



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

Référence ..... / .....

# MÉMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Microbiologie Fondamentale et Appliquée

---

Présenté et soutenu par :  
**Benchouia Meriem / Kahoul Djihane**

Le : mercredi 27 juin 2018

## **Etude comparative de la qualité bactériologique et hygiénique d'un plat cuisine vendu par deux restaurations collectives commerciaux au niveau de Biskra**

---

### Jury :

M.	<b>BENKADDOUR Bachir</b>	MAB	Université de Biskra	Président
Mme.	<b>MOHAMMEDI Kenza</b>	MAB	Université de Biskra	Rapporteur
Mme.	<b>BOUGUENOUNE Widad</b>	MAB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2017 - 2018

# Remerciements

*En tout premier lieu, nous remercions le bon Dieu, tout puissant, de nous avoir donné la force pour survivre, ainsi que le courage pour dépasser toutes les difficultés.*

*Nous aimerons tout d'abord remercier notre encadrant Mme « **MOHAMMEDI Kenza** » pour avoir accepté de diriger ce travail. Son soutien, sa clairvoyance et ses compétences nous ont été d'une aide inestimable. Sa disponibilité, sa gentillesse et ses précieuses directives tout au long de la réalisation de ce travail nous ont beaucoup impressionnées.*

*Qu'elle puisse trouver dans ces mots le témoignage de nos sincères gratitude et de notre profond respect.*

*Nos remerciements les plus chaleureux vont à tous les ingénieurs de laboratoire de biologie « **ZOUZOU Oussama, DRIDI Walide , BAIA Abd elkader** » pour leurs encouragements et pour l'ambiance agréable et en particulier à « **SOLTANI Alima** » pour sa présence dans les moments difficiles et grâce à qui nous avons passée d'excellents moments.*

*Nous tenons à remercier également **GUERFI Walid, DALOUL Mohamed elhadi***

*Notre gratitude s'adresse encore aux membres de jury à qui nous présentons nos respects les plus profonds.*

*Afin de n'oublier personne, nos vifs remerciements s'adressent à tous ceux qui nous ont aidés à réaliser de ce modeste mémoire.*

# Dédicace

## **À nos parents**

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que nous avons toujours eu pour vous.*

*Merci de nous avoir fait confiance, d'avoir été notre pilier, dans les bons comme dans les mauvais moments et d'avoir tout fait pour nos permettre de réaliser notre rêve.*

*Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour notre éducation et notre formation.*

## **À nos grand-mères**

*Vous représentez pour nous le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de nous encourager et de prier pour nous.*

## **À nos frères, nos belles-sœurs**

*Nos anges gardien et nos fidèles compagnons dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse. Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que nous portons pour vous.*

## **Au reste de notre belles et grandes familles « Kahoul, Benchouia, Chikhi, Bazini »**

*Par leurs présences dans tous nos moments par leur soutien moral et leurs belles surprises sucrées.*

## **À nos amis de toujours « Saffa Smail, Dhoha Femmam, Ilham Laamari »**

*Pour tous les moments inoubliables passés au cours de ces cinq années qui n'ont pas toujours été faciles. On y est arrivé ! Merci à toutes et à bientôt !*

## **À nos amis fidèles**

*En particulier « Fatima Benadi, Djamel Djenina, Fahde Guendouz, Soufiane Ben saleh, Lamia Bekirine, Nesrine Chikhi, Samra Chikhi, Houcine Oucheriah, Nadia Hassina, Meriem Bouhachi, Nouioua Marwa et Soumia, Yassine Abd elhak Nafti, Abd Elhak Rabadj, Abd El raouf Otmani »*

*Nous ne pouvons trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer nos affections et nos pensées, vous êtes pour nous des frères, sœurs et des amis sur qui nous pourrions compter.*

## **À toute l'équipe d'Ombres des anges**

*Pour l'amitié qui nous unit et les souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble.*



*meriem & djihane*

# Table des matières

## Sommaire

Remerciements.....	
Dédicace .....	
Table des matières.....	
Liste des tableaux .....	
Liste des figures .....	
Liste des abréviations .....	
Introduction générale .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre 1: Généralités sur la restauration collective

1.1. Définition de la restauration collective.....	2
1.2. Classification .....	2
1.2.1. Classification selon la vocation .....	2
1.2.1.1. Restauration collective à caractère commercial .....	2
1.2.1.2. Restauration collective à caractère social.....	2
1.2.2. Classification selon le mode de gestion .....	2
2.2.2.1. Restauration collective intégrée .....	2
2.2.2.2. Restauration collective concédée .....	3
1.2.3. Classification selon lieux de préparation et de distribution des repas .....	3
1.2.3.1. Restauration directe.....	3
1.2.3.2. Restauration différée .....	3
a. Restauration différée en liaison chaude.....	3
b. Restauration différée en liaison froide .....	3
c. Variantes.....	4
1.3. Importance de la restauration collective .....	4
1.3.1. Importance hygiénique.....	4
1.3.2. Importance sociale .....	4
1.3.3. Importance économique.....	4

### Chapitre 2: Microbiologie des plats cuisinés

2.1. Présentation des plats cuisinés.....	5
2.1.1. Définition des plats cuisinés .....	5

---

2.1.2. Groupe des plats cuisinés.....	5
2.1.3. Qualités des plats cuisinés.....	6
2.1.3.1. Qualité sanitaire.....	6
2.1.3.2. Qualité organoleptique .....	6
2.2. Devenir et rôle des microorganismes contaminant les aliments.....	7
2.2.1. Caractères physicochimiques.....	7
2.2.2. Agent d'altération .....	8
2.2.3. Les germes indicateurs d'hygiène.....	8
2.2.3.1. Flore mésophile aérobie totale à 30°C.....	8
2.2.3.2. Coliformes .....	9
2.3. Toxi-infection alimentaire collective.....	9
2.3.1. Toxi-infections alimentaire .....	9
2.3.2. Toxi-infection alimentaire collective .....	9
2.3.2.1. Définition .....	9
2.3.2.2. Physiopathologie .....	10
2.4. Principaux germes pathogènes responsables des TIAC .....	10
2.4.1. <i>Salmonella</i> .....	10
2.4.2. Staphylocoques pathogènes .....	11
2.4.3. <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i> .....	11
2.4.3.1. <i>Clostridium perfringens</i> .....	12
2.4.3.2. <i>Clostridium botulinum</i> .....	12

**PARTIE EXPERIMENTALE**

Chapitre 3: Matériel et Méthodes

1. Objectif du travail.....	13
2. Matériel et milieux.....	13
2.1 Matériel .....	13
2.2 Milieu de culture et d'enrichissement.....	14
2.3 Produits et réactifs.....	14
3. Méthodes .....	15
3.1. Champ de l'enquête .....	15
3.2. Prélèvement des échantillons .....	15
3.3. Analyses bactériologiques.....	16
3.3.1. Recherche et dénombrement des germes .....	17

3.3.2. Protocole d'analyse .....	17
3.3.2.1. Préparation de la solution mère .....	17
3.3.2.2. Préparation des dilutions décimales .....	18
3.3.2.3. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale à 30°C (ISO 4833).....	18
3.3.2.4. Dénombrement des coliformes thermotolérants ou coliformes fécaux.....	19
3.3.2.5. Recherche et dénombrement des staphylocoques présumés pathogènes .....	20
( <i>Staphylococcus aureus</i> ) .....	20
3.3.2.6. Recherche des spores de <i>Clostridium sulfito-réducteur</i> (ASR) à 46°C .....	22
3.3.2.7. Recherche et dénombrement des Salmonelles .....	23
3.3.3. Expression des résultats .....	27
3.3.3.1. Méthode d'Interprétation des résultats d'analyse.....	27
<b>Chapitre 4: Résultats et Discussion</b>	
1. Résultats obtenus après les analyses bactériologiques .....	28
1.1 Flore aérobie mésophile totale .....	28
1.2. Coliformes fécaux .....	29
1.3. Staphylocoques présumés pathogènes .....	30
1.3.1. Caractéristiques microscopiques .....	31
1.3.2. Résultat des tests de confirmation .....	31
1.4. Spores de <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i> .....	33
1.5. Les salmonelles .....	33
<input type="checkbox"/> Coloration de Gram.....	35
<input type="checkbox"/> Résultat des tests biochimiques pour la souche 02. ....	35
<input type="checkbox"/> Résultats des API20 <sup>E</sup> la souche 01 et 03 .....	39
2. Les résultats de dénombrement .....	41
2.1. Flore aérobie mésophile totale .....	42
2.2. Coliformes fécaux .....	44
2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	45
2.4. <i>Clostridium Sulfito-Réducteur</i> .....	46
2.5. Salmonelles .....	47
3. Niveau d'hygiène suivant le type de germe.....	47
3.1. Niveau d'hygiène des Flore mésophile aérobie totale .....	47
3.2. Niveau de contamination des coliformes fécaux .....	48
3.3. Niveau de contamination des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	48

3.4. Niveau de contamination des <i>Clostridium Sulfito-Réducteur</i> .....	48
3.5. Niveau de contamination des salmonelles .....	49
4. Discussion générale .....	49
Conclusion .....	51
Recommandation.....	53
Bibliographie.....	
Annexes.....	
Résumés .....	

## Liste des Tableaux

Tableau 1: Résultat des tests biochimiques pour la souche 02 isolée. ....	39
Tableau 2: Résultats de dénombrement des échantillons du plat cuisiné (valeurs en UFC/g). .....	41
Tableau 3: Niveau de contamination globale des plats cuisinés (de lieu 01 et lieu 02).....	49
Tableau 4: Résultats de la lecture de la galerie API 20 <sup>E</sup> . ....	60



---

## Liste des Figures

Figure 1: Les deux types des plats cuisinés prélevés. ....	16
Figure 2: Préparation des solutions mères.....	17
Figure 3: Préparation des dilutions décimales.....	18
Figure 4: Dilutions décimales préparés. ....	18
Figure 5: Étapes de dénombrement de la FMAT à 30°C. ....	19
Figure 6: Étapes de dénombrement des coliformes thermotolérants. ....	20
Figure 7: Étapes de dénombrement des Staphylocoques présumés pathogènes. ....	21
Figure 8: Tests d'identification (catalase et coagulase). ....	22
Figure 9: Étapes de dénombrement des ASR (Anaérobies Sulfite-Réducteurs).....	23
Figure 10: Schéma représente l'étape de prés-enrichissement et d'enrichissement. ....	24
Figure 11: Étapes de recherche des salmonelles. ....	24
Figure 12: Préparation de la galerie API 20 <sup>E</sup> . ....	25
Figure 13: Mise en évidence de la flore aérobie mésophile sur milieu PCA. ....	28
Figure 14: Mise en évidence la présence des coliformes fécaux sur DCL.....	29
Figure 15: Mise en évidence la présence des <i>Staphylococcus aureus</i> sur gélose BP. ....	30
Figure 16: Aspect microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> (coloration de Gram Gx100)....	31
Figure 17: Mise en évidence du catalase.....	32
Figure 18 : Test de coagulase pour la souche <i>S.aureus</i> réalisé sur plasma du lapin. ....	32
Figure 19: Milieu viande foie pour la recherche de <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i> (résultat négatif). ....	33
Figure 20: Mise en évidence la présence des salmonelles dans le milieu SS. ....	34
Figure 21: Aspect microscopique des souches isolées de milieu SS (coloration de Gram Gx100).....	35
Figure 22: Aspect de la souche typique isolée de milieu SS sur milieu TSI.....	35
Figure 23: Aspect de la souche typique isolée de milieu SS sur milieu Kligler hajna.....	36
Figure 24: Mise en évidence de l'uréase. ....	36
Figure 25: Mise en évidence de la TDA. ....	37
Figure 26: Mise en évidence de la production d'indole.....	37
Figure 27: Aspect de la souche typique isolée de milieu SS sur milieu Citrate de Simmons..	38
Figure 28: Aspect de la souche typique isolée de milieu SS sur milieu mannitol-mobilité....	38

Figure 29: Résultats de la galerie API 20 <sup>E</sup> pour la souche 01.....	39
Figure 30: Résultats de la galerie API 20 <sup>E</sup> pour la souche 03.....	40
Figure 31: Comparaison entre les résultats de dénombrement des FTAM entre le plat contenant le chawarma grillé et le plat contenant le chawarma cuit sous plaque chauffante. .	42
Figure 32: Comparaison entre les résultats de dénombrement des Coliformes fécaux entre le plat cuisiné contenant le chawarma grillé et le plat cuisiné contenant le chawarma cuit sous plaque chauffante. ....	44
Figure 33: Comparaison entre les résultats de dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i> entre le plat contenant le chawarma grillé et le plat contenant le chawarma cuit sous plaque chauffante. ....	45
Figure 34: Comparaison entre les résultats de dénombrement des <i>Clostridium Sulfito-Réducteur</i> entre le plats contenant le chawarma grille et le plat contenant le chawarma cuit sous plaque chauffante. ....	46
Figure 35: Comparaison entre les résultats de dénombrement des salmonelles entre le plat cuisiné contenant le chawarma grillé et le plat cuisiné contenant le chawarma cuit sous plaque chauffante. ....	47
Figure 36: Préparation des milieux des cultures. ....	59

## Liste des abréviations

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**ASR** : Anaérobies Sulfito-Réducteurs

**a<sub>w</sub>** : (Activity of water) ; Activité de l'eau

**BP** : Baird-Parker.

**DAO** : Denrées d'origine animale

**DCL** : Désoxycholate Lactose Agar

**E.coli** : Escherichia coli

**EPT** : Eau Peptonée Tamponnée

**FAO** : Food and Agriculture Organization of the united nations

**FMAT** : Flore Mésophile Aérobie Totale

**ISO** : Organisation Internationale de normalisation

**JORA** : Journal officiel de la République algérienne

**NF** : Norme Française

**NR** : Nitrate Réductase

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PCA** : Plate Count Aga

**pH** : Potentiel d'hydrogène

**SPP** : Staphylocoques Présumés Pathogènes

**SS** : gélose Salmonella-Shigella

**TDA** : Tryptophane désaminase

**TIAC** : Toxi-infection Alimentaire Collective, : Toxi-infection Alimentaire Collective

**TSI** : Triple Sugar Iron

**UFC** : Unité Formant Colonie

**VF** : gélose Viande de Foie

**VP** : Voges Proskauer

# **Introduction**

De nos jours, au cœur de notre société, la restauration collective est l'un des secteurs clés de l'alimentation, elle se définit comme la préparation et le service à une partie importante de la population et aux visiteurs (touriste, homme d'affaire...).

Autant que la restauration collective joue ce rôle majeur, alors il est nécessairement que ces établissements doivent être organisés pour préparer les repas dans les meilleures conditions d'hygiène possible, car ce sont des facteurs essentiels et acteurs-clé de la restauration collective pour assurer la santé publique.

Si l'hygiène est insuffisamment appliquée ou n'est pas du tout appliquée, il y a un risque pathologique pour les convives. En effet, les microbes et d'autres agents non microbiens présents dans les denrées alimentaires peuvent être à l'origine des maladies telles que : les toxi-infections et intoxications alimentaires et les maladies infectieuses d'origine alimentaire. Toutes ces manifestations sont regroupées sous le terme générique officiel de toxi-infection alimentaire collective (TIAC) (Mfoaponnjueya, 2006).

Les contaminations croisées sont à l'origine de nombreuses TIAC (Toxi-infection Alimentaire Collective) correspond à un transfert indirect de contaminant dans un aliment à partir d'un support contaminé (par un autre aliment ou un autre support), leur risque est accru lorsque les micro-organismes se propagent des aliments crus aux aliments prêts à être consommés.

En Algérie, les données actuelles sur la restauration collective à Biskra ne donnent pas des informations précises sur la qualité des services dans ce secteur.

Dans ce cadre, le but de la présente étude est d'évaluer les risques sanitaires pour contribuer à la connaissance de la qualité bactériologique des plats cuisinés servis au niveau de deux restaurations collectives privées, et d'apprécier le niveau de contamination des plats suivant les germes par le dénombrement et l'identification, ainsi comparer la qualité hygiénique et bactériologique entre le plat cuisiné de Chawarma grillé et plat cuisiné de Chawarma cuit sous plaque chauffante avec les normes microbiologiques de JORA.

Dans ce contexte, aussi cette étude est faite afin de parvenir à une amélioration de la qualité des repas pour protéger le consommateur algérien contre des toxi-infections alimentaires.

# **Partie**

# **Bibliographique**

# **Chapitre 1 :**

# **Généralité sur la**

# **restauration collective**

## **1.1. Définition de la restauration collective**

La restauration se définit comme la prise de repas en commun par des individus. Ces repas sont généralement préparés en grandes quantités et distribués par d'autres personnes dans un cadre autre que familial. Elle peut être à but lucratif (cas des hôtels, restaurants privés, etc.) ou à caractère social (hôpitaux, prisons, restaurants universitaires, restaurants militaires...) (Soumare, 1992).

Selon la législation française, les restaurants collectifs sont des établissements publics ou privés assurant un service de restauration à titre gracieux ou onéreux et dont au moins une partie de la clientèle est constituée d'une collectivité de consommateurs réguliers (Balde, 2002).

## **1.2. Classification**

### **1.2.1. Classification selon la vocation**

#### **1.2.1.1. Restauration collective à caractère commercial**

Elle est à but lucratif, les repas sont entièrement vendus au public ou collectivité ouverte. On distingue deux catégories :

- Les restaurants traditionnels
- Les restaurants modernes (hôtels, bar restaurants, fast-food, pizzeria...) (Sally S, 2009).

#### **1.2.1.2. Restauration collective à caractère social**

Les repas sont gratuits ou subventionnés. La restauration sociale se caractérise par le type de clientèle servie. Il s'agit des collectivités telles que les:

- Établissements d'enseignement : scolaire, universitaire
- Établissements de travail : administration, entreprises
- Établissements de santé et de repos : hôpitaux, maisons de retraite
- Transports « Catering » : trains, avions, bateaux
- Établissements pénitentiaires : prisons (Balde, 2002).

## **1.2.2. Classification selon le mode de gestion**

### **2.2.2.1. Restauration collective intégrée**

Elle est entièrement assurée par la collectivité qui peut elle-même, réaliser l'activité culinaire et le service de distribution (Sally S, 2009).



### **2.2.2.2. Restauration collective concédée**

La collectivité cède à l'usage de la société le droit d'assurer entièrement ou partiellement le service de restauration (Mlle G, 2013).

## **1.2.3. Classification selon lieux de préparation et de distribution des repas**

### **1.2.3.1. Restauration directe**

Les plats sont consommés sans délai, à proximité immédiate du lieu où ils sont préparés. Le transport des préparations culinaires entre le lieu de production (cuisine) et les lieux de consommation ne nécessite pas de matériels spécifiques (Ph Verger et *al*, 2005).

### **1.2.3.2. Restauration différée**

Il existe une discontinuité dans l'espace et/ou dans le temps entre la préparation des plats et leur consommation. Des matériaux de transport ou de stockage spécifiques sont obligatoirement utilisés (conteneurs isothermes, chauffants ou réfrigérants). Depuis quelques années, l'apparition de matériel moderne très performant a modifié de façon considérable les conditions de travail dans ce mode de restauration. Concrètement dans ce cas, nous appellerons « cuisine centrale » le site de production où les repas sont préparés et à partir desquels ils sont livrés aux sites où ils seront consommés, que nous appellerons « unités satellites ». Le transport des repas entre cuisine centrale et unités satellites peut être fait en « liaison chaude » ou en « liaison froide » (Ph Verger et *al*, 2005).

#### **a. Restauration différée en liaison chaude**

La « liaison » c'est-à-dire l'intervalle de temps entre le moment de la fin des préparations (plats cuisinés) jusqu'à celui de leur service au consommateur, a toujours représenté un sérieux problème en cuisine collective (Chiessi, 2005).

Les aliments sont conditionnés dès la fin de la cuisson et conservés à une température à cœur supérieure à +63 °C jusqu'au moment de leur consommation, qui doit intervenir le jour même de la cuisson. Ce type de liaison ne peut être utilisé que pour les plats servis chaud, et uniquement en cas de discontinuité dans l'espace entre préparation et consommation (Ph Verger et *al*, 2005).

#### **b. Restauration différée en liaison froide**

Dès la fin de leur cuisson ou préparation, les aliments sont conditionnés, refroidis, stockés et transportés sous régime du froid positif (liaison froide réfrigérée) ou du froid négatif (liaison froide surgelée, beaucoup plus rare) (Ph Verger et *al*, 2005).

Les plats à servir chauds sont remis en température immédiatement avant distribution au consommateur final.

Les plats froids (hors d'œuvres, fromages, desserts) doivent être transportés à une température maximale de +3 °C (Ph Verger et *al*, 2005).

### **c. Variantes**

De nombreuses variantes et combinaisons de ces formules peuvent exister comme par exemple :

- Une cuisine centrale élabore des bases culinaires qui sont retravaillées dans des cuisines relais avant distribution au consommateur final.
- Une cuisine centrale ne fournit que les plats destinés à être servis chauds à des cuisines terminales où ces plats sont remis en température avant d'être servis, et où les préparations froides (hors d'œuvres, desserts) sont assurées (Ph Verger et *al*, 2005).

## **1.3. Importance de la restauration collective**

### **1.3.1. Importance hygiénique**

Elle est immense du fait des risques élevés de maladies d'origine alimentaire (toxi-infections, intoxications et intoxications), mais également des risques d'altération de denrées (Diallo, 2010).

### **1.3.2. Importance sociale**

La restauration collective concourt à la satisfaction des besoins alimentaires de l'homme des grandes villes. Elle permet également la lutte contre le chômage à travers la création d'emplois (Sene B, 1996).

### **1.3.3. Importance économique**

La restauration collective constitue :

- Un marché important pour les opérateurs du secteur agroalimentaire
- Une clientèle considérable en ville
- Un investissement à risque dû aux pertes liées au caractère facilement périssable des denrées alimentaires et aux aléas du marché, quant à la disponibilité des produits (baisse de production agricole) (Gomsu, 2005).

# **Chapitre 2 :**

# **Microbiologie des plats**

# **cuisinés**

## 2.1. Présentation des plats cuisinés

### 2.1.1. Définition des plats cuisinés

Les plats cuisinés se présentent souvent comme des produits complexes du point de vue microbiologique. L'obtention de produit de bonne qualité bactériologique nécessite une fabrication dans des conditions très strictes, organisée selon un plan de travail très rationnel, dans des locaux convenables, par un personnel compétent et informés (Bourgeois et Leveau, 1991).

Ils sont usuellement constitués de légume et de viande ou charcuterie (ou poisson), éventuellement accompagnés d'une sauce. Ils ont connu un très important développement et d'innombrable formule de fabrication et de composition sont aujourd'hui sur le marché. L'étiquetage renseigne sur leur composition et leur mode de consommation (Durand P, 1999).

Les plats cuisinés sont très divers. On regroupe sous cette appellation des plats à consommer froid ou après avoir été réchauffés. Ils peuvent être vendus sous forme de produits frais réfrigérés, de produits surgelés, semi conserves, ou encore de produits appertisés (Bourgeois et Leveau, 1991).

### 2.1.2. Groupe des plats cuisinés

Parmi les plats cuisinés on distingue : les plats à base de poisson ou de viande épicés et parfois associés à des légumes.

De manière générale suivant leur présentation les plats cuisinés regroupent :

- Les plats cuisinés chauds : maintenir à une température d'au moins 65 °C depuis la cuisson jusqu'à la consommation. « Les plats cuisinés chauds doivent être consommés le jour même de la cuisson » (Rozier et coll, 1980).
- Les plats cuisinés froids : refroidir rapidement à une température de 10 °C à cœur en moins de 2 heures après la fin de la cuisson (Rozier et *al*, 1985).
- Les plats surgelés : traités par abaissement rapide de température à -40 °C pour bloquer l'activité microbienne de longue conservation à -18 °C, on peut citer : légume prêt à l'emploi, plat cuisiné à base de poisson, de viande, de sauces diverses, les pâtes cuisinées surgelées (Rozier et *al*, 1985).

Les plats cuisinés sont sujets à l'action de microorganismes (Stephan, 2007). Ces microorganismes peuvent être naturellement présents dans les denrées alimentaires sans présenter aucun danger. En revanche, leur multiplication de manière anormale à des concentrations ne garantissant plus l'innocuité des denrées peut être occasionnée par des

facteurs environnementales extérieur : rupture de la chaîne chaude ou du froid, non-respect des règles d'hygiène élémentaire, cuisson insuffisante, etc (Gérin et al, 2003).

### **2.1.3. Qualités des plats cuisinés**

Bien que encore que pour d'autre produit alimentaire, deux qualités importantes sont à considérer.

#### **2.1.3.1. Qualité sanitaire**

Les plats cuisinés peuvent présenter des risques au niveau de la consommation. En effet, presque tous les microorganismes agents d'intoxication alimentaire sont susceptibles d'y être rencontrés.

Les plats cuisinés apparaissent comme des catégories d'aliment les plus fréquemment incriminés dans les cas d'intoxications alimentaires recensés (en deuxième position après les produits carnés).

Les cas d'intoxication liées aux plats cuisinés doivent être pris très au sérieux, cas de stade artisanale cette production est passée au stade industriel. Ils sont consommés d'une façon de plus en plus collective et les facteurs pouvant aboutir à des intoxications alimentaires graves sont ainsi rassemblés (Bourgeois et Leveau, 1991).

#### **2.1.3.2. Qualité organoleptique**

On exige du produit une présentation attrayante. Celle-ci doit être conservée pendant le délai réglementaire de mise en vente. À côté de la protection sanitaire, il est donc important de maintenir le produit dans un état organoleptique satisfaisant pendant toute la durée de conservation. Celle-ci est réglementairement de six jours maximums à température inférieure à 3° C.

Certain groupe des microorganismes sont capable de se multiplier pendant ce délai de mise en vente et de faire apparaître des altérations de l'aspect, du goût ou de l'odeur du produit.

Il s'agit principalement de bactéries psychrotrophes (*Pseudomonas*), de levures et de moisissures (Bourgeois et Leveau, 1991).

## 2.2. Devenir et rôle des microorganismes contaminant les aliments

### 2.2.1. Caractères physicochimiques

Le développement des microorganismes : la contamination seule suffit rarement à provoquer un accident sanitaire ou une dégradation de la qualité organoleptique du produit.

Elle doit généralement être suivie d'une phase de multiplication bactérienne qui dépend de plusieurs facteurs (Leclerc, 2003).

- **Température**

La sensibilité des microorganismes à la température en fait un aspect clé de leur développement. Quand la température c'est un facteur sensible sur lequel le professionnel peut facilement agir. Ce facteur est en effet très utilisé pour réguler le développement des microorganismes (Mcswane et al, 2003). Selon les espèces bactériennes concernées, la réfrigération permet de diminuer plus ou moins fortement la multiplication bactérienne, ce mode de conservation permet aussi de garder les aliments pendant plusieurs jours. Dans le cas de passage répété à des températures successivement froides et chaudes, le risque de sélection de la bactérie pathogène résistante au froid, comme c'est le cas pour *Listeria monocytogenes*, est grand.

Enfin, le traitement thermique, lorsqu'il est possible, permet de détruire les microorganismes présents sur l'aliment. Cela nécessite d'appliquer un couple le temps-température efficace (Carbonel, 2007).

- **Durée de conservation**

Le risque lié à la température est celui d'une accélération de la multiplication des bactéries dangereuses. La baisse de température ne permet pas de stopper la multiplication bactérienne mais seulement de la ralentir (pour des températures supérieures à -18°C). Aussi, ce risque doit toujours être considéré avec un facteur temps : le temps d'exposition à une température donné (Carbonel, 2007).

- **pH**

La majorité des bactéries se développe dans des milieux dont le pH compris entre (4.5 à 9). Pour ces bactéries, le pH optimal est proche de la neutralité (entre 6.5 et 7.5). *Clostridium* ou *Pseudomonas* sont sensibles au pH. Salmonelles, *E. coli*, et les staphylocoques y sont peu sensibles (Mouloudi F, 2013).

- **Activité d'eau**

L'eau est essentielle à la survie et au développement de tous les microorganismes. Dans les aliments, une partie est dite « libre » c'est-à-dire qu'elle est disponible pour les microorganismes. L'autre partie est liée aux constituants des aliments et ne peut être utilisée. Chaque microorganisme a plus ou moins de tolérance vis-à-vis à la proportion d'eau liées. Pour évaluer cette tolérance, on se réfère à l' $a_w$ , ou activité de l'eau. Dans la majorité des produits sensibles (viande, lait, fruit, légumes), l' $a_w$  convient au développement bactérien et n'apparaît donc pas comme un obstacle (Vallerian, 1999).

- **Oxygène**

Les réactions d'oxydoréduction règlent le métabolisme des microorganismes. Dans ce contexte, l'oxygène a un rôle prépondérant. Ce facteur concerne notamment les conditionnements de 5<sup>ème</sup> gamme, sous vide d'air. Ces conditionnements sont assez peu utilisés en restauration rapide, sauf pour les plats préparés (Carbonel, 2007).

### **2.2.2. Agent d'altération**

Les altérations sont des modifications indésirables que subissent particulièrement les denrées d'origine animale (DAO). Elles ont pour conséquence une dépréciation des produits et peuvent constituer un danger pour le consommateur.

Plusieurs agents sont en cause parmi lesquels :

- Les agents chimiques (oxydation des pigments et graisses)
- Les agents biochimiques (enzymes tissulaires)
- Les agents physiques (déshydratation superficielle ou profonde)

Les agents microbiens par leur prolifération et par les produits de leur catabolisme qui affectent la fraîcheur des aliments. Ce sont :

-Les bactéries notamment les genres *Pseudomonas* et *Clostridium*

-Les moisissures telles que les genres *Thamnidium*, *Sporothrichum*, *Cladosporium* (Rozier J et al, 1985).

### **2.2.3. Les germes indicateurs d'hygiène**

#### **2.2.3.1. Flore mésophile aérobie totale à 30°C (FMAT à 30°C)**

C'est l'ensemble des micro-organismes aptes à se reproduire à l'air, aux températures moyennes de 30°C. Leur présence dans les aliments témoigne souvent d'une recontamination après cuisson. Sur le plan microbiologique, une microflore aérobie totale abondante indique que les processus d'altération microbiens sont fortement engagés (Wade, 1996).

### 2.2.3.2. Coliformes

Sont des entérobactéries vivant principalement dans les intestins. Ces bactéries fermentant le lactose (avec gaz) à 30 °C (les bactéries correspondantes appartiennent au genre *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebesilla*, *Entérobacter*) ou à 44 °C (coliformes thermotolérantes ou fécaux). Les coliformes fécaux et *E.coli* survivant difficilement hors de l'intestin traduiront donc une contamination fécale récente (Joffin et Joffin, 1999).

Ils sont des bactéries Gram et oxydase négatifs, non sporulant, aéro-anaérobies facultatives (Guirand, 1998).

## 2.3. Toxi-infection alimentaire collective

### 2.3.1. Toxi-infections alimentaires

Les toxi-infections alimentaires résultent de l'ingestion d'aliments contaminés par un microorganisme nocif ou un agent pathogène.

Les microorganismes pouvant causés des toxi-infections alimentaires sont les virus, les parasites et les bactéries, ces derniers sont les plus souvent mis en cause.

Dans la plupart du temps, l'intoxication alimentaire est l'ensemble de manifestation clinique à caractère digestif (douleurs abdominales, diarrhée, vomissement, parfois fièvres) consécutives à l'ingestion d'aliment sain devenus nocif suite à sa contamination par une quantité importante de bactérie ou de produit toxique provenant de leur croissance, de manifestation qui varient selon l'âge et le terrain des personnes atteintes (ministère de la santé et population, 2005).

### 2.3.2. Toxi-infection alimentaire collective

#### 2.3.2.1. Définition

Une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) est définie par l'incidence de deux cas ou plus, d'une maladie similaire à symptomatologie gastro-intestinale le plus souvent, dont la cause peut être rapportée à une même origine alimentaire (Delmas et *al*, 2006).

Le diagnostic d'une toxi-infection alimentaire collective est immédiatement évoqué lorsque plusieurs personnes appartenant à une même collectivité sont subitement victime d'une « indigestion ». Mais l'unité de temps (simultanéité des cas) et l'unité de lieu (focalisation des cas) ne pas constamment observées. Dans plus de 90% des cas, c'est devant une gastro-entérite aigue typique, associant de façon variable nausées, crampes épigastriques, vomissement, diarrhée, fièvres, hypotension que se pose le diagnostic. Les formes sévères



avec déshydratation s'observent aux âges extrêmes de la vie, justifiant un taux d'hospitalisation compris entre 5 et 10%. Mais il existe aussi des formes atypiques pouvant égarer le diagnostic (Hance et *al*, 1998).

### 2.3.2.2. Physiopathologie

Trois mécanismes principaux sont responsables de l'activité pathogène des agents responsables des TIAC :

- Action invasive par colonisation ou ulcération de la muqueuse intestinale avec inflammation. La colonisation est habituellement iléo-colique et destruction villositaire importante. Les selles sont alors glaireuses, riches en polynucléaires, parfois sanglantes.
- Action cytotoxique avec production d'une toxine protéique entraînant une destruction cellulaire.
- Action entérotoxigène entraînant une stimulation de la sécrétion. La toxine libérée par certaines bactéries au sien même de l'aliment est responsable de tableau clinique : la multiplication bactérienne intra-intestinale étant soit absente soit tout à fait secondaire.

Il n'y a pas de destruction cellulaire ou villositaire. La diarrhée est aqueuse, il n'y a pas de leucocytes, ni le sang dans les selles. La diarrhée cesse en 3 à 5 jours, dès que la population entérocytaire s'est régénérée ou a retrouvé une fonction normale (Malvy et *al*, 1996).

## 2.4. Principaux germes pathogènes responsable des TIAC

### 2.4.1. *Salmonella*

Les salmonelles sont des bactéries toujours pathogènes provoquant des gastro-entérites (avec éventuellement de graves complications) et des toxi-infections alimentaires. Leur recherche et leur identification permettent donc de montrer le danger possible d'un produit (Carip, 2008).

Bacille gram négative, aéro-anaérobie, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. *S.enteritidis* et *S.typhimurium* prédominent dans le domaine alimentaire (D'Aoust, 2001).

Le réservoir principal de *Salmonella* est constitué par le tractus gastro-intestinal des mammifères et des oiseaux. Les salmonelles présentes dans les matières fécales des animaux peuvent contaminer les pâturages, les sols et l'eau (Mouloudi.F, 2013).

Cliniquement, les salmonelloses se manifestent par une diarrhée fébrile accompagnée de vomissement et de douleurs abdominales. Elles peuvent entraîner des bactériémies et se

complicuer de septicémies ou de localisations secondaires extra-digestive qui font la gravité de la maladie (Garcia S & Heredia, 2009).

Les aliments incriminés sont cités : les viandes mal cuites, les volailles, les œufs et ovo produits, produits de pâtisserie, marinés, le lait (Samba F, 2013).

#### **2.4.2. Staphylocoques pathogènes**

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires présentes sur la peau, les muqueuses et la sphère rhinopharyngée des animaux et en particulier chez l'homme (Dellaras, 2007).

Les staphylocoques constituent avec les microcoques les principaux genres de la famille des *Micrococcaceae*.

Ce sont des cocci à gram positif, non sporulés, immobiles, se divisant en plusieurs plans en formant des amas irréguliers.

En bactériologie alimentaire, seule les espèces capables de produire les entérotoxines sont considérées comme pathogènes. En effet, c'est l'ingestion d'entérotoxines qui est responsable des troubles observés.

Parmi les staphylocoques, *Staphylococcus aureus* est la principale espèce entérotoxigène (Bleu B, 2006)

*Staphylococcus aureus* apparaît comme l'espèce de staphylocoques le plus pathogène, aussi bien pour l'homme que pour l'animal (Fosse et Magras, 2004).

Ils sécrètent dans l'aliment des entérotoxines qui ne sont pas hydrolysées par les protéases digestives et sont très résistantes aux traitements thermiques (peuvent persister après la mort des germes) (Guirand, 1998).

Les aliments incriminés : la viande, le poisson, les plats cuisinés, la pâtisserie (Samba F, 2013).

#### **2.4.3. Clostridium sulfito-réducteurs**

Les clostridies sont des bacilles à gram positif, anaérobie strict, sporulés, non capsulés (à l'exception de *Clostridium perfringens*). La spore est de grande taille, elle est parfois plus grande que la bactérie. Les majorités des souches sont mobiles (flagelle péritriche). Elles sont catalase négative et ne possèdent pas de superoxyde dismutase, ce qui explique leur intolérance à l'oxygène aussi bien pour la survie que pour la multiplication.

La résistance des spores de *Clostridium* à la chaleur est variable selon les souches (la spore de *C. botulinum* résiste jusqu'à 5 heures à 100° C et 15 min à 120° C. De plus les spores d'autres germes nécessitent un chauffage pour pouvoir germer).

Les principales clostridies pathogènes pour l'homme sont : *C.tenani*, *C.botulinum*,

*C. perfringens* (Carip, 2008).

#### **2.4.3.1. *Clostridium perfringens***

C'est un germe anaérobie, sporulé très largement répandu dans l'environnement : c'est aussi un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux (Rosset et Lamelloise, 1984).

- Aliments incriminés

Les aliments responsables sont les plats à base de viande, les viandes cuites en bouillon, les sauces, les ragoûts ou rôtis. Beaucoup de spores survivent à la cuisson: étant activées par la chaleur, elles germent à une température appropriée (FAO/OMS, 1976).

#### **2.4.3.2. *Clostridium botulinum***

C'est une bactérie tellurique, anaérobie, sporulée qui peut un hôte intestinale normal et les spores sont thermorésistantes (Rosset et Lamelloise, 1984).

- Les aliments incriminés

Les conserves, les produits de charcuterie et de pêche (Michel C, 2007).

# **Chapitre 3:**

## **Matériel et Méthodes**

L'innocuité d'un aliment correspond à une qualité seuil et la norme zéro défaut doit être atteinte pour certains systèmes aliment-microorganisme en particulier à partir du moment où la présence du microorganisme dans le produit risque d'avoir une incidence défavorable et parfois très grave sur la santé du consommateur (Louis J ,2007).

Les contaminations par les bactéries sont de loin, les plus fréquentes et les plus connues (Seydi, 1990).

C'est pourquoi notre étude est basée essentiellement sur l'analyse bactériologique même s'il existe d'autres agents.

### **1. Objectif du travail**

Ce travail a pour objectif général l'étude de l'hygiène dans la restauration collective commerciale dans la région de Biskra. Il a consisté des analyses bactériologiques des repas prêts à être servis.

De façon spécifique, cette étude devra permettre de :

**A-**Apprécier le niveau de contamination des repas suivant les germes précités afin de parvenir à une amélioration de la qualité des repas.

**B-**Faire une comparaison de la charge bactériologique entre les deux différents types d'un des constituants du repas servis qui est le Chawarma (chawarma grillé « sur support » et chawarma cuit sous plaque chauffante « sans support »).

### **2. Matériel et milieux**

#### **2.1 Matériel**

Présenté par le matériel habituel utilisé dans les laboratoires des analyses microbiologiques alimentaires :

- Matériel de stérilisation et d'incubation : Bec- Benzène, étuves, autoclave
- Matériel de pesée : Balance de précision, balance électrique
- Matériel d'agitation et de broyage : Un stomacher, broyeur électrique, agitateur-plaque chauffante, agitateur magnétique
- La verrerie : Tubes à essai stériles, erlenmeyer, flacons stériles, boîtes de pétri, pipettes pasteur, éprouvettes, béchers, des lames
- Seringues stériles
- Embouts stériles
- Portoirs
- Micro pipettes variables (100µl - 1000µl)

- Glacière
- Bain-marie
- pH mètre
- Ance de platine
- Tube à hémolyse

### **2.2 Milieu de culture et d'enrichissement**

- La gélose *Salmonella-shigella*(SS)
- La gélose Baird-Parker
- La gélose citratée au Désoxycholate
- La gélose PCA
- La gélose viande-foie (VF)
- Bouillon Sélénite - Cystéiné
- Eau physiologique stérile
- Eau distillée
- Eau peptonée tamponnée

### **2.3 Produits et réactifs**

- Huile de paraffine
- Ampoules d'Alun de Fer
- Ampoules de Sulfite de Sodium
- Ampoules de Tellurite de Potassium
- Emulsion jaune d'œuf
- Galerie API 20 E et ses réactifs (Kovacs, VP I, VP II, TDA, NR I, NR II)
- Urée indole
- Citrate de Simmons
- TSI
- Kligler hajna
- Mannitol mobilité

### 3. Méthodes

#### 3.1. Champ de l'enquête

Le champ concerné c'est le marché BOUKHARI au niveau de la Wilaya Biskra, le choix des restaurants a été effectué au hasard (deux établissements différentes).

#### 3.2. Prélèvement des échantillons

Dans notre étude le matériel biologique analysé est un plat cuisiné pré à être server prélevé dans deux diverses restaurations collectives dans la wilaya de Biskra.

Il s'agit d'un plat chawarma varié contient des repas chauds et froids qui comprennent :

- Chawarma
- Frites
- Salade verte

La méthode d'échantillonnage utilisé a été effectué selon les textes officielles qui stipulent que les plats cuisinés devraient prélevés à l'avance d'au moins un plat cuisiné par semaine dans le cadre du contrôle systématique des établissements de préparation.

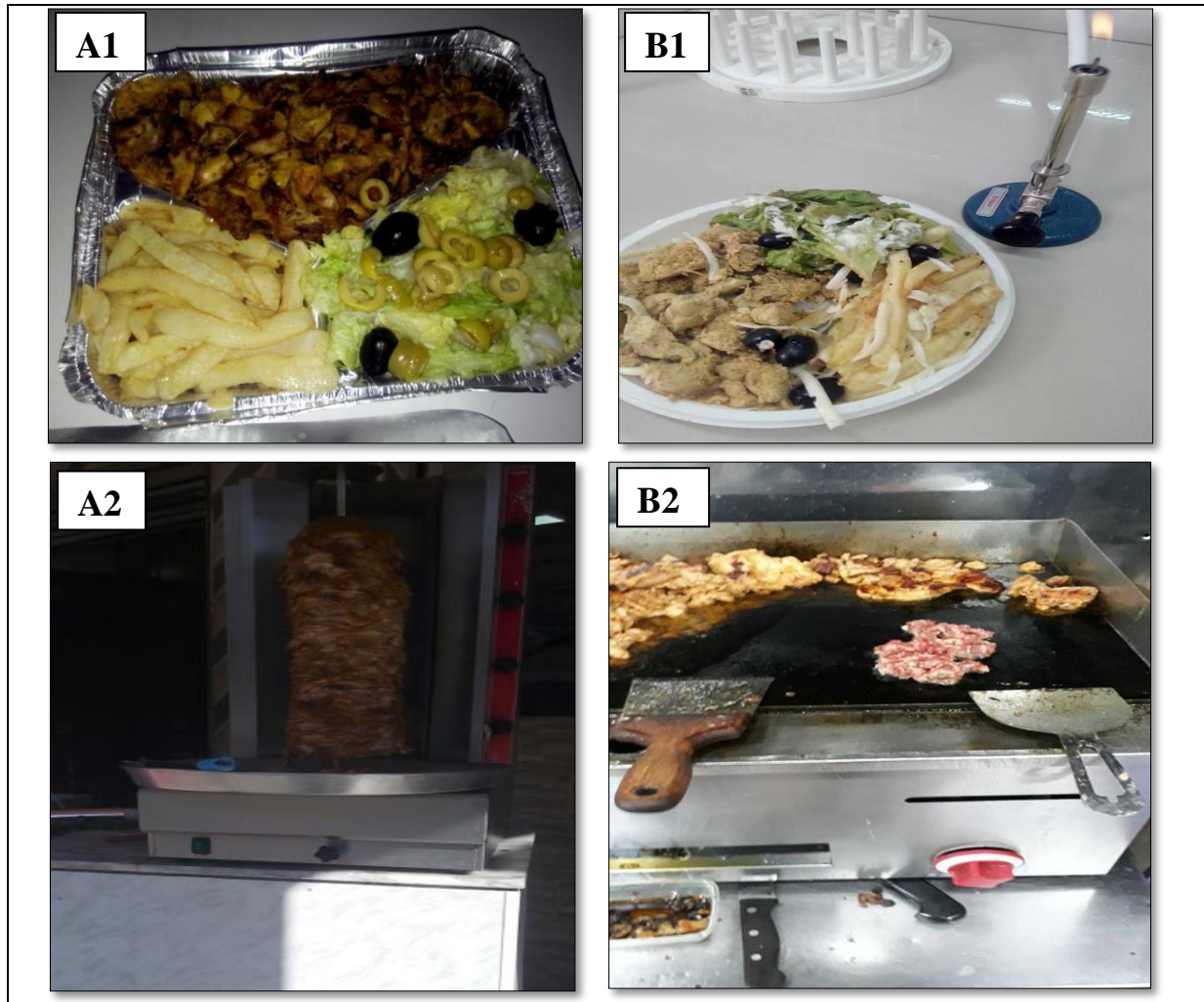
Les prélèvements ont été effectués au début de Mars, selon un plan d'échantillonnage comprenant quatre prélèvements, en raison de trois échantillons dans chaque prélèvement.

Les échantillons ont été choisis par le vendeur après conditionnement habituel de cuisson et d'emballage.

Le matériel de prélèvement comprend les éléments suivants :

- Une glacière contenant de carboglace pour le transport des échantillons, sous régime du froid au laboratoire de département (Science de la Nature et de la Vie) de l'université de Biskra.
- Un marqueur à encre indélébile pour identifier les échantillons.
- Une trousse en acier inox dans laquelle on garde les ciseaux, les bistouris à lame jetable, les pinces, qui sont tous stériles et individuellement emballés dans du papier aluminiums.
- Une pissette d'eau de javel pour la désinfection rapide du petit matériel.

Désinfection rapide du matériel lors du prélèvement de 25g de chaque échantillon par l'alcool est parfois mise en œuvre.



**Figure 1:** Les deux types des plats cuisinés prélevés.

**A1.** Plat variée avec Chawarma grillé.

**A2.** Chawarma grillé (sur support).

**B1.** Plat variée avec Chawarma cuit sous plaque chauffante. **B2.** Chawarma cuit sous plaque chauffante (sans support).

### 3.3. Analyses bactériologiques

L'élaboration des normes internationales est confiée en générale au comité technique de l'ISO qui est une organisation internationale de normalisation. La norme donne des directives pour le dénombrement des microorganismes dans les produits destinés à la consommation humaine et animale.

Les méthodes de dénombrement utilisées dans cette étude sont définies par cette organisation.

Ainsi nous nous sommes inspirés des normes AFNOR (Association Française de Normalisation).



### 3.3.1. Recherche et dénombrement des germes

Les germes recherchés sont :

Les germes indicateurs de la qualité commerciale

- Les microflores aérobies mésophile totale (FMAT)
- Les coliformes fécaux ou coliformes thermotolérants

Les germes indicateurs de la qualité hygiénique

- Les staphylocoques présumés pathogènes (SPP)
- Les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)
- Les salmonelles

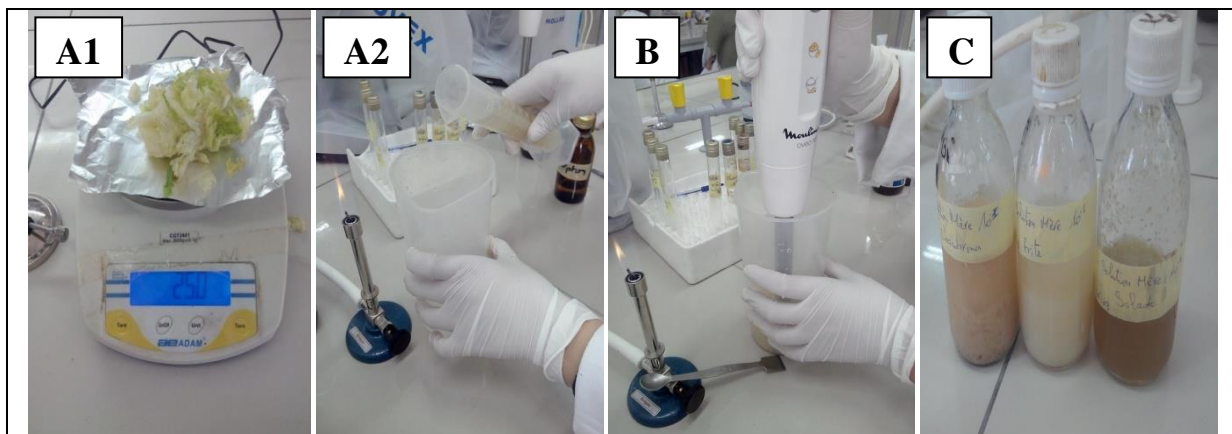
### 3.3.2. Protocole d'analyse (ISO 6887-1)

#### 3.3.2.1. Préparation de la solution mère

La solution mère est la première dilution préparée à partir d'un produit solide. Les 25g sont prélevés de façon aseptique dans chaque échantillon et placés dans le bol d'un mixeur en présence de 225ml d'eau peptonée tamponnée (EPT) préalablement stérilisée.

L'homogénéisation s'effectue à l'aide d'un broyeur électrique à couteaux.

Puis l'ensemble est soumis à un broyage pendant 1 à 3 mn. On laisse ensuite pendant 25 à 30 mn minutes à la température du laboratoire pour assurer la revivification des germes. Ce mélange représente la solution mère signifié la dilution  $10^{-1}$ .



**Figure 2:** Préparation des solutions mères.

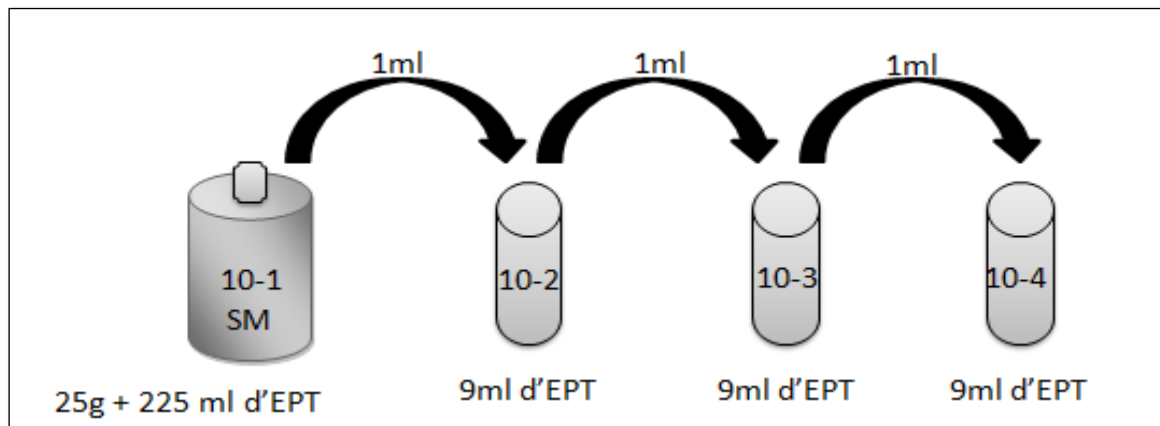
**A.** Préparation.

**B.** Broyage.

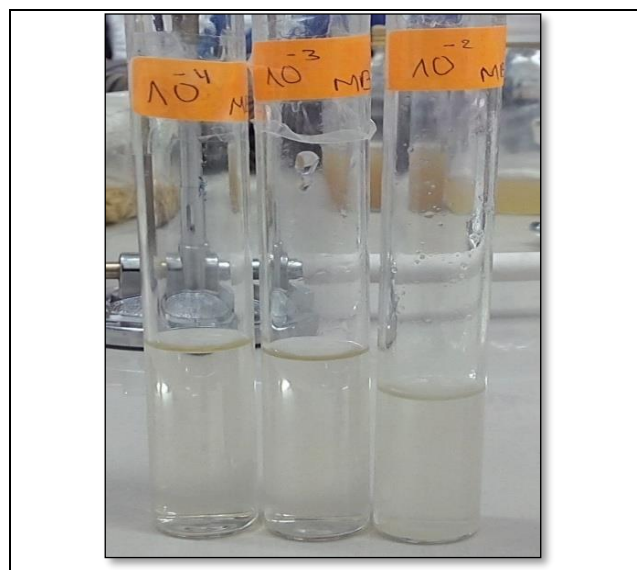
**C.** Mise en flacons.

### 3.3.2.2. Préparation des dilutions décimales

On peut poursuivre les dilutions décimales dans des tubes à essais en utilisant chaque fois une nouvelle pipette pour passer d'une dilution à l'autre, A partir de la solution mère, on prélève 1ml qu'on ajoute à 9 ml d'EPT, puis on homogénéise pour obtenir la dilution  $10^{-2}$ , et ainsi de suite pour réaliser les dilutions  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , etc.



**Figure 3:** Préparation des dilutions décimales.

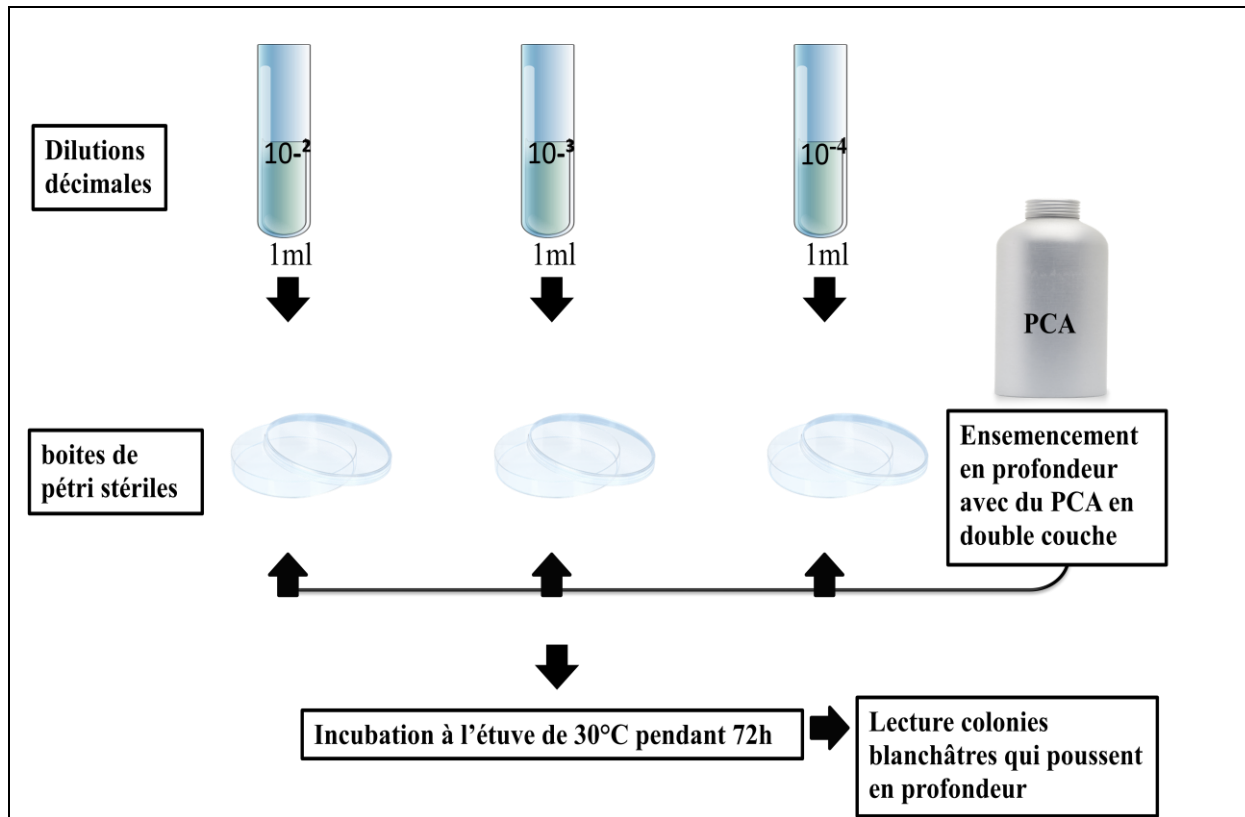


**Figure 4:** Dilutions décimales préparés.

### 3.3.2.3. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale à 30°C (ISO 4833)

Pour chaque dilution  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$ , 1 ml est déposé dans des boîtes de pétri stériles à l'aide de pipettes stériles auquel on ajoute environ 12 à 15 ml de gélose Plate Count Agar ou gélose PCA maintenue à une température de 47 °C. Chaque boîte est soigneusement homogénéisée avec le prélèvement par des mouvements circulaires et de « va-et-vient » ou en

forme de « 8 » sur une surface fraîche et horizontale. Après solidification, on coule à la surface 4 ml de gélose pour obtenir une double couche. Les boîtes ainsi préparées sont incubées retournées dans une étuve réglée à 30°C. La lecture a lieu après  $72 \pm 3$  heures par dénombrement des colonies blanchâtres qui poussent en profondeur.



**Figure 5 :** Étapes de dénombrement de la FMAT à 30°C.

#### 3.3.2.4. Dénombrement des coliformes thermotolérants ou coliformes fécaux

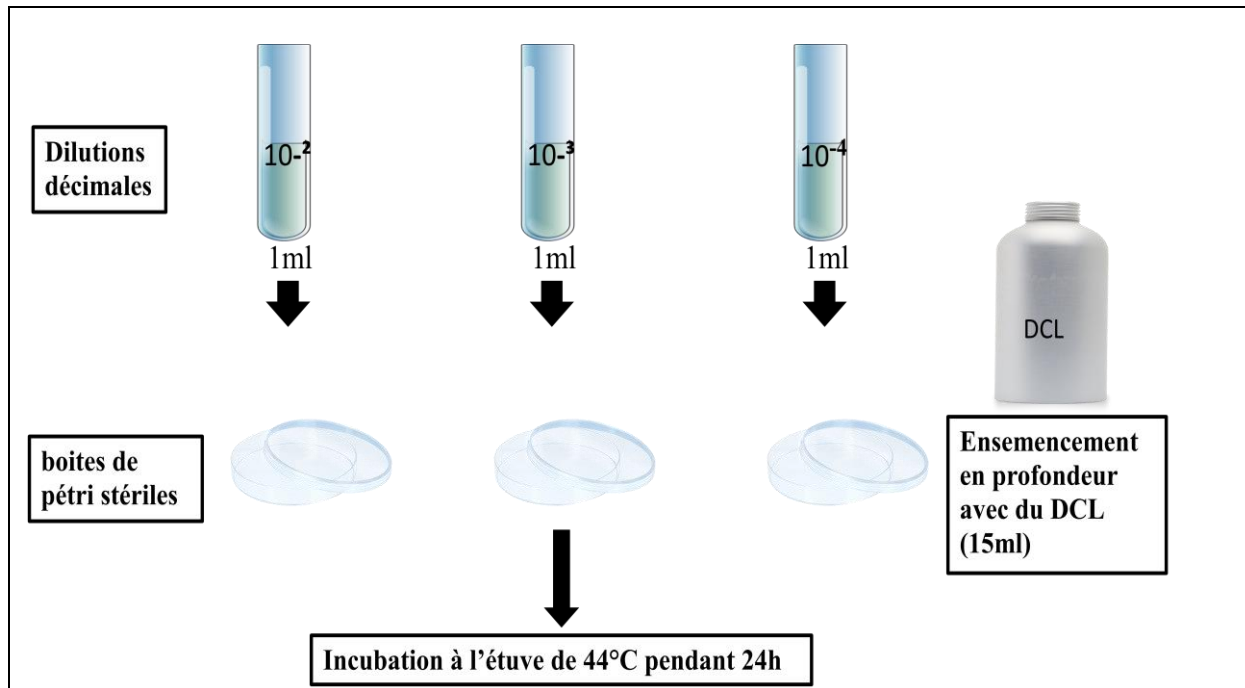
Selon la norme internationale, les coliformes fécaux sont des bactéries qui à la température spécifique, forment des colonies caractéristiques dans la gélose Désoxycholate Lactose Agar (DCL). Ces germes sont thermorésistants, ayant une température d'incubation est de 44°C. Ils sont dénombrés selon la norme Française NF V 08-017, par comptage de colonies sur milieu solide (Guiraud et Rosec, 2004).

##### Ensemencement et incubation

A partir de la solution mère ou des dilutions décimales, 1 ml est prélevé et versé dans des boîtes de pétri stériles à l'aide de pipettes stériles. 15ml du milieu DCL fondu et refroidit à 45°C, sont coulés dans chaque boîte de Pétri. L'inoculum est soigneusement mélangé au milieu de culture par des mouvements circulaires et de « va-et-vient » ou en forme de « 8 »

sur une surface fraîche et horizontale. Après solidification les boîtes ainsi préparées sont incubées retournées dans une étuve réglée à 44°C, pendant 24h (Guiraud et Rosec, 2004).

La DCL inhibe la croissance des bactéries à gram positif et pratiquement celle des autres bactéries à gram négatif.



**Figure 6:** Étapes de dénombrement des coliformes thermotolérants.

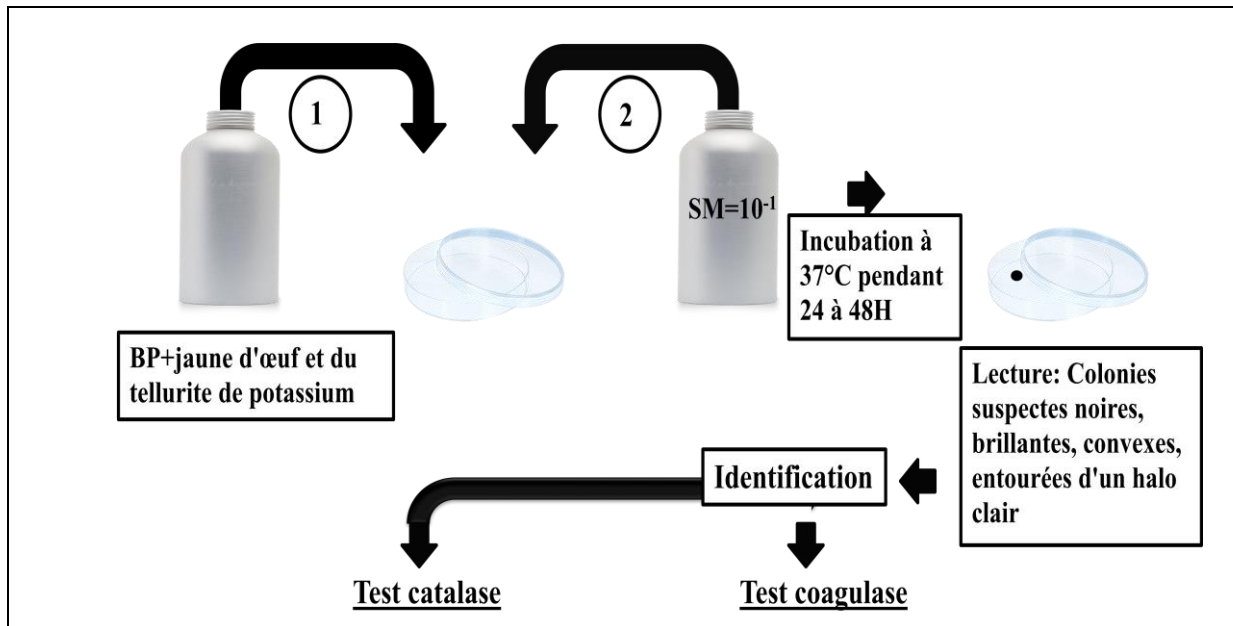
### 3.3.2.5. Recherche et dénombrement des staphylocoques présumés pathogènes

#### (*Staphylococcus aureus*) (AFNOR V 08-057-1)

Le milieu sélectif de Baird Parker auquel on a ajouté du jaune d'œuf et du tellurite de potassium est utilisé pour l'isolement des souches de *Staphylococcus aureus* et le dénombrement des colonies.

Le mélange est coulé en boîte de pétri. Après solidification, il estensemencé en surface avec 0,1 ml de la solution mère. L'inoculum est ensuite étalé à l'aide d'un étaleur en verre ou en plastique. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

La présence de *Staphylococcus aureus* se traduit par l'apparition de colonies noires ou grises, brillantes et convexes et entourées d'une auréole d'éclaircissement. Leur diamètre est compris entre 0,5 et 2 mm ; Pour confirmer la pathogénicité des staphylocoques, nous avons effectué le test de la catalase et le test à la coagulase ou ce dernier test seul.



**Figure 7:** Étapes de dénombrement des staphylocoques présumés pathogènes.

### Le test de la coagulase

Elle a pour le but de déterminer la pathogénicité d'une *Staphylococcus* qui sécrète une enzyme la staphylocoagulase qui a la propriété de coaguler le plasma (Mouloudi F, 2013).

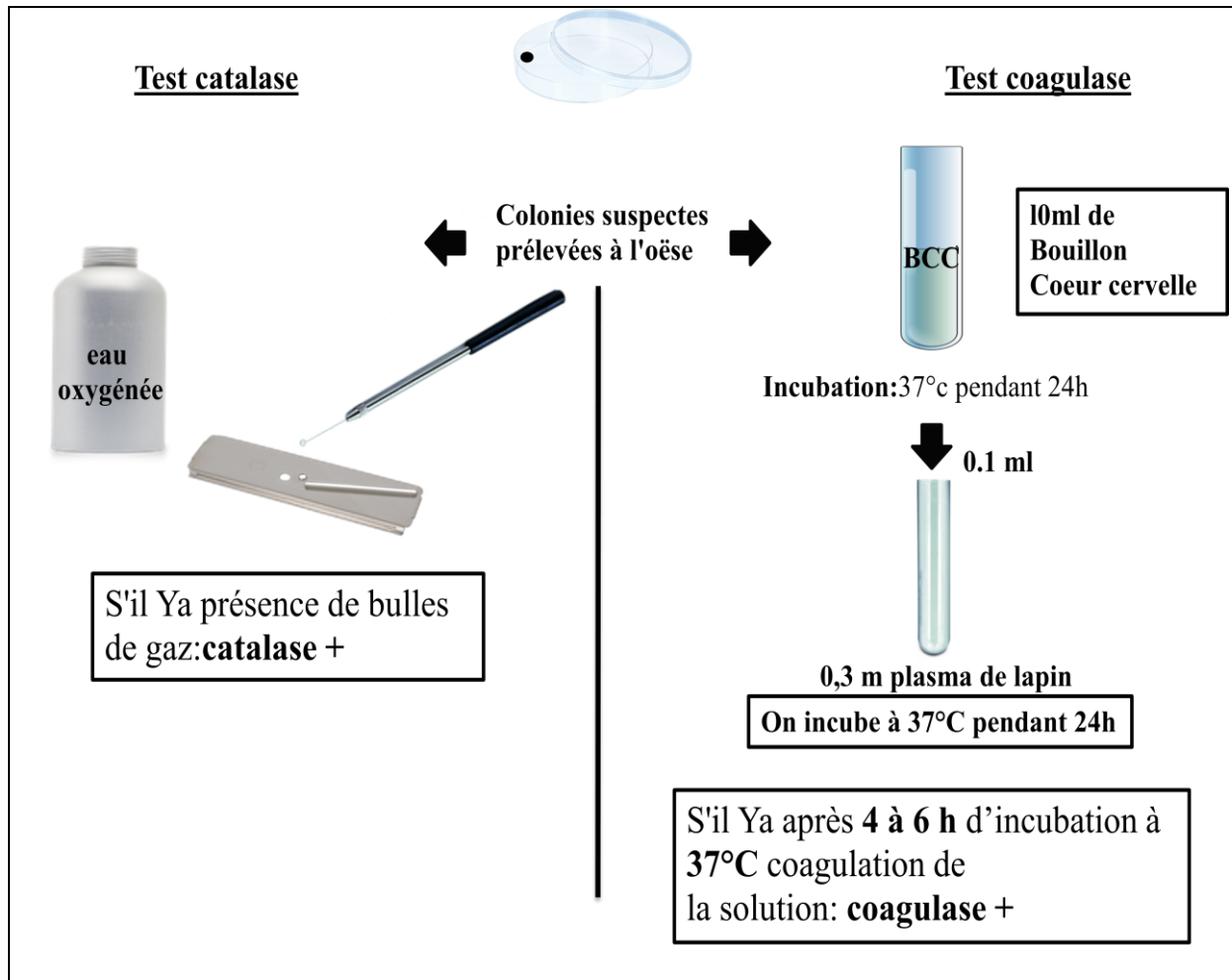
On réalise le test de la coagulase en prélevant 5 ml de bouillon cœur-cerveau qu'on met dans un tube à essai et que l'on mélange avec la colonie suivie d'une incubation à 37°C pendant 20 à 24h. On utilise ensuite 0.3 ml de plasma de lapin qu'on mélange avec 0.1 ml de la culture obtenue et on incube à 37°C pendant 24h.

La coagulation de plus de la moitié du volume signifie un résultat positif, l'absence de coagulation révèle un résultat négatif.

### Le test de la catalase

Elle a pour but de classer des bactéries aérobies et plus spécialement de les différencier. Il s'agit d'une enzyme qui a la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène (Guiraud, 2003).

Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase : test catalase +. Sur une lame propre et sèche, une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes a été déposée à l'aide d'une pipette Pasteur et l'inoculum bactérien a été ajouté. L'observation a été immédiate (Dellaras, 2007).



**Figure 8:** Tests d'identification (catalase et coagulase).

### 3.3.2.6. Recherche des spores de *Clostridium sulfito-réducteur* (ASR) à 46°C

On suit les indications de la technique générale pour le dénombrement de la forme sporulée (Institut Pasteur, 1999).

#### Activation des spores

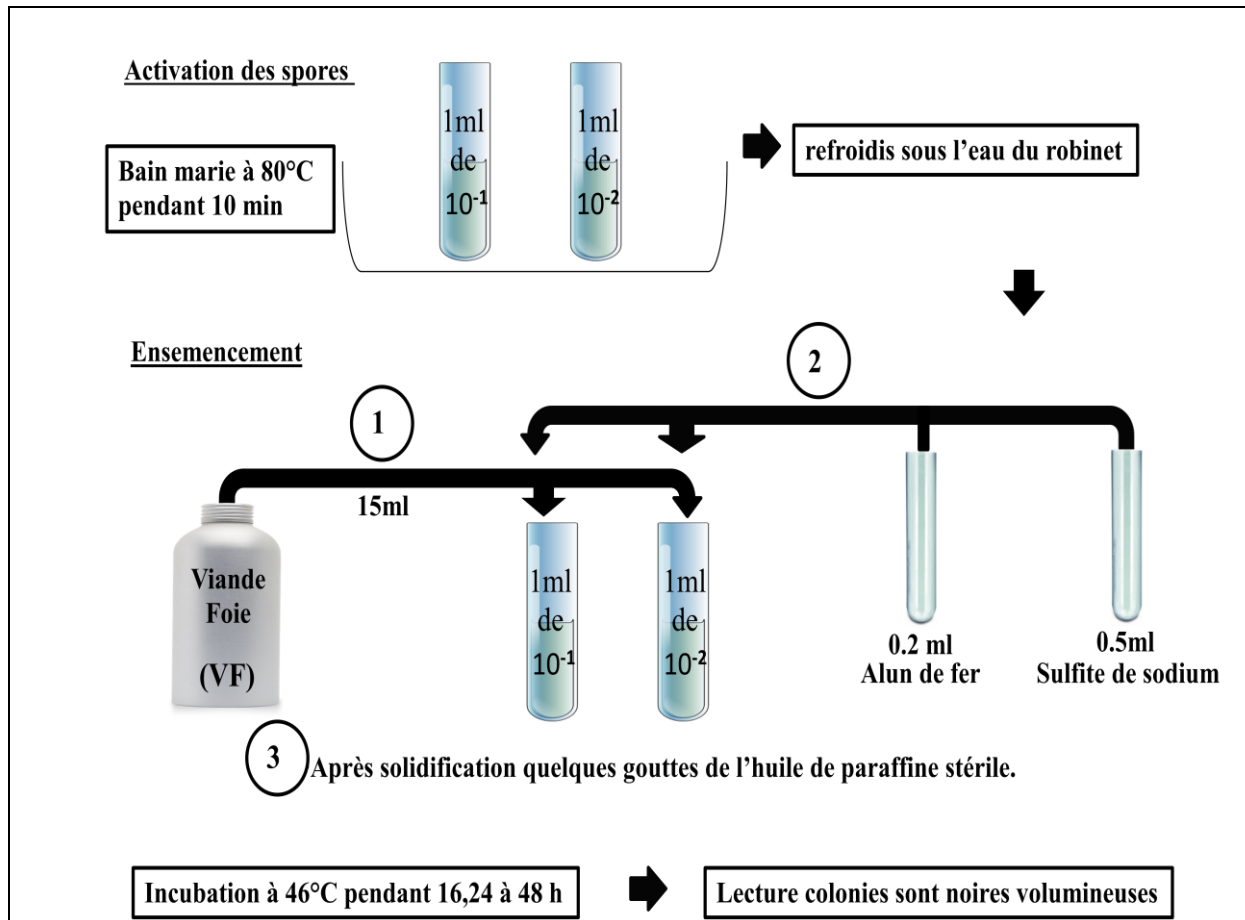
Quatre tubes stériles contenant 1 ml des dilutions  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$  à raison de deux tubes par dilution sont placés dans un bain marie à 80°C pendant 10 mn. Immédiatement à la sortie du bain marie, ces tubes sont refroidis sous l'eau du robinet.

#### Ensemencement

Par la suite chaque tube reçoit aseptiquement 15ml de la gélose Viande Foie (VF) liquéfié au bain marie. Additionné après refroidissement 0.2 ml d'Alun de fer et de 0.5ml de Sulfite de sodium à 5%, sont ajoutés à chaque tube à essai (ampoules d'additifs) et bien agité doucement pour éviter la formation de bulles d'air.

Une fois le milieu a été solidifiées, quelques gouttes de l'huile de paraffine stérile ou de vaseline stérile ont été ajouté pour assurer les conditions de l'anaérobiose puis incubés à 46°C, pendant 16,24 à 48 heures.

Les colonies sont noires volumineuses et la coloration ne diffuse pas dans la gélose (Seydi, et al, 2004).



**Figure 9 :** Étapes de dénombrement des ASR (Anaérobies Sulfite-Réducteurs).

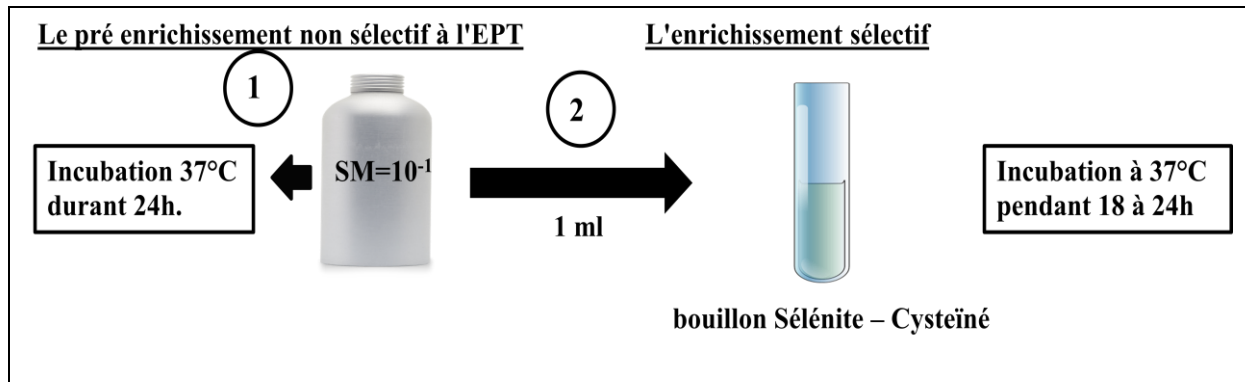
### 3.3.2.7. Recherche et dénombrement des salmonelles

La recherche des salmonelles se fait en plusieurs étapes :

- Étape d'enrichissement non sélectif (pré-enrichissement) dans l'eau peptonée tamponnée ;
- Étape d'enrichissement sélectif dans le bouillon Sélénite – Cystéiné ;
- Étape d'isolement ;
- Étape d'identification.

Un pré-enrichissement dans l'eau peptonée tamponnée est réalisé en incubant pendant 24 heures à 37°C les solutions mères préparées préalablement. En suite, 1 ml de ce mélange

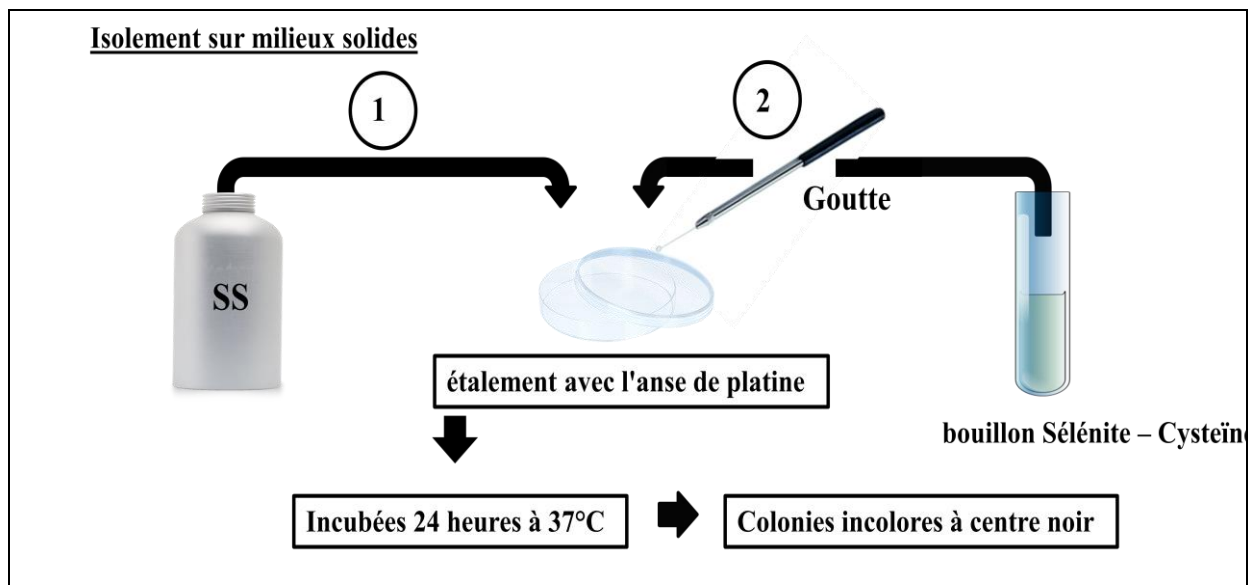
sert à ensemer 9 ml du milieu d'enrichissement (bouillon Sélénite - Cystéiné contenant l'additif), celui-ci est incubé pendant 24 heures à 37°C (Guiraud, 1998, Dennai et al, 2001).



**Figure 10:** Schéma représente l'étape de prés-enrichissement et d'enrichissement.

Après l'enrichissement, on enseme en trois cadrans le milieu solide d'isolement : La gélose SS. Les boîtes sont incubées 24 heures à 37°C et les colonies sont identifiées (Guiraud, 1998, Dennai et al, 2001).

Les colonies typiques de *Salmonella* sont incolores à centre noir sur la gélose SS.



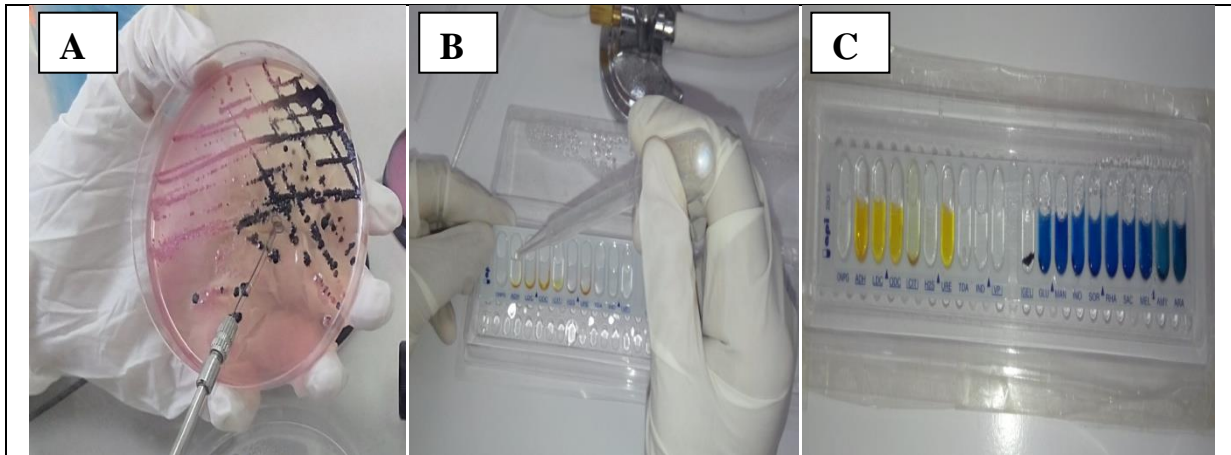
**Figure 11:** Étapes de recherche des salmonelles.

### Confirmation

L'identification se fait par voie biochimique grâce à des tests réalisés avec des entérotubes (Galerie classique) ou la galerie API 20<sup>E</sup>.

La galerie API 20<sup>E</sup> (Bio Mérieux) est composée de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés pouvant détecter 21 caractères biochimiques (Harley et al, 2010).





**Figure 12:** Préparation de la galerie API 20<sup>E</sup> (voir l'annexe 02).

**A** : Prélèvement des colonies suspectées.      **B** : Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie. **C** : galerie préparée avant l'incubation.

Toutes les colonies caractéristiques feront l'objet d'une identification

- Morphologique par coloration de gram (forme et gram) (voir l'annexe 03).
- Biochimique par l'utilisation des milieux

#### ❖ TSI (Gélose Glucose-Lactose-Saccharose-H<sub>2</sub>S)

A l'aide d'une anse contenant des colonies prélevées, on ensemence la pente puis le culot d'un tube par piqûre centrale. L'incubation se fait à 37°C pendant 48 à 72h.

- Une coloration jaune de la pente indique un lactose positif.
- Une coloration jaune du culot montre un glucose positif.
- Une coloration jaune de la zone intermédiaire indique un saccharose positif.

Ce test permet également de voir la production de H<sub>2</sub>S (noircissement de la zone joignant la pente et le culot) et de gaz (bulles dans la gélose) (Marchal et *al*, 1991).

#### ❖ Mannitol-mobilité

Le mannitol est un produit de réduction du D-mannose. Il permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité. On a ensemencé les souches étudiées dans le milieu par piqûre centrale et incubé à 30°C ± 1°C pendant 18 à 24 h.

Le virage au jaune du milieu indique la fermentation du mannitol, une diffusion dans la gélose indique la mobilité des bactéries (Marchal et *al*, 1991).

### ❖ Citrate de Simmons

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone : Le citrate. Seules les bactéries possédant une citrate-perméase sont capables de se développer sur ce milieu. La pente du milieu estensemencée selon une strie longitudinale au moyen d'une anse contenant une colonie et incubé à 37°C pendant 5 jours.

- Citrate-positive : Culture avec alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).
- Citrate-négative : Pas de culture (coloration verte de milieu inchangée) (Marchal et al, 1991).

### ❖ Urée indole

Ce milieu permet de mettre en évidence

- La présence d'une uréase

Cette enzyme dégrade l'urée qui provoque l'alcalinisation de milieu, mise en évidence grâce au virage de l'indicateur de pH le rouge de phénol au rose fuchsia.

- La production de l'INDOLE

La dégradation de L-tryptophane présent dans le milieu par tryptophanase s'accompagne d'une production d'indole.

Avec l'addition de réactif de Kovacs l'indole forme un complexe coloré en rouge caractéristique.

- Présence d'un tryptophane désaminase (TDA)

La dégradation de L-tryptophane par tryptophane-désaminase (TDA) résulte la production de l'acide indole-pyruvique qui est mis en évidence grâce à la coloration brune caractéristique qu'il donne en présence du réactif : Le chlorure de fer en solution acide.

### ❖ Kligler hajna

C'est un milieu coulé en tube incliné avec un culot d'au moins 3 cm. Il estensemencé en profondeur par piqûre centrale et sur la pente en strie. L'incubation à 37°C pendant 24h.

Pour mettre en évidence

- L'utilisation du lactose
- La fermentation du glucose
- La production d'H<sub>2</sub>S
- La production de gaz
- La lysine décarboxylase
- La B-galactosidase pour les bactéries lactose - (test ONPG)

### 3.3.3. Expression des résultats

Les boîtes contenant entre 10 et 150 colonies (entre 10 et 300 colonies pour la flore mésophile aérobie totale) sont retenues. On détermine le nombre des germes apparus au niveau de nos cultures selon la norme AFNOR d'après l'équation suivante

$$N = \frac{\Sigma C}{(n_1 + 0.1 \times n_2) \times d}$$

**N** : le nombre de bactéries présentes dans l'échantillon par gramme (g) de produit

**ΣC**: la somme des colonies comptées par boîte

**n1** : nombre des boîtes retenues à la première dilution

**n2** : nombre des boîtes retenues à la deuxième dilution

**d** : facteur de dilution à partir duquel les premiers comptage ont été obtenus

#### 3.3.3.1. Méthode d'Interprétation des résultats d'analyse

Les résultats des analyses microbiologiques sont interprétés à partir des critères microbiologiques fixés par des normes, ces critères d'appréciation sont définis par l'arrêté Ministériel du 27 Mai 1998 publié sur le Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire n°35 à :

##### a. Un plan à 3 classes

Suivant les critères de référence m :

- Si les résultats sont inférieurs ou égaux à 3 m, le produit est "satisfaisant".
- Si les résultats sont supérieurs à 3 m et inférieurs ou égaux à 10 m, le produit est "Acceptable" (M = 10 m).
- Si les résultats sont supérieurs à 10 m, le produit est "non satisfaisant".

##### b. Un plan à 2 classes

Pour les salmonelles, l'interprétation est faite comme suite :

- "Absence" qualité satisfaisante.
- "Présence" qualité non satisfaisante (Journal Officiel de la République Algérienne. 1998).

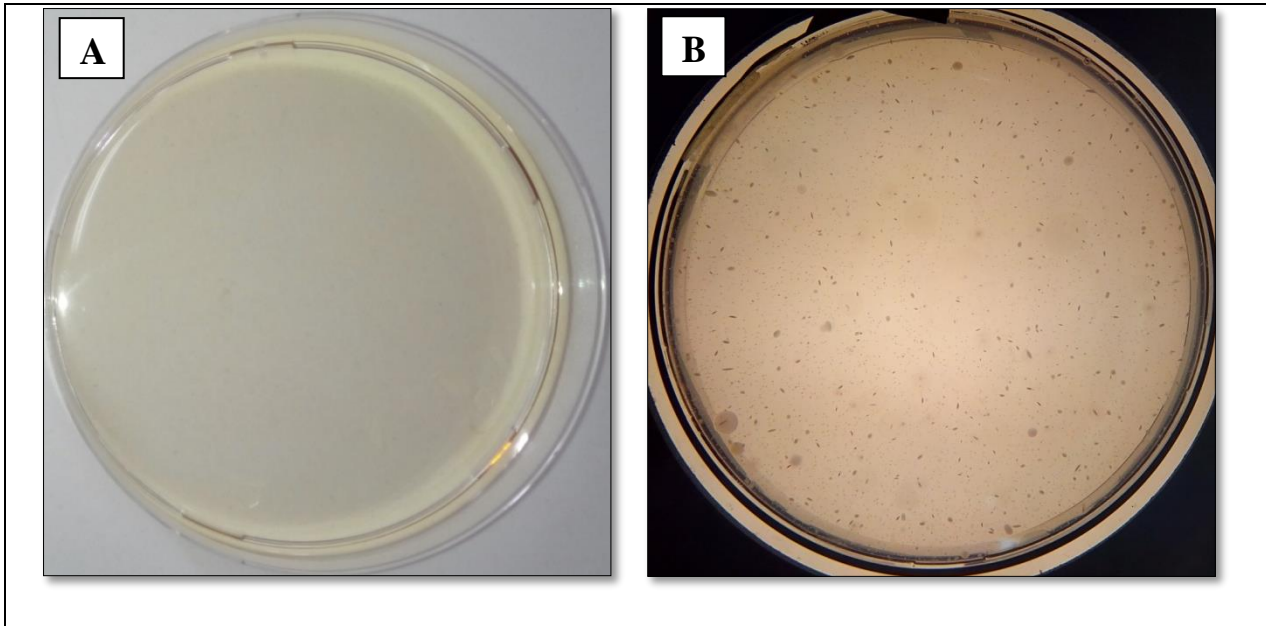
# **Chapitre 4 :**

# **Résultats et Discussions**

### 1. Résultats obtenus après les analyses bactériologiques

Après la réalisation des différentes analyses de recherche et de dénombrement de la charge microbienne, nos résultats sont organisés comme suit :

#### 1.1. Flore aérobie mésophile totale



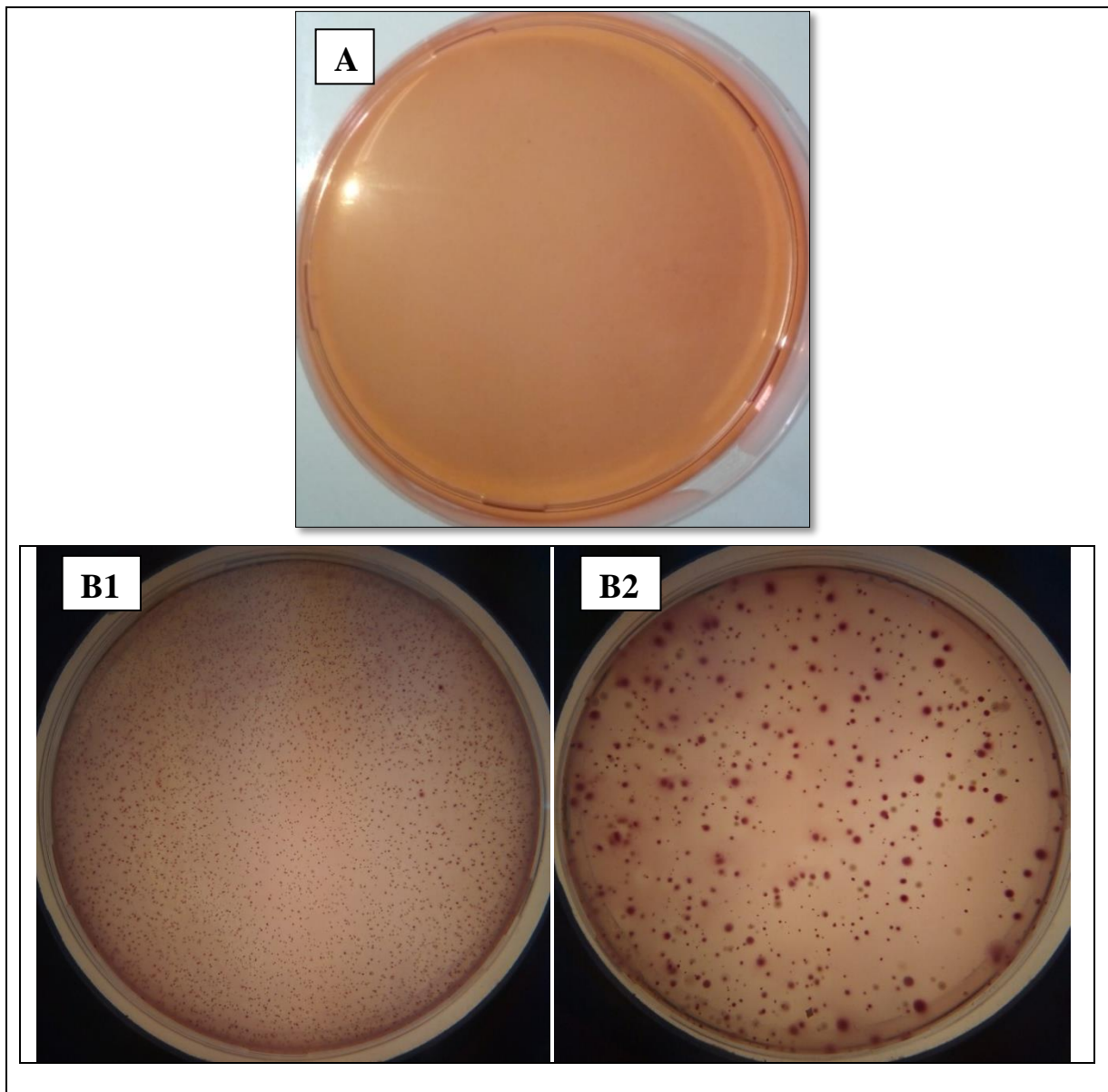
**Figure 13:** Mise en évidence de la flore aérobie mésophile sur milieu PCA.

**A.** Avant l'incubation.

**B.** Après l'incubation à 30°C pendant 24h.

La photo **B** au-dessus montre des colonies crémeuses des FTAM qui sont apparaitre d'une forme ronde et lenticulaire en masse avec des tailles petites et moyennes et d'une couleur blanchâtre, leur aspect est lisse.

## 1.2. Coliformes fécaux



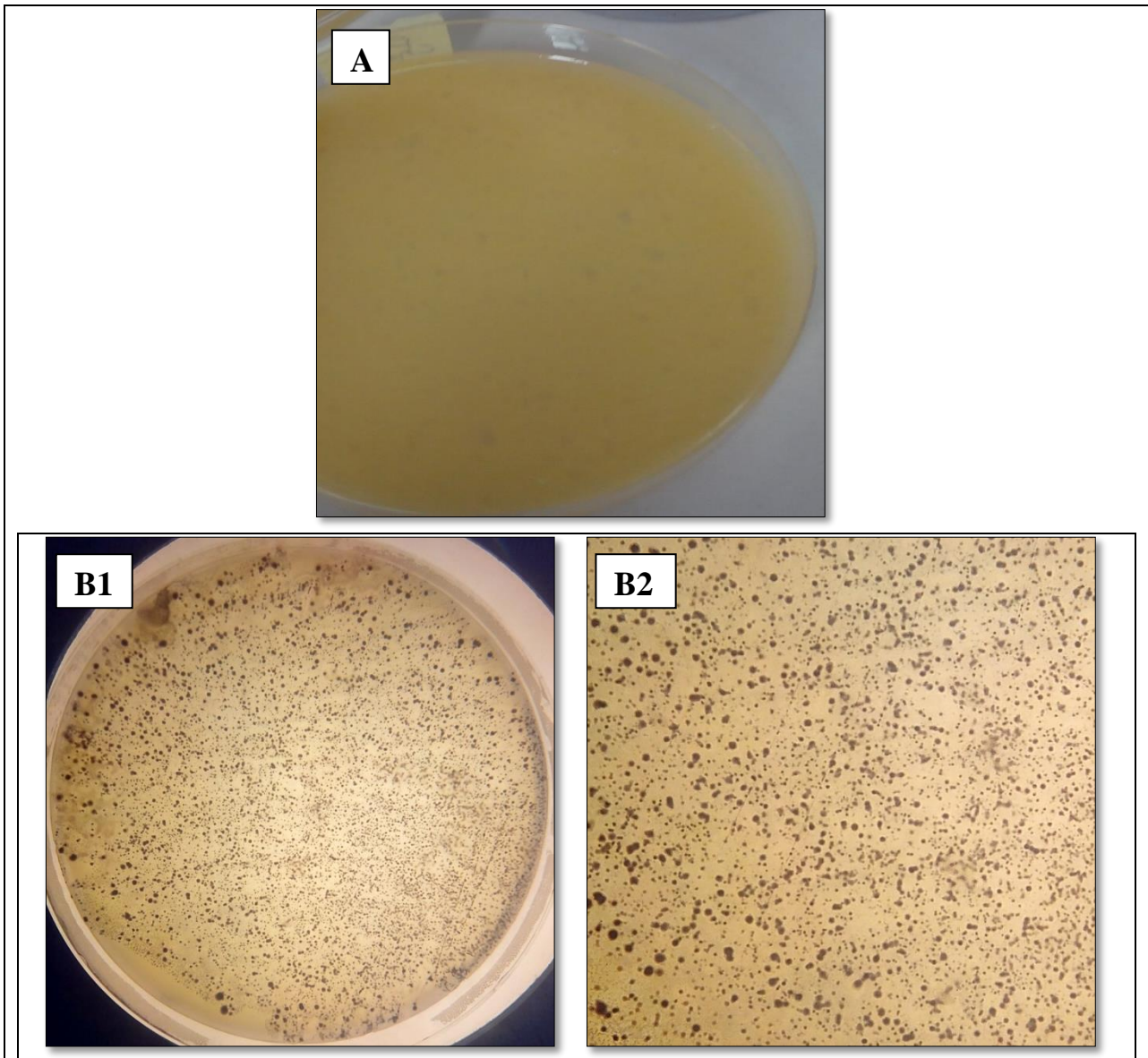
**Figure 14:** Mise en évidence la présence des coliformes fécaux sur DCL.

**A.** Avant l'incubation.

**B1 et B2.** Après l'incubation.

Les photos **B1** et **B2** au-dessus montrent des colonies grandes et petites, d'une couleur rouge ou rosâtre-rouge (lactose-positif), avec un aspect opaque, un contour pâle, rondes, bombés et lisses.

## 1.3. Staphylocoques présumés pathogènes



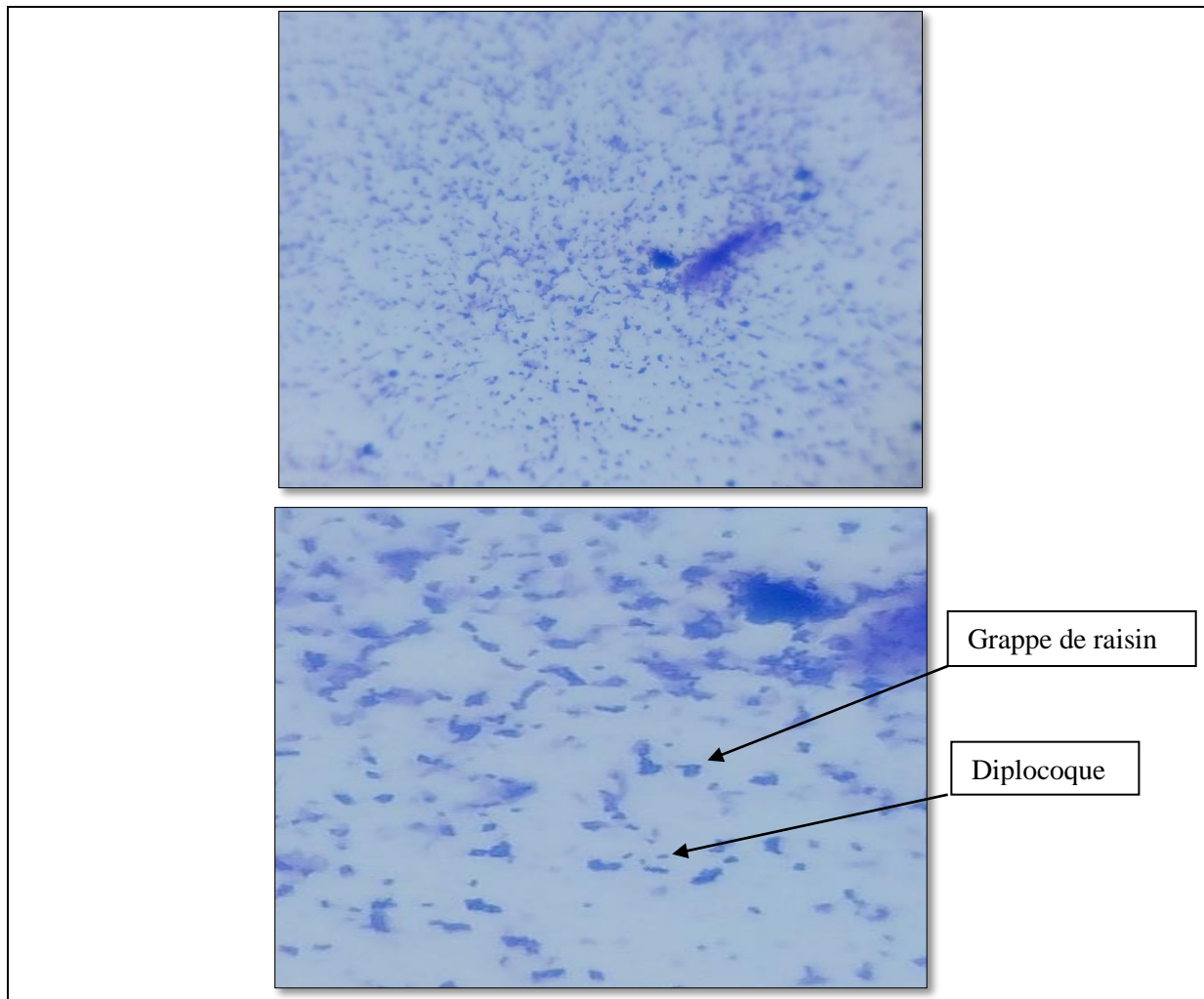
**Figure 15:** Mise en évidence la présence des *Staphylococcus aureus* sur gélose BP.

**A.** Témoin.

**B1 et B2.** Après l'incubation.

Les photos **B1** et **B2** au-dessus montrent des colonies suspectes de gris foncé à noires, brillantes, convexes et opaque, entourées d'un halo clair.

### 1.3.1. Caractéristiques microscopiques



**Figure 16:** Aspect microscopique de *Staphylococcus aureus* (coloration de Gram Gx100).

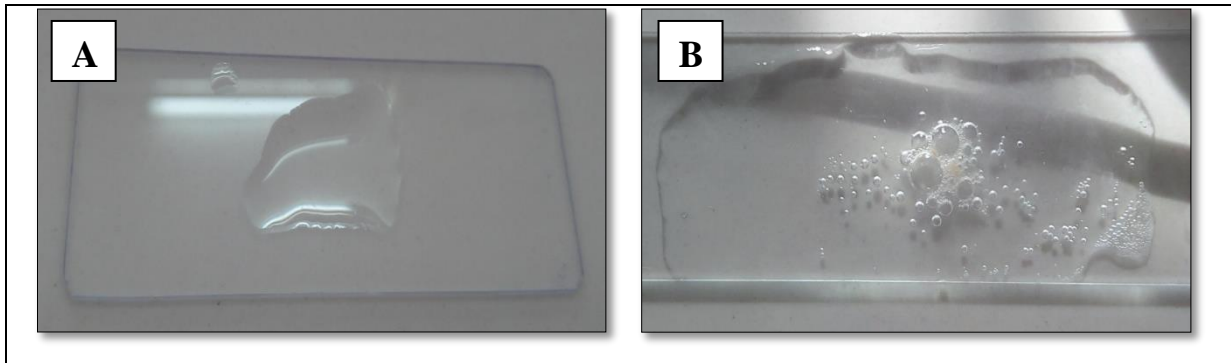
La figure n°16 représente les *S.aureus* sous forme des coques en amas (grappe de raisin) Gram positif.

### 1.3.2. Résultat des tests de confirmation

#### ❖ Test catalase

Les staphylocoques sont capables de décomposer l'eau oxygénée grâce à la catalase (Guiraud, 2012).





**Figure 17:** Mise en évidence du test catalase.

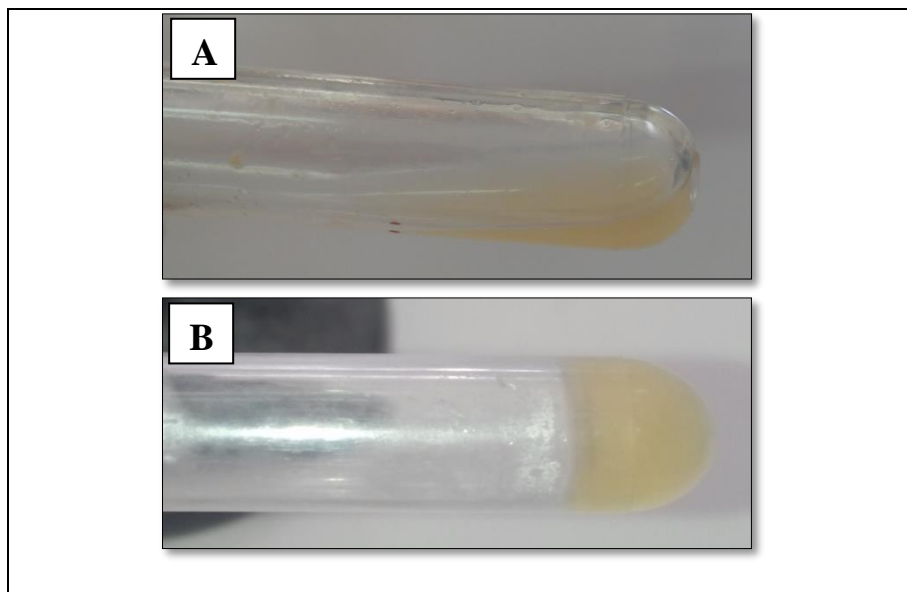
**A.** Témoignage avant l'incubation.

**B.** Après l'incubation.

La photo **B** montre des bulles d'air due à la dégradation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) grâce à la catalase sécrétée par la souche.

#### ❖ Test coagulase

La mise en évidence d'une activité coagulase libre chez une souche de *Staphylococcus* est un des critères d'identification de *Staphylococcus aureus* en médecine humaine (Dellaras, 2007).



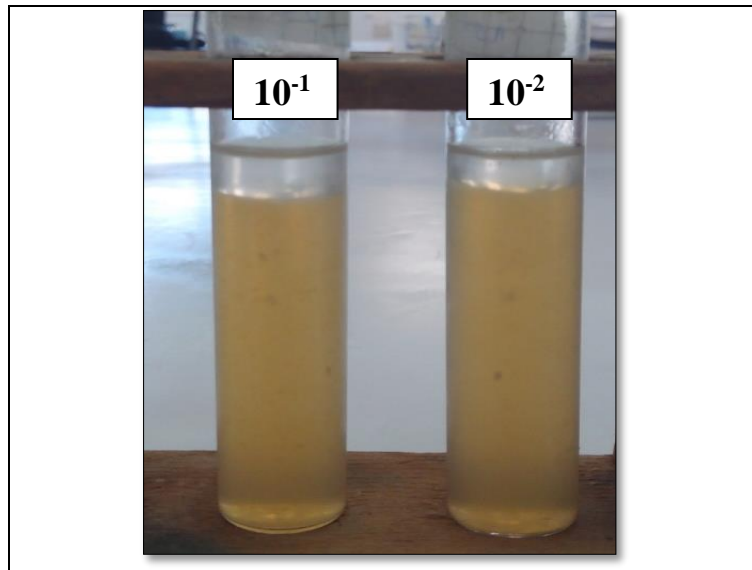
**Figure 18 :** Test de coagulase pour la souche *S.aureus* réalisé sur plasma du lapin.

**A.** Témoignage avant l'incubation.

**B.** Après l'incubation.

La photo **B** représente une coagulation claire dans la totalité du milieu due à la sécrétion de l'enzyme coagulase par la souche *S.aureus*.

#### 1.4. Spores de *Clostridium sulfito-réducteurs*

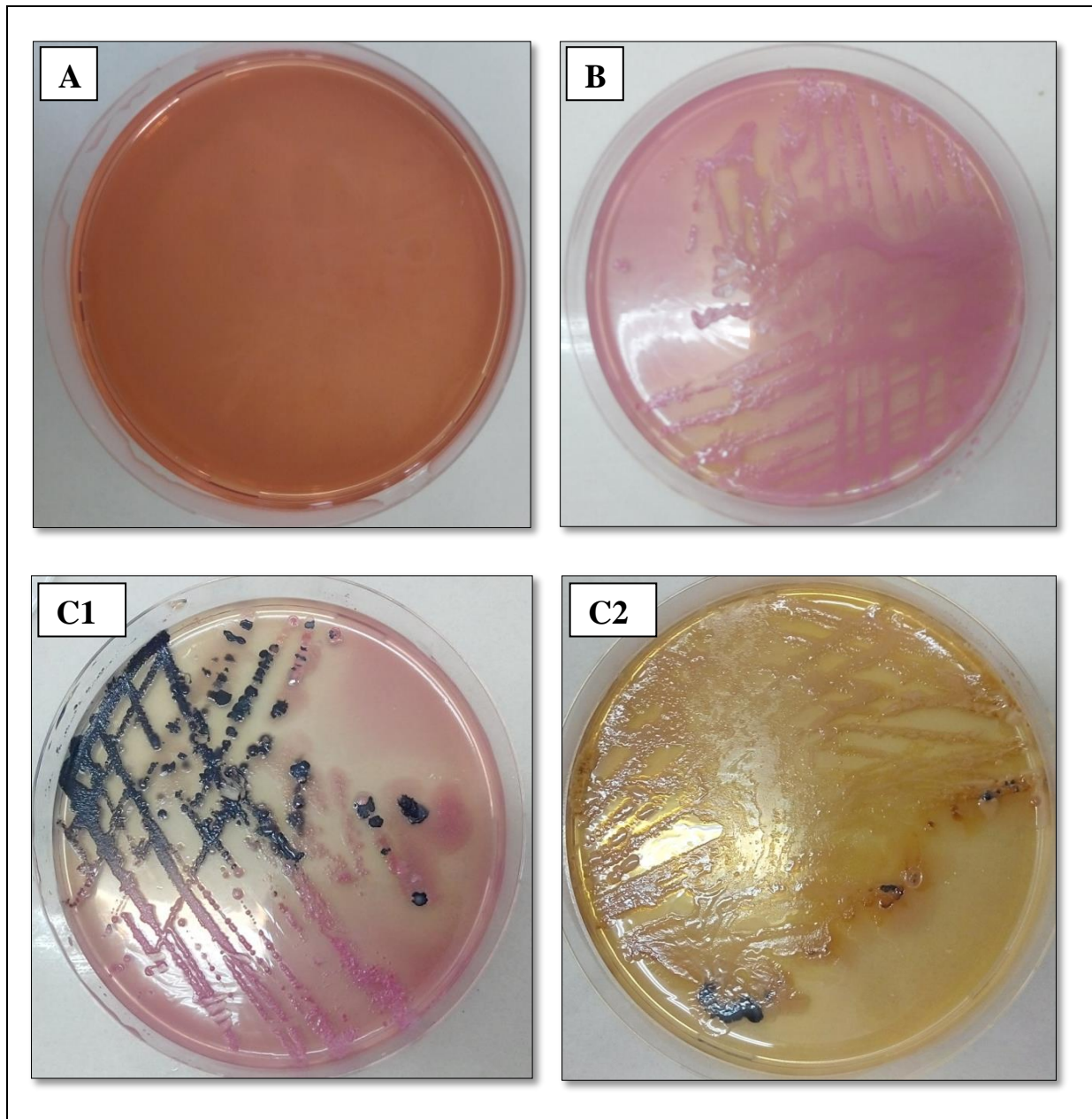


**Figure 19:** Milieu viande foie pour la recherche de *Clostridium sulfito-réducteurs* (résultat négatif).

L'analyse bactériologique des plats cuisinés montre l'absence des colonies typique de *Clostridium* (noires, volumineuses).

#### 1.5. Les salmonelles

Au cours de notre recherche nous avons remarqués après isolement sur milieu SS des colonies incolores à centre noir (aspect typique des salmonelles sur milieu SS dans la dilution 10<sup>-1</sup>). Dans le lieu 01 ces colonies ont été trouvées dans le chawarma grillé (souche 1) et les frites (souche 2). Alors que dans le lieu 02, elles ont été trouvées seulement dans le chawarma cuit sous plaque chauffante (souche 3).



**Figure 20:** Mise en évidence la présence des salmonelles dans le milieu SS.

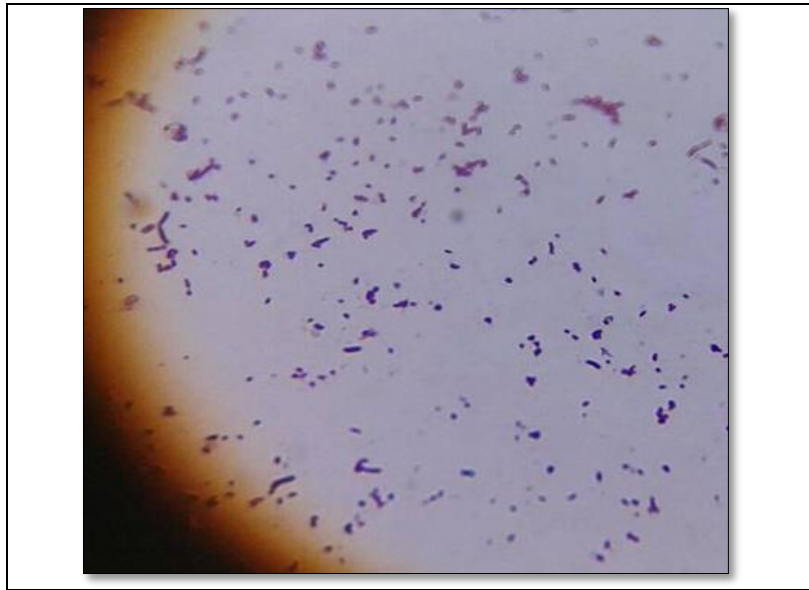
**A.** Avant l'incubation.

**B.** Après l'incubation (absence des colonies typique).

**C1 et C2.** Après l'incubation (présence des colonies typique de salmonelle).

Pour confirmer la présence de salmonelle nous avons réalisé une série des tests d'identification et nous avons noté les résultats suivants :

- Coloration de Gram

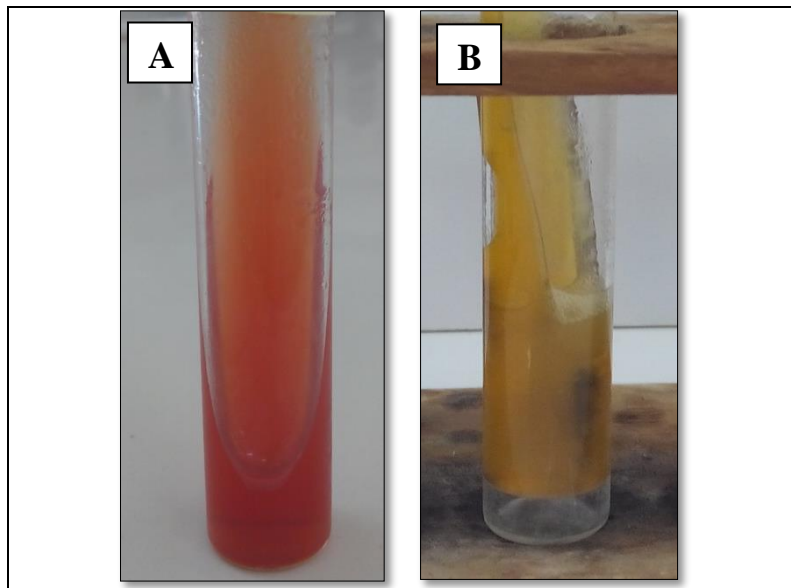


**Figure 21:** Aspect microscopique des souches isolées de milieu SS (coloration de Gram Gx100).

Souche (1) : Bacilles rose (Gram -), mobile.

- **Résultat des tests biochimiques pour la souche 02 isolée à partir de lieu 01.**

- **Test TSI**



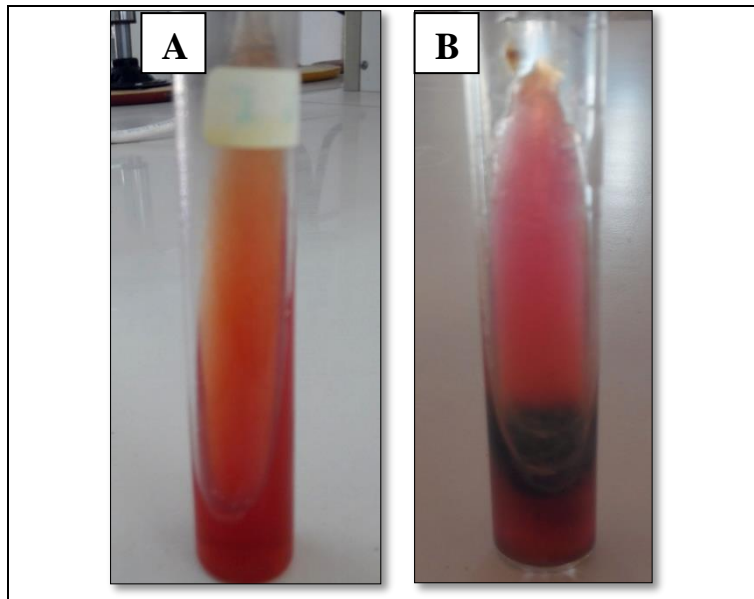
**Figure 22:** Aspect de la souche typique isolée de milieu SS sur milieu TSI.

**A.** Avant l'incubation (Témoin).

**B.** Après l'incubation (37°C pendant 24h).

Photo n°22 montre un virage de couleur due à la fermentation des sucres, une production de H<sub>2</sub>S traduit par la couleur noire ainsi une production de gaz.

## ➤ Test Kligler hajna



**Figure 23:** Aspect de la souche typique isolée de milieu SS sur milieu Kligler hajna.

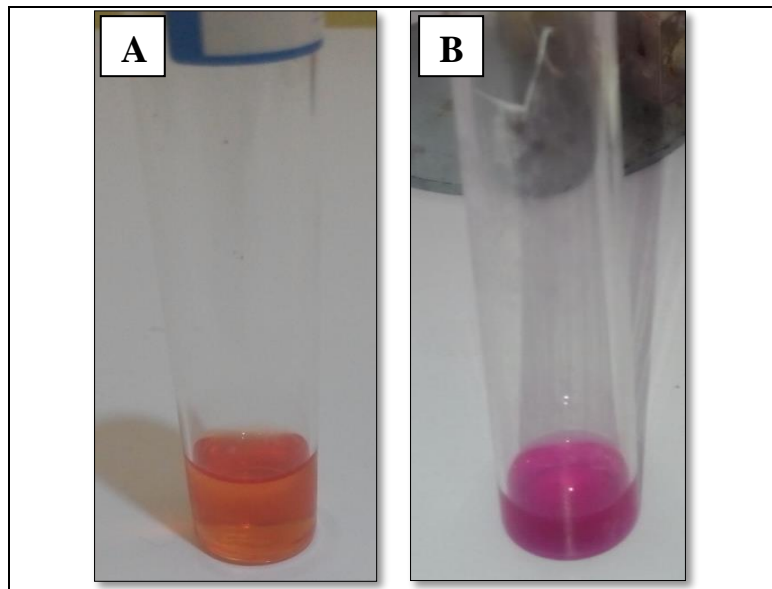
**A.** Avant l'incubation.

**B.** Après l'incubation (37°C pendant 24h).

La photo montre une couleur noire représente la production de  $H_2S$ , culot rouge et pente rouge qui sont les caractères des bactéries de type oxydatif du glucose ou glucose - et lactose-.

## ➤ Test Urée Indole

## Test uréase

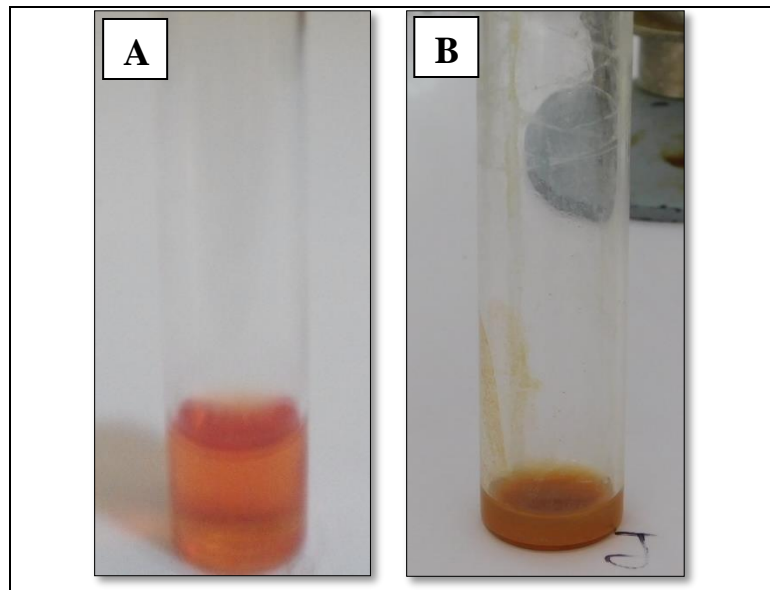


**Figure 24:** Mise en évidence de l'uréase.

**A.** Avant l'incubation.

**B.** Après l'incubation (37°C/24h).

Photos n°24 montre un virage de couleur due à la présence de l'enzyme uréase.

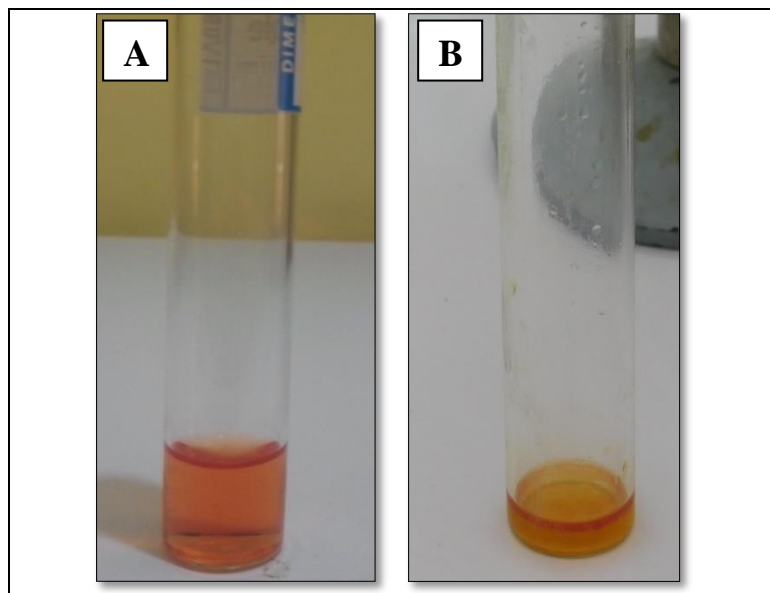
**Test TDA**

**Figure 25:** Mise en évidence de la TDA.

**A.** Avant l'incubation.

**B.** Après l'incubation.

Photo n°25 montre l'apparition d'un précipité brun après l'addition de réactif TDA due à la présence d'acide indole pyruvique issu de la désamination du tryptophane.

**Test Indole**

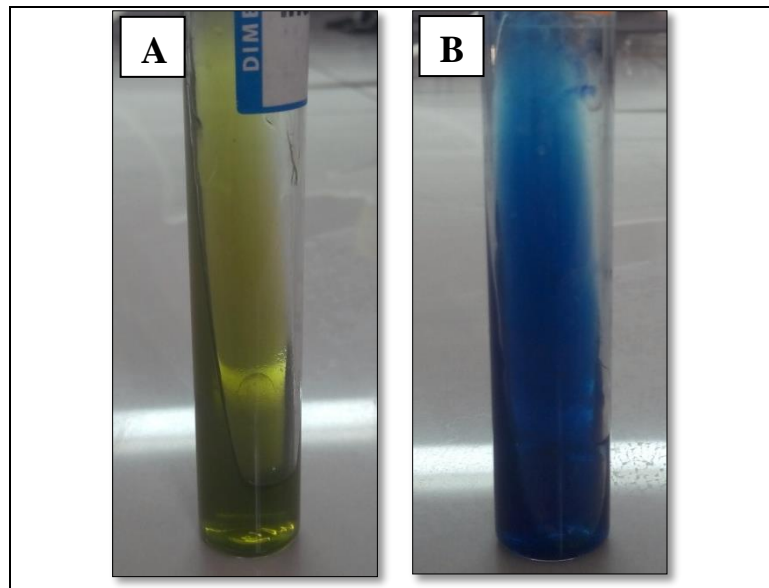
**Figure 26:** Mise en évidence de la production d'indole.

**A.** Avant l'incubation.

**B.** Après l'incubation.

Photo n°26 montre l'apparition d'un anneau rouge juste après l'addition de réactif Kovacs due à la présence de tryptophanase.

## ➤ Test Citrate de Simmons



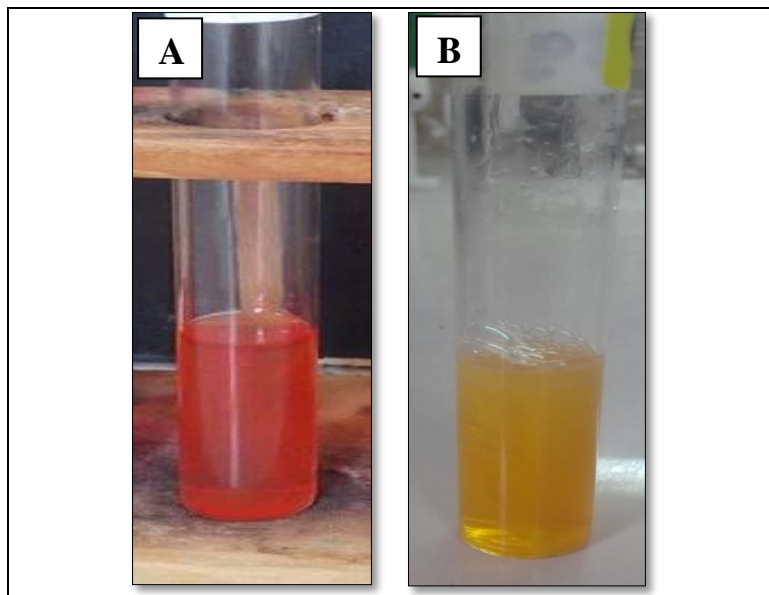
**Figure 27:** Aspect de la souche typique isolée de milieu SS sur milieu Citrate de Simmons.

**A.** Avant l'incubation(Témoin).

**B.** Après l'incubation (Citrate positive).

Photo n° 27 montre un virage de couleur.

## ➤ Test mannitol-mobilité



**Figure 28:** Aspect de la souche typique isolée de milieu SS sur milieu mannitol-mobilité.

**A.** Avant l'incubation(Témoin).

**B.** Après l'incubation (37°C pendant 24h).

Photo n°28 **B** montre :

- Une souche mannitol+ signifié par un virage de couleur

- Une souche de mobilité- signifié par la présence des colonies au lieu de l'ensemencement.
- La présence des bulles d'air montre une respiration des nitrates : Le gaz est alors N<sub>2</sub>.

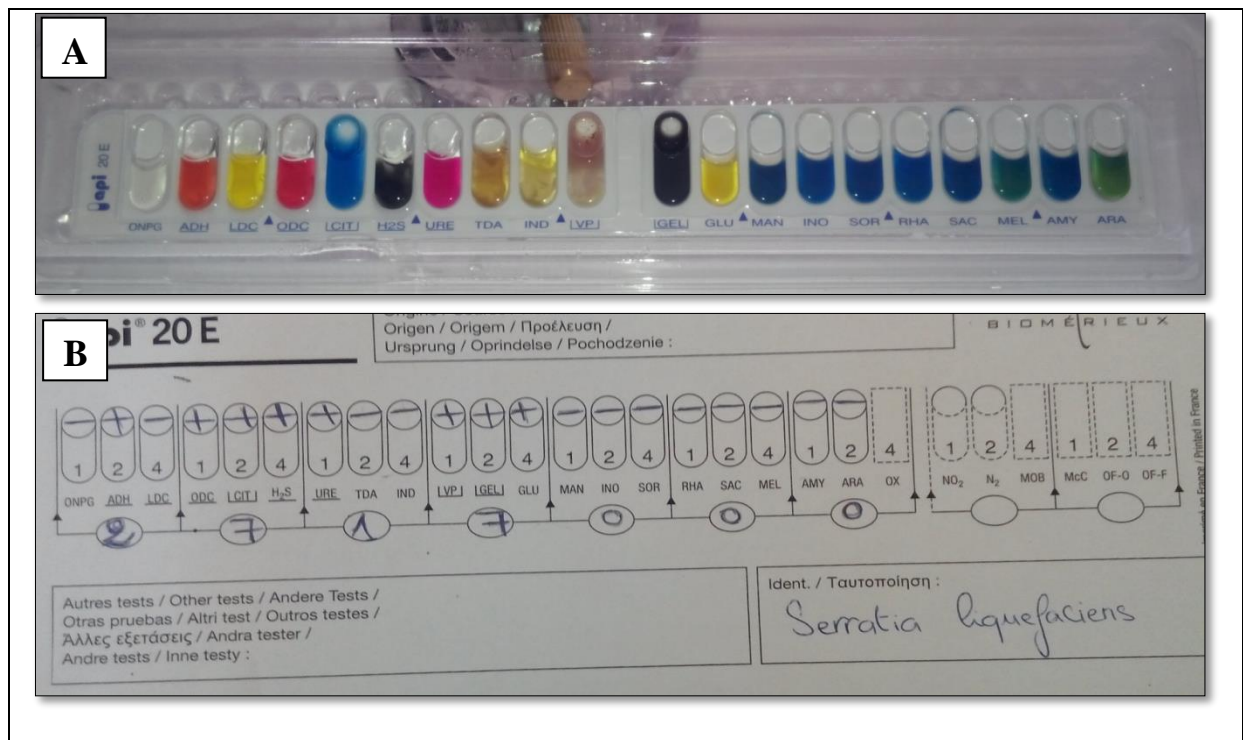
Les résultats des tests biochimiques sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 1:** Résultat des tests biochimiques pour la souche 02 isolée.

Test Souche Isolée	TSI	Kligler hajna	Uréase	TDA	Indole	Citrate	Mannitol	Mobilité
Souche 2	+	+	+	+	+	+	+	-

Il ressort de ce tableau que la souche 02 n'appartient pas au genre *Salmonella* autant que ces bactéries sont : Glucose+, Lactose-, H<sub>2</sub>S+, Uréase-, Indole-, TDA-, Citrate+, mobilité+.

➤ Résultats des API20<sup>E</sup> la souche 01 et 03



**Figure 29:** Résultats de la galerie API 20<sup>E</sup> pour la souche 01.

**A.** Résultat visuelle de test.      **B.** Chiffre correspondant.



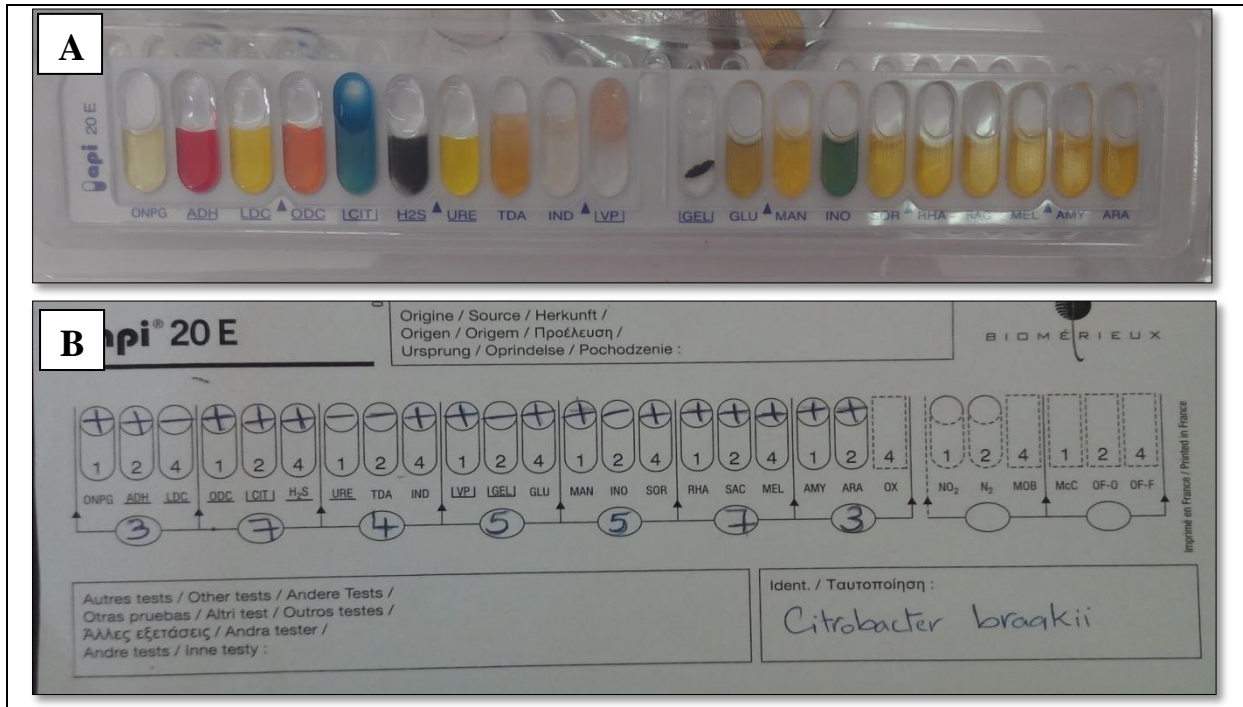


Figure 30: Résultats de la galerie API 20<sup>E</sup> pour la souche 03.

A. Résultat visuelle de test. B. Chiffre correspondant.

Après l'identification morphologique, biochimique et la détermination de code numérique à l'aide du catalogue analytique nous avons trouvé que ces 2 souches isolées sont :

- **Souche 01** : *Serratia liquefaciens* (avec une probabilité brute < 0.0001 % et 1 exclusion) dans l'échantillon de chawarma de lieu 01.
- **Souche 03** : *Citrobacter braakii* (avec une probabilité brute < 0.0047 % et 1 exclusion) dans l'échantillon de chawarma de lieu 02.

## 2. Les résultats de dénombrement

Les critères bactériologiques applicables aux différents repas analysés (chauds et froids), sont définis par l'arrêté ministériel du 27 mai 1998 publié sur le journal officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire n°35.

**Tableau 2:** Résultats de dénombrement des échantillons du plat cuisiné (valeurs en UFC/g).

Echantillon Germe Recherchés	Chawarma		Frites		Salade		Norme
	C1	C2	F1	F2	S1	S2	
<b>Flore Mésophile Aérobie Totale à 30°C</b>	3,7 . 10 <sup>5</sup>	4,4 . 10 <sup>5</sup>	4,6 . 10 <sup>5</sup>	5,1 . 10 <sup>5</sup>	6,4 . 10 <sup>5</sup>	6,8 . 10 <sup>5</sup>	<b>3.10<sup>5</sup></b>
<b>Coliformes Fécaux</b>	1,4 . 10 <sup>2</sup>	2,3 . 10 <sup>2</sup>	2,9 . 10 <sup>2</sup>	3,4 . 10 <sup>2</sup>	5,2 . 10 <sup>2</sup>	2,2 . 10 <sup>2</sup>	<b>10</b>
<i>Staphylococcus Aureus</i>	3,1 . 10 <sup>3</sup>	2,4 . 10 <sup>3</sup>	2,8 . 10 <sup>3</sup>	3,1 . 10 <sup>3</sup>	2,2 . 10 <sup>3</sup>	3,2 . 10 <sup>3</sup>	<b>10<sup>2</sup></b>
<i>Clostridium Sulfito- Réducteur à 46°C</i>	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	<b>30</b>
<i>Salmonelles</i>	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence

C1 : Chawarma grillé de lieu01

C2 : Chawarma cuit sous plaque chauffante de lieu 02

F1 : Frites de lieu 01

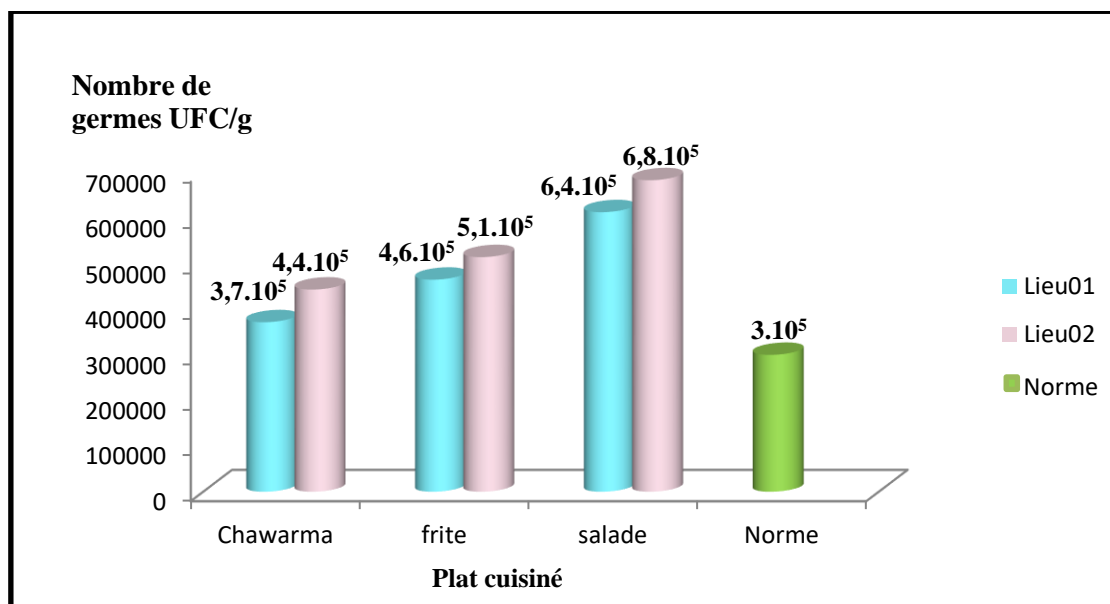
F2 : Frites de lieu 02

S1 : Salade de lieu 01

S2 : Salade de lieu 02

**Etude comparative des résultats de dénombrement entre les plats cuisinés prélevés de lieu 01 contenant le chawarma grillé et de lieu 02 contenant le chawarma cuit sous plaque chauffante**

**2.1. Flore aérobie mésophile totale**



**Figure 31:** Comparaison entre les résultats de dénombrement des FTAM entre le plat contenant le chawarma grillé et le plat contenant le chawarma cuit sous plaque chauffante.

Les résultats obtenus après le dénombrement des flores mésophiles totaux sont mentionnés dans le graphe n°31.

1. Pour le chawarma : les deux échantillons étudiés (grillé et sous plaque chauffante) montrent une contamination par la FTAM respectivement  $3,7 \cdot 10^5$  UFC/g et  $4,4 \cdot 10^5$  UFC/g, ces valeurs dépassent les limites de la norme recommandée par la réglementation Algérienne.

Le nombre des colonies de FTAM pour le chawarma grillé est inférieur par rapport au nombre des colonies pour le chawarma cuit sous plaque chauffante, cela est probablement due à la contamination qu'est apportée après cuisson, c'est-à-dire aux cours de la préparation de plat (manque d'hygiène au niveau des locaux de préparation, hygiène du personnel).

Le chawarma grillé cuit par rayonnement de chaleur provenant de la flamme au niveau des radiants. Une rotation de la masse autour de la source de chaleur permet une cuisson progressive sur toute la surface et à cœur, cette propriété conserve sa qualité bactériologique jusqu'au moment de préparation pour être distribuer, par contre le chawarma cuit sous plaque chauffante qui est après sa cuisson peut être stocké du côté et server plusieurs fois sans réchauffement.

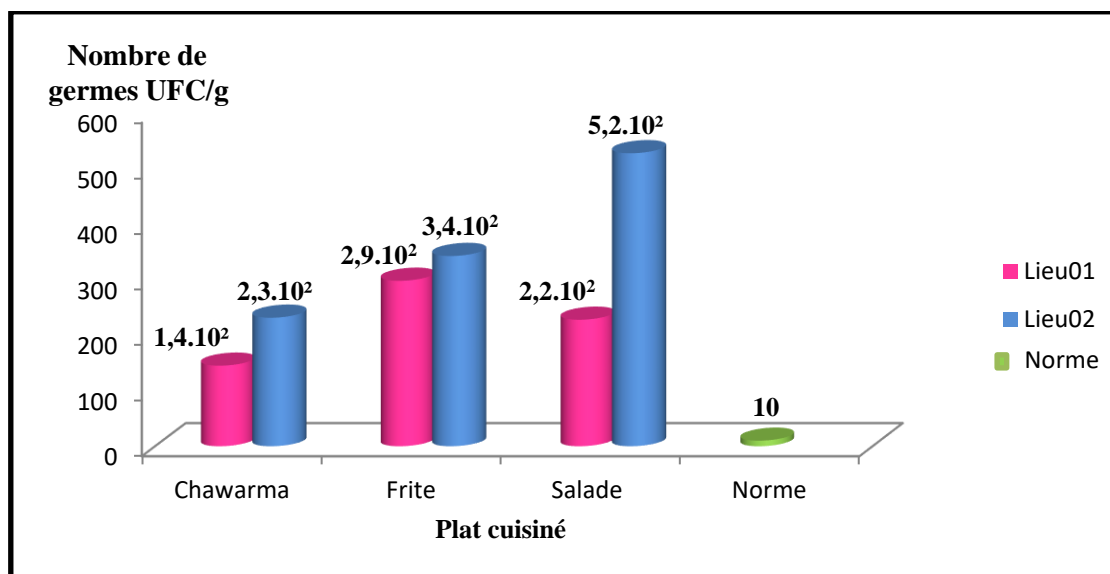
2. Le nombre des colonies de FTAM dans les frites de lieu 01 est :  **$4,6.10^5$  UFC/g**, cette valeur est inférieure au nombre des colonies dans les frites de lieu 02 qui est :  **$1.10^5$ UFC/g**. Les valeurs des deux échantillons dépassent les limites de la norme recommandée par la réglementation Algérienne, cela est probablement due à :
  - La période et la température de conservation jusqu'à la consommation.
3. Le nombre des colonies de FTAM dans la salade de lieu 01 est  **$6,4.10^5$  UFC/g**, ce dernier est inférieur au nombre des colonies dans la salade de lieu 02 qui est  **$6,8.10^5$ UFC/g**. Ces valeurs dépassent les limites de la norme recommandée par la réglementation Algérienne, cela est probablement due à :
  - Le non propreté de l'eau de rinçage, équipement de nettoyage et de découpage
  - Les germes peuvent se coller à leur surface et en cas d'absence de désinfectant ils persistent
  - Absence d'eau courante pour le rinçage

D'après Guiraud JP (2012), les Aérobie Mésophile Revivifiable est un bon indicateur de la qualité générale, de degré de contamination bactérienne, de stabilité des produits ainsi que de la qualité hygiénique des produits alimentaires (Guiraud JP, 2012).

Sur le plan technologique, une flore mésophile nombreuse indique que le processus d'altération microbienne est engagé (dégradation aérobie) (Rosset, 1982).

Ces germes sont considérés comme un témoin de la rupture de la chaîne du chaud, de la chaîne du froid ou d'une durée de conservation trop longue. La flore mésophile reste le meilleur indice d'appréciation de la qualité commerciale du produit.

## 2.2. Coliformes fécaux



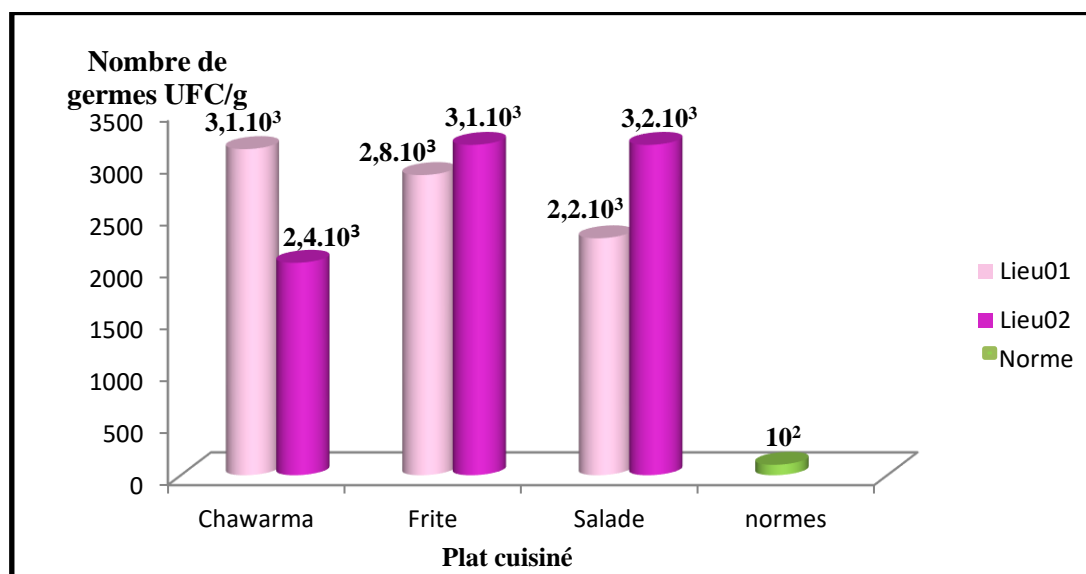
**Figure 32:** Comparaison entre les résultats de dénombrement des Coliformes fécaux entre le plat cuisiné contenant le chawarma grillé et le plat cuisiné contenant le chawarma cuit sous plaque chauffante.

Les résultats obtenus après le dénombrement des coliformes thermotolérants sont mentionnés dans le graphe n°32.

Nous avons remarqué que la charge globale des coliformes thermotolérants dans le plat cuisiné de lieu 02 est élevée par rapport à la charge globale de ces germes dans le plat cuisiné de lieu 01 selon l'ordre suivant :

- $2,3 \cdot 10^2$  UFC/g pour le chawarma cuit sous plaque chauffante et  $1,4 \cdot 10^2$  UFC/g pour le chawarma grillé.
- $3,4 \cdot 10^2$  UFC/g pour les frites de lieu 02 et  $2,9 \cdot 10^2$  UFC/g pour les frites de lieu 01.
- $5,2 \cdot 10^2$  UFC/g pour les salades de lieu 02 et  $2,2 \cdot 10^2$  UFC/g pour les salades de lieu 01.

La contamination par les coliformes fécaux est révélatrice de mauvaises conditions d'hygiène et particulièrement indicatrices de contaminations fécales et par conséquent de défauts survenus lors de l'éviscération ou des comportements non hygiéniques des manipulateurs, vu que les coliformes sont des bactéries saprophytes du tube digestif de l'homme (Basel et al, 1983).

2.3. *Staphylococcus aureus*

**Figure 33:** Comparaison entre les résultats de dénombrement des *Staphylococcus aureus* entre le plat contenant le chawarma grillé et le plat contenant le chawarma cuit sous plaque chauffante.

Les résultats obtenus après dénombrement des *Staphylococcus aureus* sont mentionnés dans le graphe n°33.

Il ressort de ce graphe que la charge des *Staphylococcus aureus* dans tous les échantillons a dépassé les normes maximales suggérées par la réglementation Algérienne :

1. Le chawarma grillé montre une contamination par les *Staphylococcus aureus* plus élevée que celle de chawarma cuit sous plaque chauffante avec  $3,1 \cdot 10^3$  UFC/g et  $2,4 \cdot 10^3$  UFC/g respectivement.
2. Les frites de lieu 01 montre une contamination par les *Staphylococcus aureus* inférieure à celle des frites de lieu 02 avec  $2,8 \cdot 10^3$  UFC/g et  $3,1 \cdot 10^3$  UFC/g respectivement.
3. La salade de lieu 01 montre une contamination par les *Staphylococcus aureus* inférieure à celle de la salade de lieu 02 avec  $2,2 \cdot 10^3$  UFC/g et  $3,2 \cdot 10^3$  UFC/g respectivement.

D'après Buyser et Hennekinne (2009), la présence de ce germe dans l'environnement est vraisemblablement due à une contamination par l'homme ou les animaux (Buyser et Hennekinne, 2009),

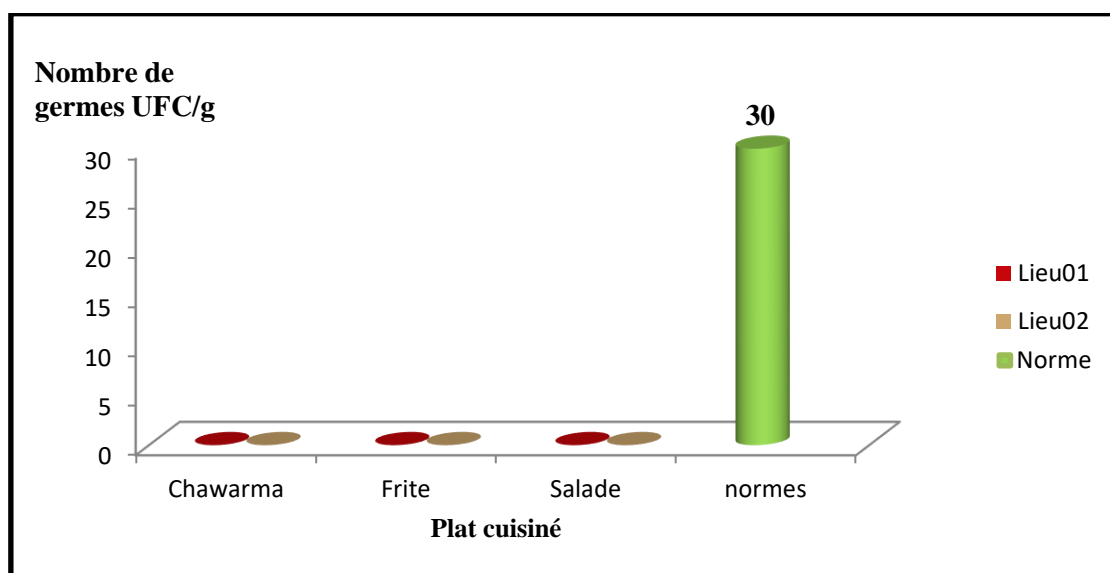
La présence des *S. aureus* témoigne d'une hygiène insuffisante, tient de l'action des contaminants exogènes (le vent, la poussière...) et aussi la contamination d'origine endogène ou humaine à travers les manipulations et les sécrétions (la salive, la sueur), ce germe permet

de déterminer les produits qui présentent le plus de risques d'intoxication staphylococciques grâce à les entérotoxines (Salifou et *al*, 2013).

Alors la contamination dans les différents échantillons est probablement due à :

- La matière première : le lieu d'approvisionnement, les conditions de transport, de préparation et de conservation.
- Mauvaise condition de travail souffrant d'une sinusite ou d'une angine travaillent à cause de l'effectif réduit du personnel.
- L'effet personnel (l'utilisation continu des mains, certains comportements tels que bavardage, l'usage du cure-dent, le port de bracelets, de bagues, il peut même arriver que les personnes ayant des plaies à la main ou au bras).

#### 2.4. *Clostridium Sulfito-Réducteur*



**Figure 34:** Comparaison entre les résultats de dénombrement des *Clostridium Sulfito-Réducteur* entre le plat contenant le chawarma grillé et le plat contenant le chawarma cuit sous plaque chauffante.

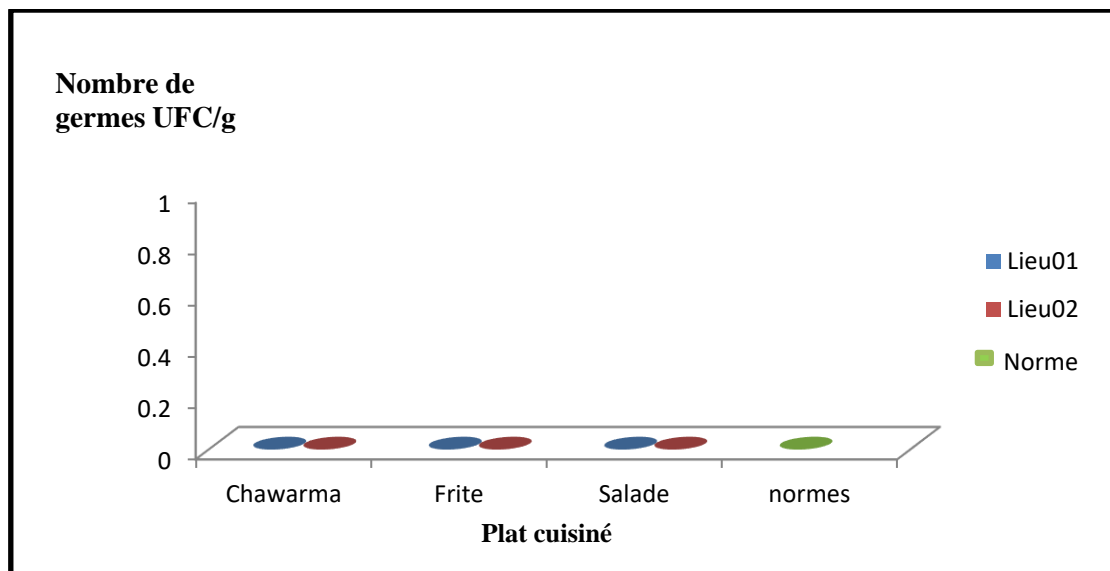
Les résultats obtenus après le dénombrement des *Clostridium Sulfito-Réducteur* sont mentionnés dans le graphe n°34.

Nous avons noté l'absence totale de *Clostridium Sulfito-Réducteur* dans les différents échantillons de plat cuisiné, et selon Rozier (1985), le NaCl et les épices diminuent la résistance des *Clostridium sulfito-réducteurs* (Rozier et *al*, 1985). Leur absence démontre que le plat subit un traitement thermique au niveau de la cuisson.

D'après Daube (2002), la présence de *Clostridium Sulfito-Réducteur* dans la chaîne peut être révélatrice d'indice de contamination fécale et où le germe est ingéré en grand quantité,

cela est considéré comme dangereux pour la santé publique. Ce qui nous informe que ces lieux sont conformes aux normes de la législation Algérienne et Européenne (Daube, 2002).

### 2.5. Salmonelles



**Figure 35:** Comparaison entre les résultats de dénombrement des salmonelles entre le plat cuisiné contenant le chawarma grillé et le plat cuisiné contenant le chawarma cuit sous plaque chauffante.

Les résultats obtenus après le dénombrement des salmonelles sont mentionnés dans le graphe n°35.

Après les tests d'identification nos résultats montrent aucune salmonelle a été isolée au cours de cette étude, par contre ils ont confirmé la présence de *Serratia liquefaciens* à partir de l'échantillon du chawarma grillé et *Citrobacter braakii* à partir de l'échantillon du chawarma cuit sous plaque chauffante.

### 3. Niveau d'hygiène suivant le type de germe

L'interprétation des résultats est faite selon le Journal Officiel de la République Algérienne n=35° mai 1998

Le calcul de la moyenne (**moy**) de contamination des plats cuisinés de lieu 01 et lieu 02 a été réalisé à partir des résultats de dénombrement :

#### 3.1. Niveau d'hygiène des FTAM

- **moy** de plat cuisiné de lieu 01 =  $1,4 \cdot 10^5$  UFC/g
- **moy** de plat cuisiné de lieu 02 =  $1,6 \cdot 10^6$  UFC/g

Notant que :

$$\checkmark \quad m = 3 \cdot 10^5 \text{ UFC/g}$$



$$\checkmark \mathbf{3m} = 9.10^5 \text{ UFC/g}$$

$$\checkmark \mathbf{M} = 3.10^6 \text{ UFC/g}$$

Tous les échantillons des plats cuisinés de lieu 01 ont un niveau de contamination supérieur à **m** et inférieur à **3m**, donc le plat est considéré comme satisfaisant.

Tous les échantillons des plats cuisinés de lieu 02 ont un niveau de contamination supérieur à **3m** et inférieur à **M**, donc le plat est considéré comme acceptable.

### 3.2. Niveau de contamination des coliformes fécaux

- moy de plat cuisiné de lieu 01 =  $3,1 \cdot 10^2 \text{ UFC/g}$

- moy de plat cuisiné de lieu 02 =  $3,9 \cdot 10^2 \text{ UFC/g}$

Notant que :

- ✓  $\mathbf{m} = 10 \text{ UFC/g}$

- ✓  $\mathbf{3m} = 30 \text{ UFC/g}$

- ✓  $\mathbf{M} = 100 \text{ UFC/g}$

Tous les échantillons des plats cuisinés de lieu 01 ont un niveau de contamination supérieur à **M**, donc le plat est considéré comme non satisfaisant.

Tous les échantillons des plats cuisinés de lieu 02 ont un niveau de contamination supérieur à **M**, donc le plat est considéré comme non satisfaisant.

### 3.3. Niveau de contamination des *Staphylococcus aureus*

- moy de plat cuisiné de lieu 01 =  $2,7 \cdot 10^3 \text{ UFC/g}$

- moy de plat cuisiné de lieu 02 =  $2,9 \cdot 10^3 \text{ UFC/g}$

Notant que :

- ✓  $\mathbf{m} = 10^2 \text{ UFC/g}$

- ✓  $\mathbf{3m} = 3 \cdot 10^2 \text{ UFC/g}$

- ✓  $\mathbf{M} = 10^3 \text{ UFC/g}$

Tous les échantillons des plats cuisinés de lieu 01 ont un niveau de contamination supérieur à **M**, donc le plat est considéré non satisfaisant.

Tous les échantillons des plats cuisinés de lieu 02 ont un niveau de contamination supérieur à **M**, donc le plat est considéré comme non satisfaisant.

### 3.4. Niveau de contamination des *Clostridium Sulfito-Réducteur*

Tous les échantillons des plats cuisinés de lieu 01 et lieu 02 démontrent une absence totale de contamination par les *Clostridium Sulfito-Réducteur* donc les deux plats sont considérés comme satisfaisant.

### 3.5. Niveau de contamination des salmonelles

Tous les échantillons des plats cuisinés de lieu 01 et lieu 02 démontrent une absence totale de contamination par les salmonelles mais cela ne signifie pas que les plats sont satisfaisants à cause de la présence de *Serratia liquefaciens* dans le plat 01 et *Citrobacter braakii* dans le plat 02, donc les deux plats sont considérés comme non-conforme.

**Tableau 3:** Niveau de contamination globale des plats cuisinés (de lieu 01 et lieu 02).

	Lieu 01	Lieu 02
<b>FTAM</b>	Satisfaisant	Acceptable
<i>Coliformes fécaux</i>	Non Satisfaisant	Non Satisfaisant
<i>S.aureus</i>	Non Satisfaisant	Non Satisfaisant
<i>Clostridium Sulfuto-Réducteur</i>	Satisfaisant	Satisfaisant
<b>Salmonelles</b>	Satisfaisant	Satisfaisant

## 4. Discussion générale

Notre étude est basée principalement sur la comparaison entre la charge bactérienne des deux types de chawarma cuisent sous deux manière différentes, dans ce contexte nous avons trouvé que le chawarma grillé présente un taux de contamination par les staphylocoques supérieur au taux trouvé dans le chawarma cuit sous plaque chauffante, ce résultat est alarmant car ces germes sont trop dangereux et selon Salifou (2013), présente le plus de risque d'intoxication staphylococcique grâce à les entérotoxines (Salifou et al ,2013).

Par ailleurs, nous avons noté que le chawarma cuit sous plaque chauffante est distingué par un taux de contamination par les coliformes fécaux et les FTAM plus important à ce qui présent dans le chawarma grillé, sachant que ces germes sont généralement des indicateurs de mauvaises conditions d'hygiène, alors que les coliformes fécaux de façon spécifique sont des agents pathogènes et dangereux pour les humains lorsqu'ils sont présents en grand nombre. Ils sont la preuve d'une contamination fécale. Ces résultats sont proches à ceux trouvés par Etchri (1997).

De plus il existe d'autres germes pathogènes qui sont :

*Serratia liquefaciens* isolée à partir de chawarma grillé qu'est d'après Mossad S.B (2008), appartient au genre *Serratia* et à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle est largement distribuée dans la nature, y compris l'eau des rivières, les minéraux, l'eau de source et de table,

les eaux usées domestiques, le poisson, la viande hachée et le lait ou la crème pasteurisés (Mossad S. B, 2008).

La contamination peut être se propage par l'eau souillée lors de lavage des mains des manipulateurs.

*Citrobacter braakii* isolée à partir de chawarma cuit sous plaque chauffante, selon Trivedi MK et al (2015), cette espèce est largement distribuée dans l'eau, le sol et les aliments dans l'environnement. Elle est également couramment trouvée dans les voies urinaires, intestinales et respiratoires de l'homme et des animaux, appartient à la famille des entérobactéries. Elle a été associée à diverses infections nosocomiales et communautaires chez l'homme (Trivedi MK et al, 2015).

Tous les échantillons de plat cuisiné vendu dans les lieux 01 et 02 démontrent une absence des *Clostridium* et de salmonelle. Egalement la présence de FTAM avec un niveau de contamination considérée par JORA comme satisfaisant pour le plat de lieu 01, ces résultats sont proches de celui trouvés par (Diallo M, 2010) qui a trouvé un taux de satisfaction vis-à-vis des mésophiles anaérobies égale à 100% pour l'ensemble des échantillons d'un plat cuisiné. Par ailleurs le plat du lieu 02 est peu satisfaisant (acceptable).

Mais malheureusement nous avons jugé que la qualité des deux plats est non satisfaisante, puisqu'ils ont des taux de contamination par les Coliformes fécaux et les *S.aureus qui* dépassent les normes maximales suggérées par JORA.

# **Conclusion**

---

## Conclusion

La restauration collective revêtant une importance considérable tant pour l'économie du pays que pour la santé des individus.

Toute au long de notre recherche, nous avons essayé d'évaluer la qualité bactériologique et hygiénique des plats cuisinés servis par deux restaurations collectives privées de la wilaya de Biskra.

Trois échantillons différents de plat cuisiné « frite, salade, chawarma grill ou chawarma cuit sous plaque chauffante » ont été analysés afin d'apprécier le niveau de contamination des échantillons par les germes : FTAM, coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, anaérobie sulfite-réducteur, salmonelle et de comparer les résultats obtenus avec les normes citées dans la réglementation Algérienne.

Nous avons pu déceler une différence sur le plan bactériologique des plats cuisinés de deux restaurations collectives, le principale cause prend sa source de la présence de deux différents types de chawarma qui ont des différents niveaux des contaminations et différents types de germes.

Nous avons conclu que la qualité des deux plats ne sont pas conformes aux normes du Journal Officiel Algérien notamment à cause de la présence des coliformes fécaux, des *Staphylococcus aureus* et la présence des entérobactéries tel que *Serratia liquefaciens* dans le chawarma grill qui est responsable des infection urinaires et qui peut révéler des infections nosocomiales résistantes, aussi *Citrobacter braakii* dans le chawarma cuit sous plaque chauffante qui est associée à diverses infections nosocomiales et communautaires chez l'homme , ces germes ont apparu après cuisson, aux cours de préparation pour le servis et ça revient toujours à la cause principal« le manque d'hygiène».

Ces résultats exigent d'autres études et ouvrent de nouvelles perspectives :

- Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des différentes composantes de la cuisine de restauration collective, on estime d'évaluer la propreté des surfaces de travail et les locaux (paillasse, table de travail...) des ustensiles (plateaux, spatule, marmite...) et main des personnes autant au contact avec les aliments.
- Identification et caractérisation des flores fongiques et son influence sur la qualité organoleptique.
- Etude de taux des germes entre le matin et le soir du même jour.

## Recommandation

Les résultats d'analyses bactériologiques montrent que les consommateurs ne sont pas à l'abri des toxi-infections alimentaires collectives. Les risques pour les consommateurs restent présents, sans toutefois être alarmant.

Pour réduire ces risques d'accidents, il convient :

Pour les manipulateurs :

- ❖ Former et sensibiliser le personnel, et les restaurateurs
- ❖ Les vêtements de travail doivent être distincts des vêtements civils
- ❖ Les bijoux (les piercings, les montres ou bagues) sont interdits
- ❖ Sensibiliser à l'interdiction de fumer et de manger dans les cuisines
- ❖ Chaque Manipulateur doit avoir un certificat médical
- ❖ L'utilisation d'une équipe spéciale affectée au nettoyage et à la désinfection est la meilleure solution pour obtenir de bons résultats.

Pour les produits :

- ❖ La manipulation des produits après le stockage au froid (respectent la chaîne du froid et du chaud).
- ❖ Surveillance du produit à la réception, et la qualité de l'emballage.
- ❖ Impliquer les vétérinaires et les hygiénistes à la conception et à la construction des restaurants.

Pour Les locaux :

- ❖ Ils doivent être aérés avec des ventilations filtrantes (vérifiées périodiquement).
  - ❖ Suivre un plan de nettoyage et désinfection avec des produits d'entretien autorisés dans la restauration collective des locaux et matériels.
  - ❖ L'utilisation d'une équipe spéciale affectée au nettoyage et à la désinfection est la meilleure solution pour obtenir de bons résultats.
- ✓ Installation le système HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points) dans restauration collective ceci permet de préserver la qualité des repas contre toutes formes de contamination.

# Références

- AFNOR V 08-057-1. 2004.** Microbiologie des aliments : Méthode de routine pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37°C Technique avec confirmation des colonies, Paris, 15 p.
- Angelo Chiessi. Juin 2005.** Syndicat National de l'équipement des grandes cuisines.
- Balde J. 2002.** Etude de la qualité microbiologique des repas servis à l'hôpital principal de Dakar(HPD). Thèse de doctorant vétérinaire, université Cheikh Anta Diop de Dakar, Pp. 4-5.
- Basel M R., Richter E R., Banwart G J. 1983.** Monitoring Microbial Numbers in Food by Density Centrifugation. Volume 45(3). Applied Environment Microbiological, Pp. 1156-1159.
- Bleu B. 2006.** Contribution à l'étude de L'évolution de la qualité microbiologique du poisson fume en côte d'ivoire et destine à l'exportation. Thèse en vue de l'obtention du doctorat, université Cheikh Anta Diop de Dakar, p. 70.
- Bourgeois C. M., Leveau J. Y. 1991.** Technique d'analyse et contrôle dans les industries agroalimentaires, Vol. 3, Collection Sciences et techniques agro-alimentaires. Ed : APRIA, Pp. 327-334.
- Carbonel X. 2007.** Problématique de la sécurité des aliments en phase de création d'une chaine de restauration rapide. Thèse de doctorat vétérinaire, école Nationale Vétérinaire d'Alfort, p. 30.
- Cristian Carip. 2008.** Microbiologie hygiène. Ed : Lavoisier. Base microbiologique de la diététique, Paris, p. 69.
- Daube G. 2002.** Microorganisme pathogènes et viande : la traçabilité alliée de la sécurité, Belgique, Pp. 11.
- Dalmas G., Gallay A., Espie A., Haeghebaert S., Pihier N., Weill F., De Valk H., Vaillants V., Desenclos J. 2006.** Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 1996 et 2005, p. 51-52.
- D'Aoust J. 2001.**Salmonella. Guide to Food-borne Pathogens. Wiley, New York, Pp. 166-167.
- Dennaï N., Kharrati B., El Yachioui M. 2001.** Appréciation de la qualité microbiologique des carcasses des ovins fraîchement abattus, Annales de médecine vétérinaire 145(4):270-274, Maroc, 274 p.
- Dellaras C. 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Ed La voisier. Technique et documentation. France, Paris, Pp. 32-33, P 376.
- Diallo M. 2010.** Contribution à l'étude de la qualité bactériologique des repas servis par Dakar Catering selon les critères du groupe SERVAIR. Thèse de doctorant vétérinaire, université Cheikh Anta Diop de Dakar, p. 04, p. 75.
- Durand P., 1999.** Technologies des produits de charcuterie et des salaisons. Sciences et Techniques Agroalimentaires, Tec et Doc Lavoisier, Paris, France, 234 p.
- Etchri A. 1997.** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des chawarmas vendus dans les Fast-food de Dakar. Thèse de doctorant vétérinaire, université Cheikh Anta Diop de Dakar, p. 79.



- FAO et OMS. 1976.** Aspect microbiologique de l'hygiène des denrées alimentaires, Série de rapports techniques .Comité mixte FAO/OMS. Genève, 598p.
- Fosse J., Magras C. 2004.** Dangers biologiques et consommation des viandes, 1ère ed. Lavoisier. Paris, 282 p.
- Garcia S & Heredia N. 2009.** Microbiologically safe foods. Foodborne pathogens and toxins. John Wiley & Sons, An Overview. Pp. 15-16.
- Gérin M., Gosselin P., Cordier S. 2003.** Environnement et santé publique-Fondements et pratique. Edition Tec & Doc Edisem, Paris, 1023p.
- Gomsu D. 2005.** Maitrise de l'hygiène et de son appréciation par le dénombrement d'Escherichia coli dans les repas servis par Dakar catering. Thèse de doctorat, université Cheikh Anta Diop de Dakar, p. 5.
- Guirand JP. 1998.** Microbiologie alimentaire. Edition DUNOD, Paris, p. 81, p. 256, p. 277, p. 306, p. 397, p. 436, p. 438, p. 440, p. 441.
- Guiraud J.P. 2012.** Microbiologie Alimentaire, Edition DUNOD, Paris, pp.79-98.
- Guiraud JP., Rosec JP. 2004.** Pratique des normes en microbiologie alimentaire, édition AFNOR, Paris, Pp.3-5, Pp. 38-50, p. 103, Pp.117-118.
- Hance P., Teyssou R., Nicand E., Buisson Y. 1998.** Sources alimentaires des diarrhées bactériennes. Vol 1. Toxi-infections alimentaires collectives. Médecine thérapeutique/pédiatrie, Pp. 25-26.
- Harley P., Wiley K., Woolverton S. 2010.** Microbiologie, 3ème édition, BOECK, 867 p.
- Institut pasteur. 1999.** Guide pratique d'analyse microbiologique des denrées alimentaire.
- ISO 6887-1. 1999.** Microbiologie des aliments : Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales. 5p.
- ISO 483. 2003.** Microbiologie des aliments : Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes – Technique par comptage des colonies à 30°C. 9p.
- Joffin C., Joffin J.N. 1999.** Microbiologie alimentaire, 5<sup>ème</sup> édition centre régional de documentation pédagogique d'AQUITAINE, p. 122.
- Journal Officiel de la République Algérienne. 1998.** Arrêté Ministériel n°35 du 27 mai 1998 : Critères microbiologiques des viandes rouges et de leurs produits dérivés relatif aux produits carnés cuits (pâté, cachir...), 27 p.
- Leclerc N. 2003.** L'assurance qualité en restauration collective : Dispositif de lutte contre les toxi-infections alimentaires collectives, exemple d'application dans une cuisine centrale. Thèse de doctorat vétérinaire, école nationale vétérinaire d'Alfort.
- Louis J. 2007.** Microbiologie alimentaire. Université Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc, p.01.
- Malvy D., Djossou F., Le Bras M .1996.** Les toxi-infections alimentaire collective aspects cliniques et épidémiologiques, vol 33, p. 14.
- Marchal N., Bourdon J.L., Richard C.L.1991.** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. 3 ème Ed, Doin éditeurs, Paris, 509p.

- McSwane, D., Rue, N., Linton, R. 2003.** Essentials of food safety and sanitation. Third Edition, Pearson Education, New Jersey.
- Mfoapon njueya M. L. 2006.** Etude de la contamination des surfaces dans la restauration collective universitaires de Dakar. Thèse de doctorat vétérinaire d'état. Université cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal, p.28.
- Michel C. 2007.** Etude de l'hygiène dans la restauration collective commerciale moderne à Dakar. Thèse en vue de l'obtention du doctorat, université Cheikh Anta Diop de Dakar, p. 21.
- Ministère de la santé et population. 2005.** Bulletin de l'information et de la communication de la santé nuéo 07 juillet.
- Mlle G.2013.** Qualité bactériologique des produits alimentaires commercialisés par Nosopal. Mémoire de Master, école inter-états des sciences et médecine vétérinaire, université Cheikh Anta Diop de Dakar, p. 3.
- Mouloudi F. 2013.** La qualité hygiénique et microbiologique de la restauration collective : cas de restauration universitaire d'Oran. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister en microbiologie fondamentales et appliqué, université d'Oran Es-Senia. Oran, p. 9, p. 40, p. 60.
- Mossad S B. 2008.** The world's first case of *Serratia liquefaciens* intravascular catheter-related suppurative thrombophlebitis and native valve endocarditis, Clinical Microbiology and Infection. Pp. 560.
- Philippe Verger et al. 2005.** Guide des contrats publics de restauration collective, ministère de l'économie des finances de l'industrie. Guide n° J4-, p. 52, p. 56.
- Rosset R et Lamelloise P. 1984.** Multiplication de la microflore initiale et conséquences. In les viandes : Hygiène et technologie. Informations techniques des services vétérinaires, Paris, p. 133.
- Rosset R. 1982.** Les méthodes de stabilisation de la flore microbienne: la réfrigération, In : Hygiène et Technologie de la viande fraîche, Ed CNRS, Paris, Pp.161-167.
- Rozier J., Carlier V., Bolnot F. 1980.** Plats cuisinés et l'avance R.T.V.A. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Paris, p. 6.
- Rozier J., Carlier V., Bolnot F. 1985.** Base microbiologique des aliments de l'hygiène. S.E.P.A.L.C, école Nationale Vétérinaire d'Alfort, Paris, 230 p.
- Salifou C.F.A., Youssao A.K.I., Ahounou G.S., Tougan P.U., Farouguu S., Mensah G.A. et Clinquart A. 2013.** Critères d'appréciation et facteurs de variation des caractéristiques de la carcasse et de qualité de la viande bovine. Annales de médecine Vétérinaire, p.157, pp. 27-42.
- Sally S.2009.** Etude de qualité microbiologique des repas servis au niveau de centre des œuvres universitaire de Dakar (COUD). Thèse de doctorant vétérinaire, université Cheikh Anta Diop de Dakar, Pp. 2-3.
- Samba F.2013.** Contribution à la prévention et au traitement des toxi-infections alimentaires collectives dans restauration universitaire de DAKAR. Thèse en vue de l'obtention du doctorat, université Cheikh Anta Diop de Dakar, p. 22, p. 19.

- Sene B. 1996.** Nettoyage et désinfection dans les industries de traitement de poisson. Thèse de doctorat vétérinaire, université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, P. 5.
- Seydi Malang. 1990.** Importance de l'hygiène des denrées alimentaires d'origine animale (DAOA) pour l'autosuffisance et la sécurité alimentaire en Afrique Intertropicale, Microb.Hyg.Ali. Tunis, p. 16.
- Seydi M., Syllak S., Musabyemyemarya B. 2004.** Niveau de contamination bactérienne des cuisses de poulets congelés importés au Sénégal. PASPA, 2 (3-4) :24.
- Soumare B. 1992.** Etude de l'hygiène de la restauration collective dans l'armée Sénégalaise. Thèse de doctorant vétérinaire, université Cheikh Anta Diop de Dakar, p. 2.
- Stephan S. 2007.** Contribution à l'étude de qualité bactériologique des aliments vendus sur la voie publique de Dakar. Thèse de doctorat vétérinaire, université Cheikh Anta Diop de Dakar, P. 18.
- Trivedi MK., Branton A., Trivedi D., Nayak G., Charan S., et al. 2015.** Phenotyping and 16S rDNA Analysis after Biofield Treatment on *Citrobacter braakii*: A Urinary Pathogen. J Clin Med Genom 3: 129.
- Vallerian. 1999.** Contribution à l'étude de la maîtrise de la qualité hygiénique dans la restauration rapide. Thèse de doctorant vétérinaire, Toulouse, 105p.
- Vézina et Lacroix (2000).** Tests biochimiques classiques pour l'identification des *Pectobacterium* (*erwinia pectinolytiques*) et des *Pseudomonas* fluorescents. Laboratoire de diagnostic en phytoprotection – MAPAQ.
- Wade M. 1996.** Etude de la qualité microbiologique des repas servis au niveau des restaurations du centre des œuvres universitaire de Dakar. Thèse en vue de l'obtention du doctorat, université Cheikh Anta Diop de Dakar, p. 17.

# **Annexes**

## Annexe 01

### La composition de certains milieux de culture

#### Eau peptonée tamponnée :

- Peptone.....20g.
- Chlorure de sodium.....5g.
- Phosphate di sodique.....9g.
- Phosphate mono potassique.....1, 5g.
- Eau distillée.....1000ml.
- pH = 7,2

#### Gélose PCA :

- Péptone.....5g.
- Extrait de viande.....2,5g.
- Glucose (facultatif : présent dans le milieu PCA).....1g.
- Gélose..... 15g.
- pH = 7,2.

#### Gélose Désoxycholate :

- Peptone.....10g.
- Lactose.....10g.
- Désoxycholate de sodium.....0,5/1g.
- Chlorure de sodium.....5g.
- Rouge neutre.....30mg.
- Gélose.....12g.
- Eau distillée.....1000ml.
- pH = 7,1.

#### Gélose Viande Foie sulfito-réducteurs :

- Extrait viande –foie.....30g.
- Glucose.....2g.
- Amidon.....2g.
- Gélose.....12g.
- Eau distillée.....1000ml.
- pH = 7,6.

#### Gélose Baird Parker :

- Peptone :.....10,0g.
- Extrait de viande de boeuf :.....4,0g
- Extrait de levure :.....2,0g.
- Pyruvate de sodium : .....10,0g.
- Glycocolle.....12,0g.
- Chlorure de lithium :.....5,0g.
- Agar-agar :.....20,0g.
- Eau .....1000ml.

A ajouter en conditions stériles juste avant l'ensemencement (sinon détruit par l'autoclavage) :

- Émulsion de jaune d'œuf (*stérile*) : .....50,0ml.
- Tellurite de potassium (*stérile*):.....0,1g.
- pH = 7,2

**Gélose SS :**

- Peptone..... 10g.
- Extrait de viande.....5g.
- Lactose.....10g.
- Sels biliaires.....6g.
- Citrate de sodium.....8,5g.
- Citrate de fer ammoniacal.....1g.
- Thiosulfate de sodium.....8,5g.
- Rouge neutre.....25mg.
- Vert brillant.....0,33mg.
- Gélose.....13g.
- Eau distillée.....1000ml.
- pH = 7.

**Mannitol Mobilité :**

- Peptone trypsique de viande ..... 20g.
- Mannitol ..... 2g.
- Nitrate de sodium ..... 1g.
- Rouge de phénol à 1% ..... 4ml.
- Agar ..... 4g.
- Eau distillée ..... 1000ml.
- pH= 8,1

**TSI : (Triple Sugar Iron)**

- Tryptone.....14,0 g.
- Extrait autolytique de levure.....3,0 g.
- Extrait de viande .....3,0 g.
- Glucose.....1,0 g.
- Lactose .....10,0 g.
- Saccharose .....10,0 g.
- Chlorure de sodium.....5,0 g.
- Thiosulfate de sodium.....0,3 g.
- Citrate ferrique ammoniacal .....0,3 g.
- Rouge de phénol.....24,0 mg.
- Agar agar bactériologique.....13,5.
- Eau distillée .....1000ml.
- pH = 7,4 ± 0,2 à 25°C.

**Milieu urée-indole :**

- L.Tryptophane ..... 3g.
- Phosphate mono potassique ..... 1g.
- Chlorure de sodium ..... 5g.
- Urée ..... 20g.
- Alcool à 95° ..... 10ml.
- Rouge de phénol ..... 0,025g.
- Eau distillée ..... 1000ml

**Réactif de Kovacs :**

- Paradiméthylamino-benzaldehyde ..... 5g.
- Alcool amylique ..... 75ml.
- KCI pur ..... 25ml.



**Figure 36:** Préparation des milieux des cultures.

## Annexe 02

Le mode opératoire de Galerie API 20<sup>E</sup> :

### Préparation

A partir d'une culture pure (de 18 à 24h) d'entérobactérie ou autre bacille à gram identifiable sur la galerie API 20<sup>E</sup>, préparer une suspension bactérienne homogène dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile.

Inoculer la galerie suivant le mode opératoire du fabricant, en notant que :

- Cupules simples ex : GEL Remplir la partie inférieure.
- Cupules encadrées ex : |CIT| ; |VP| Remplir la cupule en entier.
- Cupules soulignées ex : H<sub>2</sub>S Remplir la partie inférieure puis compléter avec de l'huile de paraffine.

-Incuber à 37°C pendant 18 à 24h (Dellaras, 2007).

### Lecture de La Galerie API20<sup>E</sup>

La lecture de la galerie se fait généralement au bas de chaque microtube sauf VP (Pyruvate de Sodium), IND (Indole) et TDA (Tryptophane Désaminase). Lire les réactions de la façon suivante :

□VP (Pyruvate de Sodium) - Ajouter une goutte d'hydroxyde de potassium et une goutte d'alpha-naphtol. Attendre 10 minutes avant de faire la lecture de la réaction.

□TDA (Tryptophane Désaminase) - Ajouter une goutte de chlorure ferrique. Lire la réaction immédiatement.

□IND (Indole) - Ajouter une goutte du réactif de James. Lire la réaction immédiatement. Comparer la couleur obtenue (consulter le tableau des résultats) pour chaque cupule et inscrire le résultat sur la fiche de résultats.

Pour déterminer le code de 7 chiffres, il faut additionner les résultats des réactions, lesquelles sont regroupées par ensemble de trois microtubes. Une réaction négative donne 0 point tandis qu'une réaction positive donne 1, 2 ou 4 points (Vezina et Lacroix, 2000).

**Tableau 4:** Résultats de la lecture de la galerie API 20<sup>E</sup>.

Tests	Composants actifs (réaction / enzymes)	Résultats	
		Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl-β - Dgalactopyranoside β-galactosie)	Incolore	Jaune (et coloration jaune légère)
ADH	L-arginine (arginine dihydrolase)	Jaune	Rouge/Orange
LDC	L-lysine (lysine décarboxylase)		
ODC	L-ornithine (Ornithine Décarboxylase)		
CIT	Trisodium citrate (utilisation)	Vert pale/jaune	Bleu-vert/bleu (dans la cupule)
H2S	Sodium thiosulfate (Production d'H2S)	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée (uréase)	Jaune	Rouge/orangé
TDA	L-tryptophane (Tryptophane Désaminase)	Jaune	Marron-Rougeâtre
IND	L-tryptophane (production d'indole)	Incolore vert pale/jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate (production d'acétoine)	Incolore	Rose/rouge (après 10 minutes, noter négatif)
GEL	Gélatine d'origine bovine (Gélatinase)	Pas de diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D-mannitol		
INO	Inositol		
SOR	D-sorbitol		
RHA	L-rhamnose		
SAC	D-saccharose		
MEL	D-melibiose		
AMY	Amygdaline		
ARA	L-arabinose		



## Annexe 03

Le protocole utilisé pour la coloration de Gram

**Réactifs :** Violet de Gentiane, Lugol, Ethanol, Fushine, Huile d'immersion.

### **MODE OPERATOIRE**

#### **1- Préparation de frottis**

-Dans une lame propre déposer une goutte d'eau physiologique et ajouter une colonie isolée d'une boîte et étaler bien sur la surface de la lame.

-Fixé le frottis sur la flamme.

#### **2- La coloration**

-Ajouter une goutte de Violet de Gentiane au frottis pour la coloration pendant 1 minute, après rincer par l'eau distillée.

-Ajouter une goutte de Lugol pour fixer la couleur et rincer avec l'eau distillée après 30 secondes de la fixation.

-Rincer par l'Ethanol pour la décoloration.

-Ajouter une goutte de Fushine et laisser 30 secondes a 1minute, puis rincer toujours avec l'eau distillée laissé la lame sécher dans une zone stérile de 10 à 15 min.

#### **3- Observation**

-Observer par un microscope optique (Grossissement x 100) après l'ajout d'une goutte d'huile d'immersion.

## Annexe 04

Les critères microbiologiques des viandes et leurs produits dérivés fixé par le ministère du commerce selon le journal officiel algérien n°35 du mai 1998.

12 JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35		Aouel Satar 1419 27 mai 1998	
TABLEAU II (suite)			
PRODUITS	n	c	m
<b>5. Abats crus :</b>			
— germes aérobies à 30° C	5	3	5.10 <sup>6</sup>
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
<b>6. Produits carnés cuits : patés, cachir, etc... :</b>			
— germes aérobies à 30° C	5	2	3.10 <sup>5</sup>
— coliformes fécaux	5	2	10
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	10 <sup>2</sup>
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	2	30
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
<b>7. Merguez ou autres produits carnés crus :</b>			
— coliformes fécaux	5	2	10 <sup>2</sup>
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	10 <sup>2</sup>
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	2	30
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
<b>8. Préparation de viandes prêtes pour la cuisson (rôtis, escalopes...) :</b>			
— <i>Escherichia coli</i>	5	2	5.10 <sup>2</sup>
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	5.10 <sup>2</sup>
— <i>Salmonella</i>	5	0	abs/g

## Annexe 05

Interprétation des résultats d'analyses microbiologiques selon JORA 1998.

14	JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35	Aouel Safar 1419 27 mai 1998				
ANNEXE III						
<b>TECHNIQUE DE PRISE D'ESSAI ET INTERPRETATION DES RESULTATS D'ANALYSES MICROBIOLOGIQUES</b>						
1. <b>Technique de prise d'essai :</b>						
La prise d'essai destinée à la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales porte :						
— sur les parties superficielles et profondes, notamment pour les produits en tranches, hâchés, les plats cuisinés à l'avance... ;						
— sur la partie profonde après cautérisation de la surface du produit, notamment pour les viandes (pièces), les volailles (pièces), les produits carnés (pièces) et les poissons entiers ;						
— sur le produit homogénéisé ou sur les parties superficielles et profondes, selon la nature du produit liquide ou semi-liquide, notamment les produits laitiers.						
Dans le cas des examens microbiologiques effectués à la suite de toxi-infections alimentaires, il est nécessaire de pratiquer la recherche des germes pathogènes, toxigènes et/ou de leurs toxines, aussi bien en surface qu'en profondeur.						
2. <b>Interprétation des résultats d'analyses microbiologiques :</b>						
En matière d'échantillonnage et d'interprétation des résultats d'analyse, il est tenu compte, dans la présente annexe, des travaux menés en la matière au sein des organisations internationales.						
2. 1 <b>Plan à trois classes</b>						
2. 1. 1 <b>Principe :</b>						
Ce plan est ainsi désigné parce que les résultats des examens interprétés sur cette base permettent de fixer trois classes de contamination, à savoir :						
<ul style="list-style-type: none"> <li>• celle inférieure ou égale au critère "m" ;</li> <li>• celle comprise entre le critère "m" et le seuil "M" ;</li> <li>• celle supérieure au seuil "M".</li> </ul>						
M : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique ;						
M = 10 m lors du dénombrement effectué en milieu solide						
M = 30 m lors du dénombrement effectué en milieu liquide						
n : nombre d'unités composant l'échantillon ;						
c : nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs situées entre "m" et "M".						
2. 1. 2 <b>Application pratique :</b>						
2. 1. 2. 1 <b>La qualité du lot est considérée comme satisfaisante ou acceptable en application de l'article 4 de l'arrêté du 23 juillet 1994 lorsque, aucun résultat ne dépasse M :</b>						
a — Les valeurs observées sont :						
<table style="border: none;"> <tr> <td style="padding-right: 10px;">&lt; 3 m lors d'emploi de milieu solide</td> <td rowspan="2" style="font-size: 3em; padding: 0 10px;">}</td> <td rowspan="2" style="vertical-align: middle;">qualité satisfaisante</td> </tr> <tr> <td>&lt; 10 m lors d'emploi de milieu liquide</td> </tr> </table>			< 3 m lors d'emploi de milieu solide	}	qualité satisfaisante	< 10 m lors d'emploi de milieu liquide
< 3 m lors d'emploi de milieu solide	}	qualité satisfaisante				
< 10 m lors d'emploi de milieu liquide						
b — les valeurs observées sont comprises :						
<table style="border: none;"> <tr> <td style="padding-right: 10px;">entre 3 m et 10 m (=M) en milieu solide,</td> <td rowspan="2" style="font-size: 3em; padding: 0 10px;">}</td> <td rowspan="2" style="vertical-align: middle;">qualité acceptable</td> </tr> <tr> <td>entre 10 m et 30 m (=M) en milieu liquide,</td> </tr> </table>			entre 3 m et 10 m (=M) en milieu solide,	}	qualité acceptable	entre 10 m et 30 m (=M) en milieu liquide,
entre 3 m et 10 m (=M) en milieu solide,	}	qualité acceptable				
entre 10 m et 30 m (=M) en milieu liquide,						
et c/n inférieur ou égal au rapport fixé; par exemple c/n < 2/5 avec le plan n = 5 et c = 2 (ou tout autre plan d'efficacité équivalente ou supérieure)						
2. 1. 2. 2 <b>Les résultats sont considérés comme non satisfaisants :</b>						
a — lorsque c/n est supérieur ou égal au rapport fixé :						
b — dans tous les cas où les résultats obtenus sont supérieurs à M.						

## Annexe 06

Aouel Safar 1419  
27 mai 1998

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35 25

Dans le cas des *Staphylococcus aureus*, la valeur "S" ne doit jamais excéder  $5 \cdot 10^4$  germes par gramme de produit.

### 2.2 Plan à deux classes :

Ce plan est ainsi désigné car les résultats des examens interprétés sur cette base permettent de déterminer deux classes de contamination.

Ce type de plan qui n'accepte aucune tolérance, même de caractère analytique, correspond souvent aux expressions :

— "absence dans" : le résultat est considéré comme satisfaisant ;

— "présence dans" : le résultat est considéré comme non satisfaisant ; dans ce cas, le produit est déclaré impropre à la consommation.

Le plan à deux classes répartit les unités d'échantillon en deux catégories :

— catégorie satisfaisante, si le résultat d'analyse est inférieur à "m" ; le produit est propre à la consommation ;

— catégorie non satisfaisante, lorsque le résultat d'analyse est supérieur à "m" ; le produit est déclaré impropre à la consommation.

### Remarque :

Ce plan est applicable aux contaminations par les *Salmonella* et les *Listeria monocytogenes* en particulier.

**Arrêté du 9 Moharram 1419 correspondant au 6 mai 1998 portant délégation de signature au directeur de l'organisation et de la promotion des échanges commerciaux en qualité d'ordonnateur du compte d'affectation spéciale n° 302-084, intitulé "Fonds spécial pour la promotion des exportations".**

Le ministre du commerce,

Vu l'ordonnance n° 95-27 du 8 Chaâbane 1416 correspondant au 30 décembre 1995 portant loi de finances pour 1996, notamment ses articles 111 et 195;

Vu l'ordonnance n° 96-31 du 19 Chaâbane 1417 correspondant au 30 décembre 1996 portant loi de finances pour 1997, notamment son article 129;

Vu le décret exécutif n° 94-207 du 7 Safar 1415 correspondant au 16 juillet 1994 fixant les attributions du ministre du commerce;

Vu le décret exécutif n° 94-208 du 7 Safar 1415 correspondant au 16 juillet 1994 portant organisation de l'administration centrale du ministère du commerce;

Vu le décret exécutif n° 96-205 du 18 Moharram 1417 correspondant au 5 juin 1996 fixant les modalités de fonctionnement du compte d'affectation spéciale n° 302-084, intitulé "Fonds spécial pour la promotion des exportations";

Vu le décret exécutif n° 97-231 du 20 Safar 1418 correspondant au 25 juin 1997 portant nomination des membres du Gouvernement ;

## ملخص:

يعتبر الطعام جزءاً أساسياً من المطاعم الجماعية لذا فهو عرضة للتلوث البكتيري. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الجودة لنوعين من الأطباق المطبوخة من قبل اثنين من المطاعم في مدينة بسكرة وإجراء مقارنة بينهما.

شملت هذه الدراسة تعداد مجموع البكتيريا (البكتيريا الهوائية، القولونيات البرازية، السالمونيلا، المكورات العنقودية، واللاهوائيات مرجعة السولفيت). وفقا لنتائج الاختبارات تبين ان مطعم 01 ذو جودة مرضية بالنسبة لبكتيريا الهوائية ( $1,4 \cdot 10^5$  UFC/g)، مرضية للسالمونيلا واللاهوائيات مرجعة السولفيت (غياب تام)، أما بخصوص بكتيريا القولون البرازية و المكورات العنقودية فالنوعية غير مرضية ( $3,1 \cdot 10^2$  UFC/g و  $2,7 \cdot 10^3$  UFC/g على التوالي) مع ظهور سيراتيا ليكوفسيا في شاورما مطبوخة على ماكنة. بالنسبة للمطعم 02 فالنوعية مقبولة بالنسبة للبكتيريا الهوائية ( $1,6 \cdot 10^6$  UFC/g) و مرضية للسالمونيلا واللاهوائيات مرجعة السولفيت بسبب الغياب التام، أما بخصوص بكتيريا القولون البرازية و المكورات العنقودية فالنوعية غير مرضية ( $3,9 \cdot 10^2$  UFC/g و  $2,9 \cdot 10^3$  UFC/g على التوالي) مع وجود بكتيريا سيتوبكتار براكي الاثية من شاورما مطبوخة على صحن ساخن.

في الختام يمكن القول أن هذه المطاعم ملوثة بنسب مختلفة، واستهلاك الطعام في هذه المطاعم خطر على صحة المستهلك وقد يكون السبب للتسمم الغذائي الجماعي، وهنا تأتي أهمية النظافة التي تقلل من خطر التسمم وبالتالي تجنب الخسائر الاقتصادية.

الكلمات المفتاحية: وجبات جاهزة، التمرين الجماعي، النظافة، الجودة البكتريولوجية، تسمم غذائي جماعي، شاورما

## Résumé :

Les aliments sont partie indispensable de restauration collectives elles sont alors vulnérable à la contamination bactérienne.

L'objectif de cette étude est d'apprécier la qualité bactériologique de deux types des plats cuisinés servis par deux RC au niveau de la ville de Biskra et de faire une comparaison entre eux.

L'analyse bactériologique a consisté en dénombrer la charge bactérienne globale (Flore mésophile totale, coliformes fécaux, *Salmonella*, *S. aureus*, *Clostridium perfringens*).

Nos résultats montrent que la qualité de site 01 est satisfaisante pour FTAM ( $1,4 \cdot 10^5$  UFC/g), *Salmonelle* et *Clostridium sulfitoréducteur* (absence totale), et non satisfaisant pour coliforme fécaux et *S. aureus* ( $3,1 \cdot 10^2$  UFC/g et  $2,7 \cdot 10^3$  UFC/g respectivement) et présence *Serratia liquefaciens* isolée apartir de chawarma grille. Pour site 02 est acceptable pour les FTAM ( $1,6 \cdot 10^6$  UFC/g), satisfaisant pour *Salmonelle* et *Clostridium sulfit oréducteur* (absence totale) et non satisfaisante pour coliformes fécaux et *S. aureus* avec ( $3,9 \cdot 10^2$  UFC/g et  $2,9 \cdot 10^3$  UFC/g) et *Citrobacter braakii* isolée a partir de chawarma sur plaque chauffante.

En conclusion on peut dire que ces deux établissements ont un niveau de contamination qui présenter un danger plus ou moins important sur la santé des consommateurs et provoque des TIAC, ici vient l'importance de l'hygiène qui réduit le risque à les TIAC et pertes économiques.

Mots clés : plats cuisinés, restauration collective, TIAC, hygiène, qualité bactériologique, chawarma.

## Abstract :

Foods are an essential part of collective restoration so they are vulnerable to bacterial contamination.

The objective of this study is to assess the bacteriological quality of two types of cooked dishes served by two RCs in the city of Biskra and to make a comparison between them. Bacteriological analyzes consisted in counting the over all bacterial load (total mesophilic flora, faecal coliforms, *Salmonella*, *S. aureus*, *Clostridium perfringens*).

Our results show that the quality of site 01 is satisfactory for FTAM ( $1,4 \cdot 10^5$  CFU / g), *Salmonella* and *Clostridium sulpheducer* (total absence), and unsatisfactory for faecal coliform and *S. aureus* ( $3,1 \cdot 10^2$  CFU / g and  $2,7 \cdot 10^3$  CFU / g respectively), and presence *Serratia liquefaciens* isolated from chawarma grid. For site 02 is acceptable for FTAM ( $1,6 \cdot 10^6$  CFU / g), satisfactory for *Salmonella* and *Clostridium sulfitoreducer* (total absence) and unsatisfactory for faecal coliforms and *S. aureus* with  $3,9 \cdot 10^2$  CFU / g and  $2,9 \cdot 10^3$  CFU / g, and *Citrobacter braakii* isolated from chawarma on hot plate.

In conclusion we can say that these two establishments have almost the same level of contamination and which can present a greater or lesser danger on the health of the consumers and causes of TIAC, here comes the importance of the hygiene which reduces the risk to TIAC and economic losses.

Keywords : cooked dishes, collective restoration, hygiene, bacteriological quality, collective food poisoning infection risk, chawarma.