|
| Plat 1 : Hamburger | Site 1 | SM | 00 | <30 |
| | | 10 ⁻¹ | 00 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 00 | <30 |
| | Site 2 | SM | 2 3 | <30 |
| | | 10 ⁻¹ | 04 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 00 | <30 |
| | Site 3 | SM | 68 | 68UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 10 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 01 | <30 |
| Plat 2 : Chawarma | Site 1 | SM | >300 | >300 |
| | | 10 ⁻¹ | 47 | 47.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | 290 | 29.10 ⁴ UFC/ml |
| | Site 2 | SM | 156 | 156UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 123 | 123.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | 227 | 227.10 ³ UFC/ml |
| | Site 3 | SM | 50 | 50UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 40 | 4.10 ³ UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | 164 | 164.10 ³ UFC/ml |
| Plat 3 : Bourak | Site 1 | SM | 228 | 228UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 62 | 62.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | 40 | 4.10 ⁴ UFC/ml |
| | Site 2 | SM | 67 | 67UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 18 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 47 | 47.10 ³ UFC/ml |
| | Site 3 | SM | 63 | 63UFC /ml |
| | | 10 ⁻¹ | 37 | 37.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | 17 | <30 |

III. Recherche des germes pathogènes

III.1. Recherches de *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques pathogènes sont représentés par *Staphylococcus aureus* qui est un germe de contamination humaine. Ce sont des germes qui permettent de déterminer les produits qui présentent le plus de risques d'intoxication.

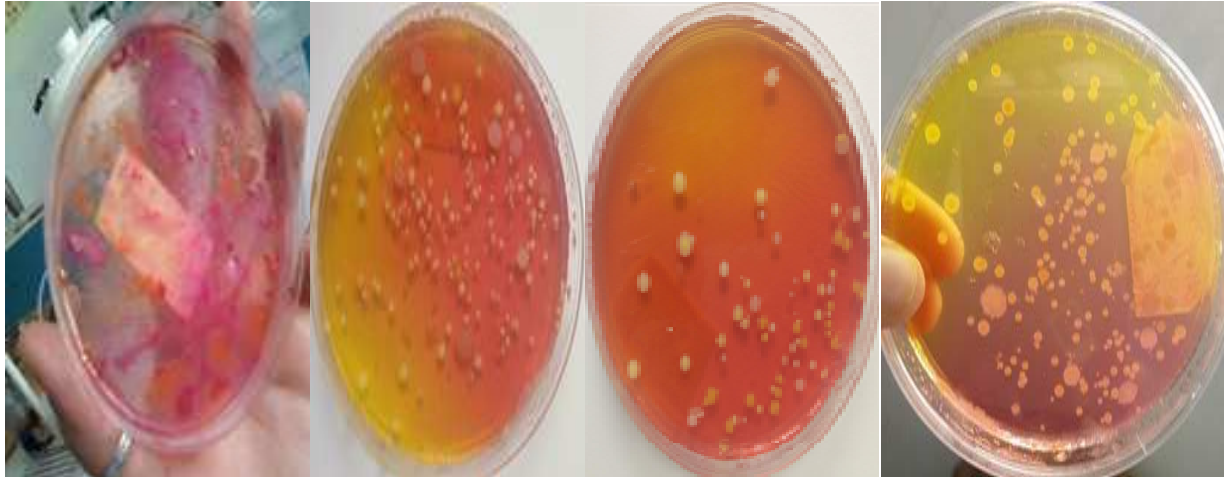


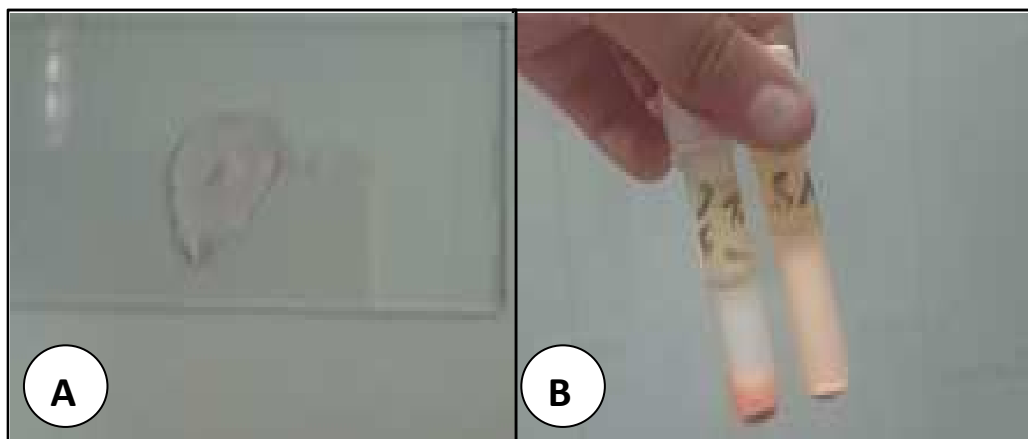
Figure 15. Photographies montrent les résultats de la culture sur la gélose Chapman

La gélose de Chapman permet l'isolement sélectif, la recherche et le dénombrement des staphylocoques pathogènes. Les résultats obtenus montrent la présence de cette bactérie dans les trois plats analysés des trois endroits choisis (**fig.15**).

Ça revient à la contamination bactérienne par les manipulateurs, l'homme héberge les germes sur la peau, les cheveux, la bouche et les narines; la principale source de contamination par les manipulateurs se fait par grattage de la peau, l'éternuement, la chevelure mal retenue, les mains, les bracelets, les montres, etc., la matière première ou les repas peuvent être des sources de contamination, surtout lors de la distribution [157].

Ces germes sont généralement assimilés au *Staphylococcus aureus*. Ils sont d'origine humaine. Leur présence témoigne d'une hygiène insuffisante et permet de déterminer les produits qui présentent le plus de risques d'intoxication [158].

La mise en évidence des staphylocoques pathogènes devra être confirmée par la recherche de la coagulase et la catalase.



La figure 16. Résultats du test catalase (+) (A) et de test coagulase (-) (B)

Les résultats montrent une Coagulase négative ; Il n'y a pas de formation d'un coagulum de fibrine. Le fibrinogène (soluble) n'a donc pas été transformé en fibrine (insoluble) la bactérie ne possède donc pas de coagulase libre. Elle est dite coagulase libre (-) ou encore coagulase (-). Test catalase a été pratiqué sur quelques colonies, l'apparition d'un dégagement de bulles met en évidence un test catalase positive (**fig.16**).

Les espèces de *Staphylococcus* présentent dans ces échantillons ne sont pas pathogènes car les espèces pathogènes de ce genre donnent un résultat positif de catalase et de coagulase [6].

III.2. Recherche de *Salmonella*

Nous remarquons l'apparition des colonies sur le milieu SS dans les plats « Hamburger » et « Chawarma », et leur absence dans le « Bourek », les normes requises par l'AFNOR obligent l'absence totale de salmonelles dans les 25g d'aliment [6].

La gélose *Salmonella-Shigella* est utilisée pour l'isolement des *Salmonelles* et des *Shigelles* dans les produits alimentaires ainsi que dans les autres prélèvements (d'origine animale par exemple) susceptibles d'en contenir, après enrichissement préalable. Son utilisation est fondée sur les principes suivants:

- La gélose SS est un milieu modérément sélectif où l'inhibition des microorganismes à Gram positif est due à la présence de sels biliaires, de vert brillant et de citrate de sodium.
- Les concentrations élevées en citrate et thiosulfate de sodium limitent le développement des coliformes et évitent l'envahissement du milieu par les *Proteus*.

- La fermentation du lactose en acide est révélée, en présence de rouge neutre, par la formation de colonies rouges. Les microorganismes lactose-négatif présentent des colonies incolores.

- En présence de thiosulfate et de citrate ferrique, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène donnent des colonies à centre noir.

Après incubation, on remarque l'apparition de plusieurs types de colonies à la surface du milieu (**fig.17**); ces colonies sont incolores, cela est dû à l'absence d'acidification du milieu, donc ce sont des bactéries **lactose -**, sans centre noir (production de sulfure de fer noir due à la réduction du thiosulfate en H_2S : souche **H₂S-**). Selon ces caractères biochimique, on peut estimer que ces colonies ne présentent pas des bactéries de genre *Salmonella*, mais probablement une autre bactérie appartenant à la famille des entérobactéries qui sont responsables de la contamination.

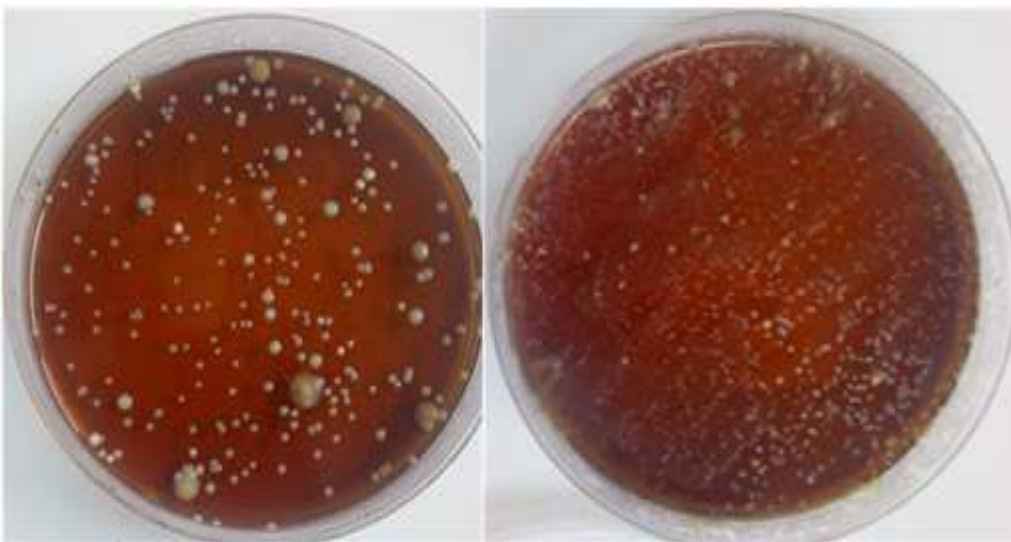


Figure 17. Photographies montrant les résultats sur la gélose *Salmonella-Shigella* (SS).

Pour confirmer ces résultats, un test de TSI, ONPG, citrate de Simmons, Mannitol, Nitrate réductase, Clark et Lubs, catalase, oxydase sont effectués. Ainsi L'observation microscopique à l'état frais et la coloration de Gram. Les résultats obtenus sont présentes dans le **tableau VI**.

Tableau VI. Les résultats des tests biochimiques

| Tests | Résultats obtenus | Caractère de <i>Salmonella</i> [6] |
|---------------------------|-----------------------|------------------------------------|
| TSI | Glucose (-) | Glucose (+) |
| | Lactose(-) | Lactose (-) |
| | Saccharose(-) | Saccharose (+) |
| | Production de gaz (+) | Production de gaz (+) |
| | H ₂ S (-) | H ₂ S (+) |
| ONPG | + | +/- |
| Citrate de Simmons | + | - |
| Mannitol | + | + |
| VP | - | - |
| Nitrate réductase | + | - |
| Catalase | + | +/- |
| oxydase | - | - |
| Coloration de Gram | Gram - | Gram - |
| Etat frais | Mobiles | Mobile |
| Forme | Coccobacille | Bacilles |

Aucune salmonelle n'a pu être mise en évidence. Ceci est peut-être lié à nos méthodes de recherche simplifiées. En effet, comme l'indiquent **Diallo, 2010 [159]**, la recherche des salmonelles par la méthode classique peut être négative, alors même que l'échantillon en renferme 10^5 à 10^8 germes/g. Ils l'expliquent par la présence éventuelle de germes compétiteurs (coliformes, *E. coli* et *Proteus*) et à un moindre degré par le milieu d'isolement, si bien que la fréquence élevée des coliformes fécaux entraîne une forte suspicion de la présence de salmonelles.

Tableau Résultat de PDA

| Plats | Site de prélèvement | Concentrations | Résultats des colonies poussées | Dénombrement |
|---------------------------|---------------------|------------------|---------------------------------|----------------------------|
| Plat 1 : Hamburger | Site 1 | SM | 07 | <30 |
| | | 10 ⁻¹ | 12 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 09 | <30 |
| | Site 2 | SM | 09 | <30 |
| | | 10 ⁻¹ | 00 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 00 | <30 |
| | Site 3 | SM | 39 | 39UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 02 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 00 | <30 |
| Plat 2 : Chawarma | Site 1 | SM | 34 | 34UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 69 | 69.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | >300 | >300 |
| | Site 2 | SM | 231 | 231UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 127 | 127.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | >300 | >300 |
| | Site 3 | SM | >300 | >300 |
| | | 10 ⁻¹ | 57 | 57.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | 11 | <30 |
| Plat 3 : Bourak | Site 1 | SM | Boites Contaminées | |
| | | 10 ⁻¹ | | |
| | | 10 ⁻² | | |
| | Site 2 | SM | 00 | <30 |
| | | 10 ⁻¹ | 00 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 00 | <30 |
| | Site 3 | SM | 00 | <30 |
| | | 10 ⁻¹ | Boites Contaminées | |
| | | 10 ⁻² | | |

Tableaux. Résultats de VRBL

| Plats | Site de prélèvement | Concentrations | Résultats des colonies poussées | Dénombrement |
|---------------------------|---------------------|------------------|---------------------------------|----------------------------|
| Plat 1 : Hamburger | Site 1 | SM | 00 | <30 |
| | | 10 ⁻¹ | 00 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 00 | <30 |
| | Site 2 | SM | 2 3 | <30 |
| | | 10 ⁻¹ | 04 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 00 | <30 |
| | Site 3 | SM | 68 | 68UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 10 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 01 | <30 |
| Plat 2 : Chawarma | Site 1 | SM | >300 | >300 |
| | | 10 ⁻¹ | 47 | 47.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | 290 | 29.10 ⁴ UFC/ml |
| | Site 2 | SM | 156 | 156UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 123 | 123.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | 227 | 227.10 ³ UFC/ml |
| | Site 3 | SM | 50 | 50UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 40 | 4.10 ³ UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | 164 | 164.10 ³ UFC/ml |
| Plat 3 : Bourak | Site 1 | SM | 228 | 228UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 62 | 62.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | 40 | 4.10 ⁴ UFC/ml |
| | Site 2 | SM | 67 | 67UFC/ml |
| | | 10 ⁻¹ | 18 | <30 |
| | | 10 ⁻² | 47 | 47.10 ³ UFC/ml |
| | Site 3 | SM | 63 | 63UFC /ml |
| | | 10 ⁻¹ | 37 | 37.10 ² UFC/ml |
| | | 10 ⁻² | 17 | <30 |

Notre travail avait comme objectif principal l'étude bactériologique des repas servis aux Fast-Food de la ville de Khenchela. En testant des aliments de différentes compositions : Hamburger, Chawarma, Bourek, prélevés de trois sites différents ; le premier site situé à la rue de Babar, le deuxième site existe au centre-ville et le troisième site situé à près de la maison de culture.

La présence d'un ou plusieurs germes peuvent causer des intoxications alimentaires des fois graves telles que la salmonellose, la shigellose, l'intoxication alimentaire à staphylocoque, le botulisme, la gastroentérite à *Campylobacter jejuni*, et/ou une colibacillose. Dans ce contexte, différents milieux de culture sont utilisés pour dénombrer et chercher la présence des différents germes. Dont les coliformes thermo-tolérants, les germes aérobies mésophiles totaux, *Staphylococcus aureus* et la *Salmonella* pour évaluer la qualité hygiénique des repas.

Les expériences de cette recherche montrent une variété de résultats ; les bactéries mésophiles sont absentes dans le plat Hamburger et Bourek, mais ces bactéries présentes dans le plat de Chawarma à un taux maximal de 127.10^2 UFC/ml, une flore mésophile nombreuse indique que le processus d'altération microbienne est engagé. Ces germes sont témoins de la rupture de la chaîne du chaud, de la chaîne du froid ou d'une durée de conservation trop longue. Sur le plan sanitaire, il n'y a pas de relation directe entre la flore mésophile totale importante et la présence de germes pathogènes dans le produit, mais le dénombrement de la flore totale reste une bonne méthode d'appréciation de la qualité microbiologique générale des aliments.

Les coliformes totaux sont absentes dans Humberger, mais très réponsus dans le Bourek et Chawarm. Leur présence avec une charge élevée de 29.10^4 UFC/ml dans le plat Chawarma. Cette population microbienne est assimilable en pratique à *Escherichia coli.*, la présence de ces germes signe une contamination d'origine fécale. Leur dénombrement permet de suivre l'hygiène des manipulations du personnel de fabrication ainsi que l'efficacité de la technologie employée pour réduire la contamination initiale.

Les Staphylocoques sont toujours présents dans les repas, car l'homme héberge les germes sur la peau, les cheveux, la bouche et les narines; la principale source de contamination par les manipulateurs se fait par grattage de la peau, l'éternuement, la chevelure mal retenue, les mains, les bracelets, les montres, etc., la matière première ou les repas peuvent être des sources de contamination, surtout lors de la distribution.

La recherche de Salmonelle indique l'absence de germe dans les repas et aucune salmonelle n'a pu être mise en évidence. Ceci est peut-être lié à nos méthodes de recherche simplifiées. En effet, la recherche des salmonelles par la méthode classique peut être négative, alors même que l'échantillon en renferme 10^5 à 10^8 germes/g. Ils l'expliquent par la présence éventuelle de germes compétiteurs (coliformes, *Proteus*) et à un moindre degré par le milieu d'isolement, si bien que la fréquence élevée des coliformes fécaux entraîne une forte suspicion de la présence de salmonelles.

En fin, le plat le plus contaminé c'est le plat Chawarma, l'endroit le plus contaminé c'est le site 1 parce que la charge des coliformes qui sont dangereux est très élevée 29.10^4 UFC/ml tandis que la charge des FTAM est élevée dans le site 2 à 127.10^2 UFC/ml.

Ces résultats peuvent être enrichis avec d'autres études et comme perspectives des recherches d'autres germes tels que les champignons, les levures, les parasites, les virus peuvent être recherchés. Aussi l'utilisation des techniques d'identification de biologie moléculaire pour déterminer les facteurs de pathogénicité et de virulence des bactéries pathogènes présentes dans les repas.

Les différentes recommandations vont viser à restructurer tout le système qui est "l'entreprise fast-food". En effet, les fast-foods sont aussi des entreprises du même titre que les usines de poissons, les fabriques de conserves ou de boissons régies par des règlements particuliers. Ce secteur, loin de l'informel peut être facilement contrôlé.

Les améliorations doivent porter sur la conception et la construction des locaux ainsi que sur toute la chaîne de traitement des denrées.

La construction des locaux doit se faire suivant les mêmes règles que les autres industries agro-alimentaires pour un respect des principes d'hygiène:

- Equipements et matériel doivent être en bon état, faciles à démonter et entretenus quotidiennement.
- Aération: doit être suffisante pour éviter la concentration des micro-organismes.
- Hottes d'aspiration : sont à prévoir dans les cuisines pour éviter le dépôt des vapeurs sur le sol, les murs et le plafond.
- Source d'eau potable: doit être en qualité et quantité suffisante pour le bon fonctionnement de l'établissement.
- Une bonne condition de transport des légumes, évite la prolifération des micro-organismes et les contaminations croisées.

- La température de stockage et la durée sont deux paramètres importants à respecter, la conservation par le froid présente des avantages économiques et sanitaires.
- Un plan de nettoyage-désinfection des locaux et du matériel doit être établi la responsabilité de la propreté de chaque appareil ou équipement et de chaque local est affecté à un membre du personnel.
- Deux ou trois nettoyages généraux (lavage, désinfection) doivent être programmés au cours de l'année et confiés à une société spécialisée sous-traitante.
- Un examen médical d'embauche s'avère indispensable. En plus, des suivis périodiques doivent être effectués pour détecter les porteurs sains.

- [01] **Lang Emilie, 2016.** Compréhension de l'inactivation de bactéries pathogènes présentes dans des produits alimentaires déshydratés. Ingénierie des aliments. Université de Bourgogne. Français. p.30.
- [02] **Blackburn.W., 2006.** Food spoilage microorganism. Woodhead publishing in food science . technology and nutrition. Cambridge.England.p119. 712 p.
- [03] **Levy Caroline , 2010.** Principaux facteurs influençant l'efficacité de la lumière pulsée pour la décontamination des microorganismes pathogènes et d'altération des denrées alimentaires. Ecole Doctorale. Science agricoles. Université d'Avignon. Français.192 p, p.8.
- [04] **Butt A. A. Aldridge K. E., 2004.** Infections related to the ingestion of seafood Part I: Viral and bacterial infections. *Lancet Infectious Diseases* 4(4): 201-212.
- [06] **Guiraud J.P.,1998.** Microbiologie alimentaire. Ed : Dunod . Paris. pp : 88-89.
- [07] **Ch. Joffin, J.N , Joffin ,2010 .**Microbiologie alimentaire. Edition de CRDP Aquitaine. 342 pp.
- [08] **Bousseboua .H., 2002 .**Eléments de Microbiologie generale .Editions de l'université de Mentouri. Constantine. Algérie .pp,259 .
- [09] <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/themes/contaminants/fr/>
- [10] **Lederer J., 1978.**Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire.Edition Nauwelaerts.Paris.851 p.
- [11]**Kama kasongo crispin , 2014-2015.**Qualite hygienique des aliments vendus sur la voie publique du site diurne et nocturne (cas du marche de la 11^{ème} tshopo) .
- [12] **Bacila A .,2009 .**Préventions des altérations et des contaminations microbiennes des aliments, mémoire de magistère, Université Mentouri-Constantine.
- [13] **Leveau J , Larpent J , Bouix M ., 2010 .**Sécurité microbiologique des procédés alimentaires, Techniques de l'ingénieur,traité Agroalimentaire .F 1 120-1.
- [14] **Cosson C .,Bolnot F .,TronchonP ., 2003 .**Sécurité alimentaire en milieu hospitalier .de la logique de crise à la logique de progrès. Nutrition clinique et métabolisme.17 : 242 251 .
- [15] **Bolnot F ., 2004 .**La maitrise de la qualité et les signes de qualité .Polycopié . Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.observatoire risques et aliments.17p.

- [16] **Corpet D .,2005** .Maitrise de l'hygiène (restaurant & industrie) hygiène en restauration hors de foyer . polycopié . Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse . unité pédagogique de l'hygiène et l'industrie des denrées alimentaires d'origine animale.26p.
- [17] **Cirillo T . , Agozzino E . , Cocchler R Del Prete U., 2004** .Perception of biological risk and food choices in university students in Naples. Italian journal of public health . 62P-67P
- [18] **Alli A .,2004** .Food Quality Assurance . Principles and Practices. Florida 33431 .CRC Press.
- [19] **Yasuda T., 2010** .Food safety regulation in the United States . An empirical and theoretical examination. In Independent Review. vol 15 .p . 201 -226
- [20] **M. Morillon, E. Garnotel .,2004** .Choléra. EMC-Maladies Infectieuses 1 .p 67–80
- [21] **Pierre de Truchis , avril 2007** . Anne de Truchis. Diarrhées aiguës infectieuses. Tome 36 . n° 4 .
- [22] **Gilles Pelletier , avril 2007** . Physiopathologie des diarrhées tropicales; Service des maladies du foie et de l'appareil digestif; tome 36 .n° 4 .
- [23] **Marie Laure ,avril 2011** . Le diagnostic bactériologique du choléra. Revue Francophone des Laboratoires .n°431
- [24] **Prescott.CH, Willey . J, Sherwood. L , Woolverton . CH ., 2013** . Microbiologie.4 édition de Boeck. Université de France .1070.p
- [25] Investigation d'un épisode de cas groupés de salmonellose à Paris 7e. Novembre 2012 à février 2013. Saint-Maurice . Institut de veille sanitaire . 2013. 40 p
- [26] **Rettig Ph J., 1979** .Campylobacter infections in human beings. The journal of pediatrics.
- [27] **Brown P, Kidd D, Riordan T et Borell R.A . , 1988** .*An outbreak of food-born. Campylobacter jejuni infection and the possible role of cross contamination. Journal of infect Disease (171-176).*
- [28] **AFSSA Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. 2003** . Bilan des connaissances relatives aux Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC).
- [29] **Bergeron N., 2009** . Caractérisation phénotypique d'isolats de *Salmonella typhimurium* provenant de porcs sains ou septicémiques. Thèse de Microbiologie. p 263.

- [30] Korsak N., Clinquart A., Daube G., 2004. *Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale. un réel problème de santé publique. *Les annales de médecine vétérinaire* 148(4): 174-193.
- [31] Le Minor L., Popoff M.Y., 1987. Designation of *Salmonella enterica* sp. nov. As the type and the only species of the genus *Salmonella*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 37. 465-468.
- [32] Wayne L.G., Brenner D.G., Colwell R.R., Grimont P.A.D., Kandler O., Krichevsky M. I., Moore H., Moore W. E. C., Murray R. G. E., Stackbrandt E., Starr M. P., Trüper H.G., 1987. Report of the ad-hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International journal of systematic Bacteriology* 37.463-464.
- [33] Bergey's Manual of systematic bacteriology.
- [34] Brisabois A., 2001. Intérêt et limites des techniques de caractérisation des *Salmonella*. *Epidémiologie et santé animale* 39: 31-42.
- [35] Jones T. F., Ingram L. A., 2008. Salmonellosis outcomes differ substantially by serotype. *Journal of Infectious Diseases* 198(1): 109-14.
- [36] DuPont H.L., 2007. The growing threat of foodborne bacterial enteropathogens of animal origin. *Clinical Infectious Diseases* 45(10): 1353-61.
- [37] Todd E.C., Greig J.D., 2008. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 5. Sources of contamination and pathogen excretion from infected persons. *Journal of Food Protection* 71(12): 2582-95.
- [38] Dechet A.M., Scallan E., 2008. Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium Definitive Type 104 infection linked to commercial ground beef, northeastern United States, 2003-2004. *Clinical Infectious Diseases* 42(6): 747-52.
- [39] Hennessy T.W., Cheng L.H., 2004. Egg consumption is the principal risk factor for sporadic *Salmonella* serotype Heidelberg infections. A case-control study in foodnet sites. *Clinical Infectious Diseases* 38.
- [40] De Jong B., Andersson Y., 2005. Effect of regulation and education on reptile-associated salmonellosis. *Emerging Infectious Diseases* 11(3) : 398-403.
- [41] FAO, OMS, 2005. Système national de sécurité sanitaire des aliments et ses impacts socio-économiques et sanitaires (Préparé par la Côte d'Ivoire). Document de séance 16, Conférence régionale FAO/OMS sur la sécurité sanitaire des aliments pour l'Afrique. Harare, Zimbabwe, 3-6.
- [42] Haeghebaert S., Sulem P., 2003. Two outbreaks of *Salmonella* Enteritidis phage

type 8 linked to the consumption of Cantal cheese made with raw milk, France. *Europe Surveillance* 8(7): 151-6.

[43] **Kirk M. D., McKay I., 2008.** Food safety.foodborne disease in Australia.theOz Food Net experience. *Clinical Infectious Diseases* 47(3): 392-400.

[44] **Brandl M.T., 2006.** Fitness of human enteric pathogens on plants and implications for food safety. *Annual Review of Phytopathology* 44: 367-92.

[45] **Angulo F.J., Johnson K.R., 2000.** Origins and consequences of antimicrobial resistant non typhoidal *Salmonella*. Implications for the use of fluoroquinolones in food animals. *Microbial Drug Resistance* 6(1): 77-83.

[46] **Rabsch W., Tschäpe H., 2001.** Non-typhoidal salmonellosis. Emerging problems. *Microbes and Infection* 3(3): 237-247.

[47] **Rosset, R., Beaufort, A., 1983.** Nature et description des intoxications in la restauration sociale et commerciale. Paris . I.T.S.V. 339-347.

[48] **Billon, J., Poumeyrol, M., 1984.** Evolution des intoxications et des toxi-infections alimentaires au cours des dernières années. Bull. Acad. Vét. France, 54 : 425-435

[49] **Leclerc H., 2000 .** Principes de dénombrement des coliformes.- Lille . Institut Pasteur de Lille. 360p

[50] **Buston A., Fraser G., 1977 .** (PhD, in veterinary microbiology, Royal (Dick) School of veterinary Studies)

- *Escherichia* p: 93, *Salmonella* p: 103, *Protéus*, *Klebsiella* and *Shigella* p: 117
- Distribution in nature, (1): bactériologie mycologie, University of Edinburgh

[51] **Djelouat S., 2008.** Les Entérobactéries .généralité. Laboratoire d'analyse médicale bactériologique. Version 6. 32-43.

[52] **Le Minor L. and Richard C., 1993.** Méthode de laboratoire pour l'identification des Entérobactéries. Institut Pasteur. Paris . 310-324.

[53] **Le Minor, L., Popoff, M.Y., et Bockemuhl, J., 1990.** Supplement 1989 to the Kauffmann-White scheme. *Res .Microbiol.* 141: 1173-1177

[53] **Willshaw, G.A., Smith, H.R., Roberts, D., Thirdwell, J., Cheasty, T., et Rowe, B., 1993.** Examination of raw beef products for the presence of Vero cytotoxin producing *Escherichia coli*, particularly those of serogroup O157. *J. Appl. Bacteriol.*, **75**: 420-426.

[54] **Larpent J.P., 1997.** Les bactéries lactiques. In : Microbiologie alimentaire, Aliments fermentés et fermentations alimentaires (Tome 2), 2e édition, (eds Bourgeois C.M. et Larpent

J.P.), Lavoisier, Tec. & Doc., Paris. pp. 6-33.

[55]Guechi, Z.,2002. Microbiologie des viandes et des produits carnés.Cours nationales d'hygiène et de microbiologie des aliments. *Institut Pasteur d'Algérie*. 38:140-145.

[56]Rodrigue. D.C., Mast, E.E.,Greene, K.D., Davis, J.P.,Hutchinson, M.A., Wells,J.G.,Barrett, T.J., Griffin, P.A., 1995. A university outbreak of *Escherichia coli*O157:H7 infections associated with roast beef and an unusually benign clinicalcourse. *J.Infect. Dis.* **172**:1122–5.

[57]CDC. 2000. Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with eating fresh cheese curds--Wisconsin, June 1998. *MMWR Morb Mortal Wkly* **49**:911-913

[58]Pohl, P.,1993. Les souches pathogènes d'*Escherichia coli*, histoire et classification. *An. Méd.Vété.* **137**:325-333.

[59]LeBlanc J.J.,2003. Implication of virulence factors in *Escherichia coli* O157:H7 pathogenesis. *Crit Rev Microbiol.* 29: 277-296.

[60]Greator, J. S., et G. M. Thorne.,1994. Humoral immune responses to Shiga-like toxins and *Escherichia coli* O157 lipopolysaccharide in hemolytic-uremic syndrome patients and healthy subjects. *J. Clin. Microbiol.* 32:1172-1178.

[61] Riley, L. W., Remis, R. S., Helgerson, S. D., McGee, H. B., Wells, J. G., Davis, B. R.,Hebert, R. J.,Olcott, E.S., Johnson, L. M., Hargrett, N. T., Blake, P. A., et Cohen, M. L.,1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N. Engl. J.*

[62]Fauchère, J.L., et Avril, J.L., 2002. Bactériologie générale et médicale. Ellipses Edition Marketing S.A. :237-239.

[69]Levine, M.M.,1987. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic,enteropathogenic,enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J. Infect. Dis.* **155**:377-389 .

[70]Breuer, T., Benkel, D. H., Shapiro, R. L., Hall, W. N., Winnett, M. M., Linn, M. J., Neimann, J., Barrett, T. J., Dietrich, S., Downes, F. P., Toney, D. M., Pearson, J. L., Rolka, H., Slutsker, L., et Griffin, P. M.,2001. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections linked to alfalfa sprouts grown from contaminated seeds. *Emerg. Infect. Dis.* **7**:977-982.

[71]Milley, L.G.et L.H.Sekla.,1993. An enzyme –like immunosorbent assay- isolation

procedure for vero toxin in *Escherichia coli* O157:H7. J. Bacteriol. 177:3004-3009.

[72] **Lund, B.M., Baird-Parker, T.C. & Gould, G. W., 2000.** The microbiological safety and quality of food. J. Food Prot. 54 :762-766.

[73] **Maria M. Gil, Fátima A. Miller, Teresa R. S. Brandão, Cristina L. M. Silva., 2016.** Combined effects of temperature, pH and water activity on predictive ability of microbial kinetic inactivation model, 9th International Conference on Predictive Modelling in Food, Procedia Food Science 7, 67 – 70

[74] **Kandror, O., A. De Leon et A.L. Goldberg., 2002.** Trehalose synthesis induced upon exposure of *Escherichia coli* to cold and is essential for viability at low temperatures. Proc. Natl. Acad. Sci. 99:9727-9732.

[75] **Karch H., Tarr P.I. and Bielaszewska M., 2005.** Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. Int J Med Microbiol. 295: 405-418.

[76] **Leistner, L., Gorris, L.G.M., 1995.** Food preservation by hurdle technology. Trends in Food Science & Technology 6, 41-46.

[77] **Levine, M.M., 1987.** *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. J. Infect. Dis. 155: 377-389.

[78] **McSwane D., Rue N., Linton, R., 2000.** Essentials food safety and sanitation. New Jersey: Prentice Hall Inc.

[79] **Paola Pittia., Paparella Antonello., 2016.** Safety by control of water activity: drying, smoking, and salt or sugar addition, chapter 2, faculty of Bioscience and Technology for Food Agriculture and Environment, University of Teramo (Italy).

[80] **Rousset Elodie, J. Daniel Dubreuil., 2000.** Les récepteurs des enterotoxines bactériennes. Veterinary Research, BioMed Central, 31 (4), pp.413-435.

[81] **Vallerian S., 1999.** Contribution à l'étude de la maîtrise de la qualité hygiénique dans la restauration rapide. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse.

[82] **Chaechter M, Medoff G., 1999.** Eisenstein Barry I. Microbiologie et pathologie infectieuse. De Boeck Université. Paris Bruxelles . p188-189.

[83] **Welsh. D.T. et R.A. Herbert., 1999.** Osmotically induced intracellular trehalose, but not glycine betaine accumulation promotes desiccation tolerance in *Escherichia coli*. FEMS Microbiol. Lett. 174:57-63.

- [84] Prescott L.M, Harley J.P, Klein D.,2010 .Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université.
- [85] Freeman-Cook .L and Freeman-Cook .K.,2006 .*Staphylococcus aureus* infections. Chelsea House Publishers. Philadelphia, , p 26-29.
- [86] Eveillard Matthieu,2007.Politique de dépistage de staphylococcus aureus résistant à la méticilline à l'admission . adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage. conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. biologie cellulaire. angers . universite d'angers .p159.
- [87] Vincenot.F, Saleh.M, Prévost.G., 2008. Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. Revue francophone des laboratoires .407:61-69.
- [88] Bemmer-Melchior. P., Drugeon. H.B., 2001 . Choix de la concentration en NaCl pour optimiser la detection de la résistance à la méticilline chez *Staphylococcus* par la méthode de diffusion en gélose. Pathol Biol49 : 216-21.
- [89] Ramdani-Bougoussa N., Bes M., Meugnier H., Forey F., Reverdy ME., Lina G.,2006.Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying the Panton-Valentine leukocidin genes in an Algiers hospital. Antimicrob Agents Chemother .50:1083–5.
- [90] Hamdad, F., Donda, F., Laurans, G., Canarelli, B., Rousseau, F., Biendo, M.,Thomas D., 2006.Performances des différentes méthodes de détection de la résistance à l'oxacilline de souches atypiques de *Staphylococcus aureus*, Pathologie Biologie.54 . 447–452.
- [91] Forestier E., Rémy, V., Mohseni-Zadeh, M., Lesens, O., Jaulhac B., Christmann D., 2006. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. aspects épidémiologiques et thérapeutiques récents. Rev Med Interne .11:014.
- [92] Agata N., Ohta M., Yokoyama K.,2002. Production of *Bacillus cereus* emetictoxin (cereulide) in various foods. Int. J. Food. Microbiol. 73, 23-27.
- [93] Zampini M., Pruzzo C., Bondre V.P., Tarsi R., Cosmo M., Bacciagla A., Chhabra A., Srivasta R. and Srivasta B.S.,2005.Vibrio cholerae persistence in aquatic environments and colonization of intestinal cells: involvement in a common adhesion mechanism. FEMS. Microbiol. Let. 244: 267-273.
- [94] Yicheng S., Chengchu L.,2007.Vibrio parahaemolyticus . A concern of seafood safety.Food microbiol.24 .549-558.

- [95]Robert Pillot A., Guérolé A., Lesne J., delesmont R., Fournier J.M., Quilici M.L.,2004. Occurrence of the *tdh* et *trh* genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolates from waters and rawshellfish collected in two French coastal areas and from seafood imported into France. *Int.J. FoodMicrobiol.* 91: 319-325.
- [96]Reidl J., Klose K.E.,2002.*Vibrio cholerae* and cholera .out of water into the host. *FEMS Microbiology Reviews.*26: 125-139.
- [97]Bolton DJ.,2015 .*Campylobacter* virulence and survival factors. *Food Microbiol.* Jun;48:99–108.
- [98]Penner JL ., Hennessy JN., 1980.Passive hemagglutination technique for serotyping *Campylobacter fetus subsp jejuni* on the basis of soluble heat-stable antigens. *J Clin Microbiol.* Dec;12(6):732–7.
- [99]Wang Y., Huang WM ., Taylor DE., 1993. Cloning and nucleotide sequence of the *Campylobacter jejuni* *gyrA* gene and characterization of quinolone resistance mutations. *Antimicrob AgentsChemother.* Mar;37(3):457–63.
- [100]Sifré E., Salha BA., Ducournau A., Floch P., Chardon H., Mégraud F.,2015.eucast recommendations for antimicrobial susceptibility testing applied to the three main *Campylobacter* species isolated in humans. *J Microbiol Methods.* Dec;119:206–13.
- [101]Wang Y., Huang WM., Taylor DE.,1993 . Cloning and nucleotide sequence of the *Campylobacter jejuni* *gyrA* gene and characterization of quinolone resistance mutations. *Antimicrob AgentsChemother.*
- [102]Dasti JI., Groß U., Pohl S., Lugert R., Weig M., Schmidt R.,2007.Role of the plasmid-encoded *tet(O)* gene in tetracycline-resistant clinical isolates of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J Med Microbiol.*56(6):833–7.
- [103]Payot S., Bolla J-M., Corcoran D., Fanning S., Mégraud F., Zhang Q., 2006 . Mechanisms of fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter* spp. *Microbes Infect.*
- [104]Pumbwe L., Randall LP., Woodward MJ., Piddock LJV., 2004 . Expression of the efflux pump genes and the porin gene *porA* in multiple-antibiotic-resistant *Campylobacter jejuni*. *J Antimicrob Chemother.*
- [105]Ruiz J., Moreno A., Jimenez MT., Vila J.,2005 .the *gyrA* gene is necessary to produce high levels of resistance to moxifloxacin in *Campylobacter* spp. Clinical isolates. *Int J Antimicrob Agents.* Jun;25(6):542–5.

- [106] Pratt A., Korolik V., 2005. Tetracycline resistance of Australian *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates. J Antimicrob Chemother.
- [107] AFNOR., 2004. Association Française de Normalisation. Analyse microbiologique. méthodes horizontales paris. association française de normalisation (afnor) :1, 521
- [108] arrêté interministériel du 27 octobre 1993 (JORA) relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. JORA N°69. 1993. Algérie.
- [109] Biokar Diagnostics. Rue des Quarante Mines. ZAC de Ther. Allonne. B.P. 10245. F60002 Beauvais Cedex. France
- [110] 1ère STL. Fiche technique, La Catalase., 2006.
- [111] Larcher C., Recherche *S. aureus*.
- [112] Bonny A.C., Karou T.G., Atobla.K., Bohoua L.G., Niamkey.L.S., 2011. Portage de *Salmonella* au niveau du gésier cru de poulets exposés à la vente à Abidjan, Côte d'Ivoire. Appl. Biosci. 47: 3230– 3234.
- [113] Dellarras C., 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Technique et documentation. France. Lavoisier
- [114] Le Minor L., Richard C., 1993. Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Paris (FR): *Institut Pasteur*; MBB 048.
- [115] Philippon A., 2007. Cours de bactériologie médicale. faculté de médecine Cochin Port-Royal. 150-155
- [116] Carler J-P., 2005. Dysfonctionnements biologiques des stations d'épuration : origines et solutions Groupe Gis-Bios tep. Doc&Tech FNDAE n° 33 : pp100-104.
- [117] Berraho E., 2009. Cours de Microbiologie Générale. Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire. B.P. 1014. Rabat.
- [118] Tankeshwar A., 2012. Oxidase test: Principle Procedure and oxidase positive organisms. Biochemical tests in Microbiology. laboratory diagnosis of Bacterial Disease.
- [119] Grath A., Overman B., Overman L., 1977. Média- dependent oxidase reaction in a strain of *Escherichia coli*. J. Clin Microbiol, 5, 112-113.
- [120] Tankeshwar A., 2013. Catalase test principle. uses. procedure and results. Biochemical Tests for Gram Negative Bacteria.

- [121] **Millemann Y., 1997.** Les marqueurs epidemiologiques des salmonelles. Veterinary Research, BioMed Central, , 29 : 3-19.
- [122] **Gaillet O.,2008.** Identification des Entérobactéries : a review.J. Appl. Microbiol.99: 223-229.
- [123] **Sahl H., Jack RW., Bierbaum G.,1995.** Lantibiotics biosynthesis and biodefecation activity of lantibiotics with unique post transsional modification. Eur. J.Biochem. 230:827 853.
- [124] **Madigan M., Martinko J., 2007.** Biologie des micro-organismes. 11^{ème} édition. Pearson, Paris. p : 731-735, 790-792, 943, 947-948.
- [125] **Joffin J.N., Leyal G., 2001.** Microbiologie technique . dictionnaire des techniques. Centre nationale de documentation pédagogiques d'Aquitaine.
- [126] **Richard C., Proskauer V.,1978.** Méthode rapide pour l'étude de rouge de méthyle. Ann. Inst. Past 122 : 979-986.
- [127] **Joly B., Alain R., 2003.** Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Ed : Lavoisier, Paris, 356 : 29-38.
- [128] **Marchal N., Bourdon J., Richard C., 1991.** Les milieux de culture pour l'isolement etl'identification biochimique des bactéries. Ed. Doin. p. 65-149.
- [129] **Tine R.S., 2007 .**Qualité microbiologique des repas servis au niveau des cases des tout petits.Thèse : Méd. Vét. : Dakar.17.
- [152]**Hygiene alliance.1994.** Données de base sur les risques. Paris, 1^{re} éd. Clermont Fernand .
- [130] **Cisse M., 1991 .**Hygiène et qualité bactériologique des hors-d'œuvre en restauration collective . cas des restaurants du Centres des Œuvres Universitaires de Dakar (C.O.U.D.)Thèse : Méd. Vèt., 30
- [131] **Dada C O., 2005.**Maitrise de l'hygiène et de son interprétation par le dénombrement d'*Escherichia coli* dans les repas servis par Dakar CateringThèse : Méd. Vèt. : Dakar ; 09
- [132] **FORfI C.-**Présentation d'un contrat pourla promotion de l'hygiène dans les restaurantsde commerce.Th. Méd. Vèt., Toulouse, 1987,n080.
- [133] **I.C.M.S.E Toronto ,1978.** Microorganisms in food 1 : Their significance and methods of enumeration. Paris, 2^e éd. Tec & Doc Lavoisier Apria. 434 p.

- [134] **Guellouz H.**, Contamination des denrées alimentaires par les *Staphylococcus aureus* dans la ville de Tunis. Tunis, Microb. Hyg. Alimna spécial, p 75.
- [135] **NdourS ., 2008** .Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des repas chauds (plats cuisinés à l'avance) servis par Dakar Catering de 2006 à 2007Mémoire .
- [136] **Catsaras M. , Grebot D., 1984** .multiplication des salmonelles dans la viande hachée bull. Acad. Vet., France, 57 : 501-502.

Résumé

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), généralement définies comme « l'apparition d'au moins deux cas similaires d'une symptomatologie, en général gastro intestinale, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire » sont la conséquence de la consommation d'une denrée alimentaire contaminée, le plus souvent, par un agent pathogène biologique : bactérie, virus voire parasite.

Dans nos sociétés modernes, l'idée que l'alimentation puisse être vectrice de maladies est devenue inacceptable. Les TIAC constituent donc un réel enjeu de santé publique.

L'objectif du travail est de mettre en évidence l'origine des TIAC dans les fast-foods de la ville de Khenchela par la collection des échantillons et leur analyse au niveau de laboratoire.

Les résultats obtenus ont montré que le plat le plus contaminé c'est le plat de Chawarma, l'endroit le plus contaminé c'est le site 1 parce que la charge des coliformes qui sont dangereux est très élevés 29.10^4 UFC/ml tandis que la charge des FTAM est élevé dans le site 2 à 127.10^2 UFC/ml.

« Ça reste toujours efficace de prévenir c'est mieux que guérir »

Mots-clés : TAIC. Les bactéries pathogènes, Sécurité alimentaire, fast-food, hygiène, Contamination.

Abstract

Collective food poisoning (TIAC), generally defined as "The appearance of at least two similar cases of symptomatology, usually gastrointestinal which can be related to the same food origin "are the consequence of the consumption of a contaminated food, most often by a biological pathogen: bacterium, virus or parasite. In modern societies, the idea that food can be a vector of disease has become unacceptable. TIAC is therefore a real public health issue.

The aim of the work is to highlight the origin of TIAC in fast foods of Khenchela by collecting samples and analyzing them at the level of laboratory.

The results obtained showed that the most contaminated dish is the dish of Chawarma, the most contaminated place is site 1 because the coliform load which are dangerous is very high 29.10^4 CFU/ ml while the FTAM load is high in the site 2 to 127.10^2 CFU / ml.

"It's still effective to prevent it's better than cure"

Keywords: TAIC. Pathogenic bacteria, food safety, fast food, hygiene, Contamination.

ملخص

التسمم الغذائي الجماعي (TIAC) ، يعرف بصفة عامة "ظهور حالتين متشابهتين على الأقل من الأعراض ، عادة ما تكون معدية معوية والتي يمكن أن تكون ذات صلة بنفس مصدر الغذاء "هيننتيجة لاستهلاك الغذاء الملوث ، في معظم الأحيان من خلال الجراثيم البيولوجية المتنوعة: البكتيريا أو الفيروسات أو الطفيليات.

في المجتمعات الحديثة ، فكرة أن الغذاء يمكن أن يكون ناقلاً للأمراض أصبح غير مقبول. وبالتالي فإن التسمم الغذائي هو قضية صحة عامة حقيقية.

الهدف من هذا العمل هو تسليط الضوء على أصل التسمم الغذائي في الأطعمة السريعة من مدينة خنشلة عن طريق جمع العينات وتحليلها على مستوى المختبر.

أظهرت النتائج أن الطبق الأكثر تلوثاً هو طبق الشاورما ، المكان الأكثر تلوثاً هو الموقع 1 بسبب بكتيريا المتواجدة في القولون و هي بنسبة 29.10^4 CFU/ml اما في ما يخص البكتيريا الهوائية المعتدلة الحرارة FTAM نجدها بنسبة عالية في الموقع 2 إلى 127.10 CFU/ml²

"الوقاية أفضل من العلاج"

الكلمات الدالة : التسمم الغذائي، البكتيريا المسببة للأمراض ، سلامة الأغذية ، الوجبات السريعة ، النظافة ، التلوث.

Annexe 1: Coloration de Gram

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de cristal; il est ensuite rincé rapidement à l'eau distillée, traité pendant une minute par une solution de Lugol, et de nouveau rincé rapidement à l'eau distillée. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95%. Il s'agit de l'étape critique: la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant 15 à 30 secondes seulement jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau distillée.

À ce stade les cellules Gram- seront incolores, les cellules Gram+ violettes. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 10 à 30 secondes à la fuchine(ou safranine) pour colorer les cellules Gram- présentes. Après un bref rinçage à l'eau distillée, on sèche le frottis au buvard ou au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen et on l'examine à l'objectif (X 100) à immersion.

Avec cette coloration double, les bactéries « Gram-positif » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram-négatif » sont colorées en rose ou en rouge (Delarras, 2007).



Figure : le principe de coloration de Gram ,les colorants utilisés , les lames obtenues.

Annexe 2 : La Composition des milieux de culture

Gélose Chapman

Le milieu de Chapman est utilisé pour l'isolement des Staphylocoques pathogènes qui donnent des colonies jaunes par fermentation du mannitol et virage du rouge de phénol. Sa forte teneur en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des autres espèces.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée. pH final à 25°C : $7,4 \pm 0,2$

| | |
|----------------------------------|----------------|
| -Peptones | 10,00 g |
| -Extrait de viande de boeuf..... | 1,00 g |
| -D-mannitol | 10,00 g |
| -Chlorure de sodium..... | 75,00 g |
| -Rouge de phénol | 0,025 g |
| -Agar..... | 15,00 g |

Gélose *Salmonella-Shigella* (S.S.)

La gélose *Salmonella-Shigella* (S.S.) est utilisée pour l'isolement sélectif des *Salmonella* et des *Shigella* dans les prélèvements cliniques (selles) et les denrées alimentaires.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

| | |
|----------------------------------|----------------|
| Protéose peptone..... | 5,00 |
| Citrate ferrique ammoniacal..... | 1,00 |
| Extrait de viande de boeuf..... | 5,00 |
| Thiosulfate de sodium..... | 8,50 |
| Lactose..... | 10,00 |
| Rouge neutre..... | 0,025 |
| Sels biliaires N° 3..... | 8,50 |
| Vert brillant..... | 0,00033 |
| Citrate de sodium..... | 8,50 |
| Agar..... | 13,50 |

pH final à 25°C : $7,0 \pm 0,2$

Le milieu en flacons ou boîtes se conserve à l'obscurité entre 15 et 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Milieu VRBL

Milieu de culture déshydraté, utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Gélose lactosée ay cristal violet. au rouge neytre et à la bile IV.R.B.L.)

| | |
|-----------------------------------|--------------|
| Peptone | 7,0 |
| Extrait de levure | 3,0 |
| Chlorure de sodium | 5,0 |
| Lactose | 10,0 |
| Citrate d'ammonium ferrique | 0,3 |
| Sels biliaires | 1,2 |
| Rouge neutre | 0,03 |
| Cristal violet. | 0,002 |
| Agar. | 12,0 |

pH final : **7,4**Dissoudre de **40g** dans un litre d'eau distillée.

Potato dextrose agar (PDA) media

| | |
|----------------------|---------------|
| Potato (peeled)..... | 200.0g |
| Dextrose..... | 20.0g |
| Agar..... | 15.0g |
| Eau distillée | 1000ml |

pH finale (25 °C) 5.6 ± 2.5 . Stérilisation à 121°C/15min.

Milieu Gélose nutritive

| | |
|--------------------------|-----------|
| Extrait de viande | 1,0 g/l |
| Extrait de levure | 2.5 g/l |
| Peptone | 5,0 g/l |
| Chlorure de sodium | 5,0 g/l |
| Agar | 15, 0 g/l |
| pH | 7, 0 |

Annexe 4 : Matériels de laboratoire

| | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |  |  |
| <p>Un agitateur vortex</p> | <p>Bec bunsen.</p> | <p>Un autoclave</p> | <p>Un compteur des colonies</p> |
|  |  |  |  |
| <p>Etuve électrique.</p> | <p>Bain marie.</p> | <p>Microscope optique.</p> | <p>Balance</p> |

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

إِقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ ۝ خَلَقَ الْإِنْسَانَ
مِنْ عَلَقٍ ۝ إِقْرَأْ وَرَبُّكَ الْأَكْرَمُ ۝ الَّذِي
عَلَّمَ بِالْقَلَمِ ۝ عَلَّمَ الْإِنْسَانَ مَا لَمْ يَعْلَمْ ۝
صدق الله العظيم



Introduction

Chapitre I.

Etude

Bibliographique

*« Chercher n'est pas une chose et trouver une autre, mais le gain
de la recherche, c'est la recherche même »*

(Saint Grégoire de Nysse)



Chapitre II.

Matériel et Méthodes



Chapitre III.

Résultats et Discussion



Conclusion



Références bibliographiques

A decorative border consisting of a repeating pattern of stylized floral motifs, possibly resembling sunflowers or similar flowers, arranged in a continuous line around the perimeter of the page. The motifs are rendered in black and white.

Annexes