

## Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Résumé en anglais	
Résumé en arabe	
Table des matières	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Abréviations	
Introduction .....	1

## CHAPITRE I : Synthèse Bibliographique

1. L'HYGIENE ET LA SECURITE DES ALIMENTS .....	3
1.1. Définitions de l'hygiène et la sécurité des aliments .....	3
1.2. Sécurités alimentaires .....	3
1.3. Notion de qualité hygiénique .....	3
1.4. Différences entre l'hygiène des aliments et l'hygiène alimentaire .....	4
1.4.1. Hygiène des aliments .....	4
1.4.2. Maîtrise de la sécurité des aliments .....	4
1.4.2.1. Les dangers .....	5
A. Facteurs extrinsèques .....	8
B. Facteurs intrinsèques .....	9
2. LA MICROBIOLOGIE DES PLATS CUISINES .....	10
2.1. L'activité des plats cuisinés .....	10
2.2. Présentation des plats cuisinés .....	12
2.3. Technologie des plats cuisinés .....	12
2.3.1. Obligation de moyens hygiéniques .....	13
2.3.2. Obligation de résultats hygiéniques .....	13
2.4. Surfaces de contact des plats cuisinés et les ustensiles .....	14
2.5. Applications à la sécurité des aliments .....	15
3. L'HYGIENE ET LA SECURITE ALIMENTAIRE DANS LES RESTAURATIONS COLLECTIVES .....	15
3.1. Conception générale .....	15
3.1.1. Principes généraux de l'hygiène dans les industries agro-alimentaires .....	15
3.1.1.1. Principe de « la marche avant » .....	16
3.1.1.2. Séparation des secteurs .....	18
3.1.1.3. Non-entrecroisement des courants de circulation .....	18
3.1.1.4. Aménagement rationnel .....	18
3.1.1.5. Utilisation précoce et généralisée du froid et de la chaleur .....	19
3.1.1.6. Ordre, nettoyage et désinfection appropriés .....	19
3.1.1.7. Personnel compétant .....	19
3.1.2. Principe de construction .....	19
3.2. Différents types de locaux .....	21
3.2.1. Locaux techniques .....	21
3.2.1.1. Magasins .....	21

3.2.1.2. Locaux de préparation .....	21
3.2.1.3. Locaux pour poubelles.....	21
3.2.1.4. Locaux administratifs.....	22
3.2.2. Réfectoire.....	22
3.2.2.1. Cabinets d'aisances.....	23
3.2.2.2. Les vestiaires.....	23
3.3. Hygiène des locaux.....	23
3.3.1. Entretien physique.....	23
3.3.2. Entretien hygiénique.....	24
3.3.3. Lutte contre les nuisibles.....	24
3.4. Equipement.....	24
3.4.1. Machines et appareils.....	24
3.4.2. Entretien des équipements.....	25
3.4.3. Petit Matériel.....	25
3.5. Nettoyage et Désinfection.....	25
3.5.1. Nettoyage.....	25
3.5.2. Agents de nettoyage.....	27
3.5.3. Désinfection.....	28
3.5.4. Agents de désinfection.....	30
3.5.5. Mécanismes de la désinfection.....	31
3.5.6. Protocole de nettoyage et de désinfection.....	31
3.6. Personnel .....	33
3.6.1. Etat de santé.....	33
3.6.2. Hygiène corporelle.....	33
3.6.3. Propreté vestimentaire.....	33
3.6.4. Formation professionnelle.....	34
3.7. Denrées alimentaires .....	37
4. PLAN HACCP.....	36
5. TOXI-INFECTION ALIMENTAIRE COLLECTIVE.....	39
5.1. Définition.....	39
5.2. Physiopathologie.....	39
5.3. Les principaux germes pathogènes responsables des TIAC.....	40
5.3.1. <i>Salmonellose</i> .....	40
5.3.1.1. Maladie humaine ( <i>Salmonellose</i> ).....	40
5.3.1.2. Aliments impliqués.....	41
5.3.2. <i>Staphylococcus aureus et enterotoxines staphylococcique</i> .....	41
5.3.2.1. Maladie humaine.....	42
5.3.2.2. Aliments impliqués.....	42
5.3.3. <i>Clostridium perfringens</i> .....	43
5.3.3.1. Maladie humaine.....	43
5.3.3.2. Aliments impliqués.....	44
5.3.4. <i>Clostridium botulinum</i> .....	44
5.3.4.1. Maladie humaine.....	44
5.3.4.2. Aliments impliqués.....	45
5.3.5. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	45
5.3.5.1. Maladie humaine.....	45
5.3.5.2. Aliments impliqués.....	46
5.3.6. <i>Bacillus cereus</i> .....	46

5.3.6.1. Maladie humaine.....	46
5.3.6.2. Aliments impliqués.....	47
5.3.7. <i>Campylobacter</i> .....	47
5.3.7.1. Maladie humaine ( <i>Campylobactériose</i> ).....	48
5.3.7.2. Aliments impliqués.....	48
5.4. Evolution de TIAC en Algérie.....	49

**CHAPITRE II : matériels et méthodes**

1. Echantillonnage.....	51
2. Matériel de prélèvement.....	51
3. Matériel de laboratoire.....	52
4. Les Analyses microbiologiques.....	52
4.1. Nombre et nature des prélèvements des denrées alimentaires.....	52
4.2. Nombre et nature des prélèvements des surfaces et les mains.....	54
5. Prélèvements des échantillons.....	54
5.1. Ecouvillonnage.....	55
5.2. Prélèvement des échantillons des denrées alimentaires.....	55
6. Les germes recherchés pour les analyses des denrées alimentaires.....	55
7. Les germes recherchés pour les analyses des surfaces et les mains.....	56
8. Techniques d'analyses bactériologiques des denrées alimentaires.....	56
8.1. Préparation de l'échantillon pour l'analyse.....	56
8.2. Recherche des flores mésophiles aérobies totaux à 30°C (FMAT).....	56
8.3. Recherche des coliformes totaux à 37°C (teste de présomption).....	57
8.4. Recherche des coliformes fécaux à 44°C (test de confirmation).....	58
8.5. Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	58
8.5.1. Enrichissement à 37°C.....	58
8.5.2. L'isolement à 37°C.....	59
8.5.3. Identification des résultats.....	59
8.5.3.1. Prés-identification des <i>staphylococcus</i> .....	59
8.5.3.2. Identification biochimique.....	61
9. Recherche des spores de <i>Clostridium</i> sulfito-réducteur à 46°C.....	62
10. Recherche des salmonelles.....	63
10.1. Pré enrichissement non sélectif.....	63
10.2. Enrichissement à 37°C.....	63
10.3. Isolement à 37°C.....	63
10.4. Lecture des boîtes et caractérisation des suspects.....	64
10.4.1 Test d'urée-indole.....	64
10.4.2 Test de TSI à 37°C.....	65
10.4.3 Test de mannitol-mobilité à 37°C.....	64
10.4.4 Test du citrate perméase à 37°C.....	65
10.4.5 Test à l'oxydase.....	65
10.4.6 Test à l'ONPG (Orthonitrophényl β-D-Galactopyranoside).....	65
10.4.7 Coloration de Gram.....	66
11. Techniques d'analyses pour le contrôle bactériologique des écouvillons (Surface et mains).....	67

**CHAPITRE III : Résultats et Discussion**

1. Résultats.....	68
-------------------	----

1.1.Critères microbiologique.....	68
1.2.Résultats Obtenus.....	68
1.2.1. La flore aérobie mésophile totale.....	68
1.2.2. les coliformes.....	69
1.2.2.1.Les denrées alimentaires .....	69
A. Test de présomption.....	69
B. Test de confirmation.....	69
1.2.2.2.Les surfaces et les mains.....	70
1.2.3. les <i>Staphylococcus aureus</i> .....	70
1.2.4. les spores de <i>Clostridium sulfuto-réducteurs</i> .....	78
1.2.5. Les <i>Salmonelles</i> .....	79
2. Interprétation des résultats.....	87
2.1.Les denrées alimentaires.....	87
2.2.Les surfaces et les mains.....	92
DISCUSSION.....	93
CONCLUSION.....	96
Références bibliographiques.....	97
Annexes milieux de culture.....	108

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Diagramme de fabrication. Cuisson en ragoût.....	11
<b>Figure 02</b> : Numération aérobie mésophile signification dans les aliments cuites prêts à consommer (Pascal <i>et al.</i> , 2009).....	13
<b>Figure 03</b> : distribution des résultats d'une surveillance bactériologique bactériologique (Pascal <i>et al.</i> , 2009).....	14
<b>Figure 04.</b> Procédure de la marche en avant (Cosson <i>et al.</i> , 2003).....	17
<b>Figure 05</b> : La méthode HACCP (Cosson <i>et al.</i> , 2003).....	38
<b>Figure 06</b> : Incidence Mensuelle des TIAC Année 1999-2009 En Algérie (INSP, 2009).....	49
<b>Figure 07</b> : Incidence Mensuelle des TIAC Année 2009 En Algérie (INSP, 2009).....	49
<b>Figure 08</b> : Prélèvement sur surfaces, plats, équipements, .....	54
<b>Figure 09</b> :recherche de la flore aérobie mésophile totale .....	68
<b>Figure 10</b> : Les tubes de VBL après 24 heures (test de présomption).....	69
<b>Figure 11</b> : les tubes d'EPEI après l'addition de kovacs (test de confirmation).....	69
<b>Figure 12</b> : les colonies des <i>coliformes thermotolérants</i> .....	70
<b>Figure 13</b> : le milieu d'enrichissement Giolitti de Cantoni après 24 heures(staphylocoques).....	71
<b>Figure 14</b> : Les colonies suspectes de staphylocoques sur milieu chapman.....	71
<b>Figure 15</b> : Aspect Microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	72
<b>Figure 16</b> : Test de catalase pour des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	74
<b>Figure 17</b> : Teste de coagulase pour les souches de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	74
<b>Figure 18</b> : resultat de test de DNase.....	74
<b>Figure 19</b> : résultat d'antibiogramme de souche St <sub>24</sub> .....	76
<b>Figure 20</b> : résultat d'antibiogramme de souche St <sub>4</sub> .....	76
<b>Figure 21</b> : résultats de la galerie API staph des souches St <sub>20</sub> , St <sub>10</sub> et St <sub>21</sub> .....	78
<b>Figure 22</b> : recherche de Clostridium sulfuto-réducteurs (resultats negatif).....	78
<b>Figure 23</b> :Isolement sur milieu SS ( <i>salmonella-shegella</i> ) à prtir une repas cuite.....	79

<b>Figure 24</b> : Isolement sur milieu SS à partir des mains.....	79
<b>Figure 25</b> Milieu Urée Indole avant et après l'addition de Kovacs.....	80
<b>Figure 26</b> : Milieu TSI après l'incubation 24 heures à 37°C .....	80
<b>Figure 27</b> : Milieu Manitol Mobilité après l'incubation 24 heures à 37°C .....	81
<b>Figure 28</b> : Milieu Citrate de Simmons après l'incubation 24 heures à 37°C .....	81
<b>Figure 29</b> : Test de l'ONPG après l'incubation 24 heures à 37°C .....	81
<b>Figure 30</b> : Résultat de test de l'oxydase (pour des souches d'entérobactéries isolées).....	82
<b>Figure 31</b> Aspect Microscopique de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (Coloration de Gram G X100).....	82
<b>Figure 32</b> : Aspect Microscopique de <i>Proteus mirabilis</i> .....	82
<b>Figure 33</b> : Aspect Microscopique de <i>E. Coli</i> (Coloration de Gram G X100).....	82
<b>Figure 34</b> : Aspect Microscopique de <i>Proteus vulgaris</i> (Coloration de Gram G X100).....	83
<b>Figure 35</b> : Aspect Microscopique de <i>Morganella morganii</i> .....	83
<b>Figure 36</b> : Aspect Microscopique de <i>Citrobacter freundii</i> (Coloration de Gram G X100).....	83
<b>Figure 37</b> : Interprétation globale des résultats d'analyse microbiologiques des aliments.....	88
<b>Figure 38</b> : Histogramme comparatif global .....	89
<b>Figure 39</b> : Histogramme du niveau de contamination .....	90
<b>Figure 40</b> : Histogramme du niveau de contamination .....	91
<b>Figure 41</b> : Histogramme d'interprétation de la propreté des deux restaurants universitaires (Site A et Site B).....	92

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01 :</b> Les causes de contaminations exogènes.....	6
<b>Tableau 02 :</b> pH de croissance de quelques microorganismes .....	9
<b>Tableau 03.</b> Choix de l'agent nettoyant (Hyginov, 1995).....	27
<b>Tableau 04.</b> Liste des produits chimiques autorisés en désinfection (Maris, 1995).....	29
<b>Tableau 05.</b> Spectre d'activité des principaux désinfectants (Isoard, 1988).....	30
<b>Tableau 06 :</b> Description des différentes techniques d'entretien (Hyginov, 1995).....	32
<b>Tableau 07 :</b> Températures maximales des denrées congelées (Delaunay, 2011).....	35
<b>Tableau 08 :</b> Températures maximales des denrées réfrigérées (Delaunay, 2011).....	36
<b>Tableau 09 :</b> Tableau récapitulatif des prélèvements des denrées alimentaires.....	53
<b>Tableau 10 :</b> Nombre et nature des prélèvements dans les sites B et C.....	54
<b>Tableau 11:</b> liste des antibiotiques utilisés dans le test d'antibiogramme des souches de staphylocoques isolé .....	62
<b>Tableau 12:</b> critères bactériologiques : surfaces et mains .....	68
<b>Tableau 13:</b> Resultat des tests catalase et coagulase des souches staphylocoques .....	73
<b>Tableau 14 :</b> Résultats d'antibiogramme des souches de staphylocoques .....	75
<b>Tableau 15:</b> Identification des souches de staphylocoques .....	77
<b>Tableau 16:</b> Les résultats d'analyses des repas .....	83
<b>Tableau 17 :</b> Les résultats d'analyses des repas chauds et froids qui ont été prélevés au niveau de la Restaurant universitaire Es-Senia.....	84
<b>Tableau 18 :</b> Les résultats d'analyses des repas chauds et froids qui ont été prélevés au niveau de la restaurant d'IGMO .....	84
<b>Tableau 19 :</b> Les résultats d'analyses des repas chauds et froids qui ont été prélevés au niveau de la restaurant de Belgaid « I, II, III ».....	85
<b>Tableau 20 :</b> Les analyses microbiologiques des échantillons des surfaces et les mains prélevées au niveau du restaurant universitaire Es-Senia.....	85
<b>Tableau 21 :</b> Résultats des tests biochimiques effectué pour les souches isolées sur milieu SS.....	86

<b>Tableau 22</b> : Les analyses microbiologiques des échantillons des surfaces et les mains qui ont été prélevés au niveau de la Restaurant universitaire IGMO.....	86
<b>Tableau 23</b> : Résultats des tests biochimiques effectué pour les souches isolées sur milieu SS.....	87
<b>Tableau 24</b> : Interprétation des résultats pour les échantillons prélevés.....	88
<b>Tableau 25</b> : Niveau de contamination par FMAT .....	90
<b>Tableau 26</b> : Niveau de contamination par les coliformes thermotolérants.....	91
<b>Tableau 27</b> : Interprétation des résultats pour les échantillons prélevés à partir des surfaces et les mains.....	92

**Liste des abréviations**

Abs: Absence.

ADH: L-arginine.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AMC: Amoxicilin + clavulanic acid.

AMX: Amoxicillin.

BHIB : bouillon Infusion cervelle cœur.

BN : Bouillon nutritif.

°C : degré Celsius.

C.T : Coliformes totaux.

C.th : Coliformes thermotolérantes.

C: Chloramphenicol.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CS: Colistin.

D/C: double concentration.

E: Erythromycin.

EPEI : milieu Eau Peptonée Exemple d'Indole.

FMAT : Flores Mésophiles Aérobie Totaux.

FRU : D- fructose.

g : gramme.

GLU : D-glucose.

GM: Gentamicin.

h : heure.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : peroxyde d'hydrogène.

H<sub>2</sub>S : Hydrogène Sulfuré.

HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point.

HCl : acide chlorhydrique.

IGMO: Institut De Génie Maritime D'Oran.

Jora : Journal Officiel Algérienne.

## ABREVIATIONS

L: Lincomycine.

LAC : D- lactose.

LMA : Laboratoire de Microbiologie Appliquée.

MAL : D- maltose.

MAN : D- mannitol.

MDG: méthyl- $\alpha$ Dglucopyranoside.

MEL : D- mélibiose.

MH: gélose Mueller Hinton.

ml : millilitre.

mn : minute.

MNE : D- mannose.

N : Normalité.

NA: Nalidixie acid.

NAG: N-acétyl- glucosamine.

NI : Nitroxolin.

NIT : nitrate de potassium.

NPP : Nombre le Plus Probable.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

ONPG: Ortho-Nitrophényl- $\beta$ -D-Galactopyranoside.

Ox : Oxalate de di-méthylpara- phénylène.

OX1: Oxacillin.

PAL :  $\beta$ -naphtyl phosphate.

PCA : milieu Plate Couot Agar.

PI: Pipemidic acid.

PT : Pristinamycin.

RAF : D-raffinose.

*S. aureus* : *Staphylococcus aureus*.

S/C: Simple Concentration.

## ABREVIATIONS

SAC : D-saccharose.

SFB: Sélénite F Broth.

SM : Suspension Mère.

SNV : Sciences de la Nature et de la Vie.

SP: Spiramycine.

SS : milieu Salmonella-Shigella.

SSS: Sulphonamides.

*Staph.a* : *Staphylococcus aureus*.

SXT: Trimethoprim-sulfamethoxazole.

TRE : D-tréhalose.

TSE: Tryptone Sel Eau.

TSI : Triple sugar iron.

UFC : Unité Formant colonies.

URE : Urée.

VBL : milieu Vert Brillons Liquide.

VF : milieu Viande foie.

VP : sodium pyruvate.

VRBL : Milieu Lactosée Biliée au cristal Violet et au Rouge neutre

XLT : xylitol.

XYL : D-xylose.

## Introduction

La qualité d'un aliment est une association de quatre composantes : hygiénique, nutritionnelle, hédonique et une qualité de service. Le but de la cuisine collective, est de confectionner un grand nombre de repas bien définis. C'est un lieu qui doit être organisé pour produire en chaud ou froid soit des menus équilibrés sur une journée, soit des plats préparés pour un repas principal. La restauration collective est une branche industrielle qui a pour activité de servir des repas hors domicile. Actuelle, ce type de restauration collective se divise en trois secteurs principaux : l'enseignement (restauration scolaire et universitaire), la santé et le social (restauration hospitalière, maisons de retraite, établissements pénitentiaires) et le travail (restauration d'entreprises et d'administrations). La restauration collective est également appelée catering (mot anglais signifiant 'restauration, ravitaillement') elle désigne l'approvisionnement en repas d'un grand groupe de personnes (Dillis, 2010).

La cuisine (endroit où l'on traite les aliments) et ses annexes (stockage, frigo, vaisselle,...) constituent la partie principale de l'établissement. De la conception de ces locaux dépendra fatalement la possibilité ou non de préparer les repas dans les meilleures conditions d'hygiène possibles.

Le transfert aux denrées de la contamination microbienne peut se réaliser directement par simple contact ou indirectement par mise en jeu d'un vecteur comme la main. Le risque est majoré pour toutes les surfaces et le matériel dits «alimentaires », c'est à dire habituellement au contact direct des denrées comme par exemple les plans de travail, la batterie de cuisine, les petits ustensiles et certains appareils tels les batteurs-mélangeurs, mixeurs, hachoirs, épilucheuses. Les surfaces et le matériel qui ne se trouvent habituellement pas au contact des denrées participent également au microbisme ambiant. Par ailleurs, un contact accidentel entre les denrées et ces surfaces est théoriquement possible suite à une utilisation fautive.

L'analyse des sources de contaminations surajoutées, au crible de la règle des « 5 M » conduit à examiner le rôle du milieu et du matériel. Les différentes surfaces ainsi que l'ensemble de l'équipement représentent autant de supports pour l'implantation et le développement de micro-organismes indésirables, qu'ils soient pathogènes pour l'homme ou agents d'altération des denrées. Cependant, les plats cuisinés sont obtenus à partir de denrées alimentaires diverses, ayant chacune une flore spécifique.

Nos objectifs consistent à déterminer l'évolution du taux de contamination des denrées alimentaires et des plats finis servis aux étudiants dans différents sites universitaires et

identifier les différents germes mis en cause (flore aérobie mésophile, coliformes totaux et thermotolérants, anaérobies sulfito-réducteurs, *staphylocoques aureus* et *Salmonella*).

Dans la première étape de notre travail, nous nous sommes intéressée à une revue bibliographique, dans laquelle nous apportons un certain nombre de données récentes sur le sujet. Ensuite, dans la deuxième étape nous décrivons notre mode opératoire des analyses microbiologiques, et enfin, dans troisième étape nous fournissons et interprétons nos résultats avec la discussion et des perspectives.

# *Chapitre I*

## *Synthèse*

### *Bibliographique*



## 1. L'HYGIENE ET LA SECURITE DES ALIMENTS

La sécurité alimentaire est une expression qui désigne la sécurité des approvisionnements alimentaires en quantité et qualité (**Becila, 2009**). De ce fait, on est tenu à ne pas à confondre ; La sécurité alimentaire et l'hygiène alimentaire avec l'hygiène et la sécurité des aliments. Ces termes sont mal utilisés dans le langage courant.

### 1.1.Sécurités alimentaires

Sous le terme sécurité alimentaire est entendue : la garantie que les aliments n'entraînent pas de conséquences néfastes pour la santé du consommateur quand ils sont préparés et ingérés, en tenant compte du but et de la manière de les consommer (**Becila , 2009**).

La sécurité alimentaire, dont la qualité microbiologique des aliments est une composante essentielle, représente un enjeu considérable. Sur le plan du commerce international, elle est très souvent invoquée pour renforcer les barrières aux importations. De plus, elle a un rôle évident à jouer dans la prévention des maladies d'origine alimentaire et par voie de conséquence, elle participe à la maîtrise des dépenses de santé (**Leveau. et al., 2010**). Selon **Cosson et al., (2003)** à propos de la sécurité des aliments ; les citoyens « *mangeurs* » n'acceptent plus de risques liés à l'alimentation, et le principe de précaution est compris comme la recherche du risque zéro (difficile à obtenir).

La sécurité alimentaire est une exigence minimale qui ne se négocie pas. Alors que souvent dans le langage courant, ce terme est utilisé pour désigner l'assurance que les aliments ne causeront pas de dommage au consommateur quand ils sont préparés et/ou consommés conformément à l'usage auquel ils sont destinés définition de la sécurité des aliments (**Becila., 2009**).

### 1.2.Notion de qualité hygiénique

La qualité hygiénique est la mesure dans laquelle un aliment ou un service répond aux besoins et attentes qui ont été communiquées, qui vont de soi ou qui ont été imposées (par le consommateur et la loi). Quant aux produits alimentaires, il s'agit en règle générale de la sécurité, de la santé et du bien-être du consommateur (**Becila, 2009**). C'est aussi l'aptitude

d'un produit à bien nourrir l'homme. Cette dernière à trois composantes essentielles: la qualité hygiénique, la qualité organoleptique et la qualité nutritionnelle (**Bolnot, 2004**). Les travaux de **Corpet (2005)**, la qualité hygiénique est l'aptitude d'un aliment à ne pas rendre malade les consommateurs. Cela comporte les maladies alimentaires liées aux bactéries, aux corps étrangers chimiques et physiques et à la présence de composants de la préparation en dose anormale (excès d'épices par exemple).

### **1.3. Différences entre l'hygiène des aliments et l'hygiène alimentaire**

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

#### **1.3.1. Hygiène des aliments**

L'hygiène alimentaire correspond à une alimentation saine répondant aux besoins de l'organisme, et n'engendrant pas de problèmes de santé. Désigne l'ensemble des conditions et mesures nécessaires pour assurer la sécurité et la salubrité des aliments à toutes les étapes de la chaîne alimentaire (**Cirillo et al., 2004**). L'hygiène des aliments assure la sécurité et la salubrité des aliments, elle englobe plusieurs domaines tous aussi importants les uns que les autres, L'hygiène du personnel, L'hygiène des locaux (nettoyage, désinfection, matériaux, agencement...), Les conditions de stockage, de manipulation, de transport (nettoyage, désinfection, matériaux) et Les matières premières (**Alli, 2004**)

#### **1.3.2. Maîtrise de la sécurité des aliments**

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

d'hospitalisations (**Yasuda, 2010**). Davantage de recherche et les études doivent être menées pour étudier à quel point la négligence généralisée de bonnes pratiques abusives de salubrité des aliments se produisent, et quels types de remèdes peuvent être fournis pour rendre le service de traiteur un service de denrées alimentaires plus sûres pour le consommateur (**Ghezzi, 2011**).

### 1.3.2.1. Les dangers

L'accident alimentaire d'origine biologique est le résultat d'une contamination et dans le cas de bactéries, d'un développement bactérien (**Bornert, 2000**). Nos aliments proviennent de notre environnement immédiat, mais aussi, de plus, de pays divers (importation). Nous exigeons que nos aliments soient sans danger pour notre santé. Cependant, il arrive que ces aliments soient contaminés en cours de production, de transformation, de transport et de manipulation par des substances potentiellement dangereuses pour la santé (**Panisset et al., 2003**). La contamination des aliments est la première condition qui rend un produit susceptible de rendre son consommateur malade. Cette condition est facilement remplie car les sources de contamination sont omniprésentes (**Carbonel, 2007**). On distingue 2 origines de contaminations d'origines endogène et exogène :

Quand l'origine est endogène, les aliments d'origine animale peuvent être contaminés au moment de leur préparation par des germes naturellement présents dans l'organisme de l'animal. C'est pour cette raison que les maladies infectieuses sont recherchées lorsqu'un animal est présenté à l'abattoir. En restauration collectif, les aliments d'origine animale constituent un risque peu contrôlable sinon par le choix d'un bon fournisseur (**Corpet, 2005**).

Le tableau (1) suivant, illustre les contaminations d'origine exogène qui ont lieu du stade de la production à celui de la consommation. On parle de contaminations secondaires car; ce sont les contaminations sur lesquelles les restaurateurs ont le plus d'effets et donc, de responsabilités. A ce moment précis, on pourrait distinguer deux phases distinctes de contamination : lors de la préparation et lors du libre-service.

**Tableau 2:** Les causes de contaminations exogènes (Carbonel, 2007).

Vecteurs	Modalités de transmission	Description et solutions proposées
<b>L'homme</b>	Vecteur passif ou transporteur (mains, peau)	L'homme est au centre de la contamination. C'est un vecteur passif. Les vêtements qu'il porte, ses mains salies par des sources bactériennes en font un transporteur de germes, présent à chaque étape de la préparation.
	Vecteur actif (individu infecté)	L'homme est aussi un vecteur actif. L'homme lui-même est l'hôte de nombreux germes. C'est le cas lors de maladies respiratoires (rhume, angine, sinusite à Staphylocoques et Streptocoques). Les maladies respiratoires doivent être craintes parce que la transmission par voie aérienne est facile. C'est aussi le cas de maladies de l'appareil digestif. La méfiance doit être de rigueur pour les personnes en bonne santé : elles peuvent être porteuses de germes dangereux, notamment lorsqu'elles sortent d'un épisode de maladie.
<b>Les animaux</b>	Insectes	Les insectes (les mouches notamment) sont de très bons vecteurs de Shigelles et Salmonelles.
	Rongeurs	Les rongeurs (rats et souris) sont vecteurs de Les animaux germes pathogènes.
	Animaux domestiques	Les animaux domestiques sont vecteurs de nombreux germes pathogènes
<b>Sol et terre</b>	Légumes, chaussures	Le sol et la terre sont d'abord craints pour le <i>Clostridium botulinum</i> mais peuvent être la source de contamination par le Bacillus, moisissures et levures.
<b>L'eau</b>		Pseudomonas et autres germes Gram- se retrouvent souvent dans les eaux potables. L'eau étant utilisée à la fois pour la préparation des produits et pour le nettoyage, on veillera à éviter de conserver de l'eau potable trop longtemps mais plutôt favoriser le renouvellement de la source.
<b>L'air</b>	Poussières, vaporisation des liquides sales (nettoyage), vaporisation des liquides humains (éternuements, mouchage)	Trois facteurs majeurs déterminent le microbisme de l'air ambiant : la densité de personnel, le type d'activité et la circulation de l'air.
<b>Vecteurs</b>	<b>Modalités de transmission</b>	<b>Description et solutions proposées</b>
<b>Vecteurs animés</b>		

<b>Autres aliments</b>	Contamination croisée	Les contaminations croisées sont des contaminations entre des aliments différents. Ces contaminations offrent aux bactéries de nouvelles conditions de développement et ce nouveau milieu peut favoriser leur croissance. En particulier, il convient de prévenir tout croisement entre les matières premières vecteurs de microorganismes et les produits finis (cuits), décontaminés. Une bonne manière de s'en protéger est de respecter les principes de marche en avant et de toujours filmer les aliments lors de leur stockage.
<b>Déchets</b>		Les déchets et sous-produits doivent être enlevés dès que possible des zones de travail et être conservés au frais avant leur enlèvement. Le principe de la séparation des flux permet d'éviter l'entrecroisement de déchets et des aliments
<b>Surfaces</b>		Les surfaces sont une donnée à prendre en compte au plus tôt, dès la conception des bâtiments. Les surfaces du sol et des murs ainsi que les surfaces de travail et les équipements doivent être pris en compte : La présence de fissures et de rugosités sont autant de nids bactériens.
<b>Linge</b>		Les tissus, de par leur structure, constituent un milieu parfait pour les bactéries qui s'y installent. Pour éviter ce problème, des tabliers jetables sont fournis en cuisine et le linge de travail ne doit pas être utilisé en dehors de la zone de travail. Les torchons et autres tissus multi-usages sont proscrits. On veillera à placer des torchons à base de papier et à usage unique.

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**) à savoir : facteurs extrinsèques (température, durée de conservation) et facteurs intrinsèques.

## A. Facteurs extrinsèques

### Température

La sensibilité des micro-organismes à la température en fait un aspect clé de leur développement. Quant à 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., 2000**). La surgélation, basée sur une conservation en froid négatif d'une partie des produits permet d'éliminer les risques de multiplications bactériennes tout en conservant la qualité organoleptique des aliments (**Leclerc, 2003**). Les produits peuvent alors être conservés plusieurs mois. Pour un certain nombre de produits fragiles (salade, légumes, etc...), la conservation se fait en froid positif. 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 d'un 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 micro-organismes présents sur l'aliment. Cela nécessite d'appliquer un couple 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 donnée (**leclerc, 2003**).

## B. Facteurs intrinsèques

### Le pH

La majorité des bactéries se développe dans des milieux dont le pH est 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.

**Tableau 02 : pH de croissance de quelques microorganismes (Carlier, 1983 ; Jay, 1992; Buchanan. *et al*, 1990).**

Micro-organismes	Minimum	Optimum	Maximum
Moisissures	1,5 à 3,5	4,5 à 6,8	8,0 à 11,0
Levures	1,5 à 3,5	4,0 à 6,5	8,0 à 8,5
Bactéries	4,5	6,5 à 7,5	11,0
Bactéries acétiques	2,0	5,4 à 6,3	9,2
Bactéries lactiques	3,2	5,5 à 6,5	10,5
<i>Lb. Plantarum</i>	3,5	5,5 à 6,5	8
<i>Lc. Cremoris</i>	5,0	5,5 à 6,0	6,5
<i>Lc. lactis</i>	4,1 à 4,8	6,4	9,2
<i>Lb. acidophilus</i>	4,1 à 4,8	5,5 à 6,0	6,5
<i>Pseudomonas</i>	5,6	6,6 à 7,0	8,0
<i>P. aeruginosa</i>	4,4 à 4,5	6,6 à 7,0	8,0 à 9,0
Entérobactéries	5,6	6,5 à 7,5	9,0
<i>S. typhi</i>	4 à 4,5	6,5 à 7,2	8,0 à 9,6
<i>E. coli</i>	4,3	6,0 à 8,0	9,0
<i>Staphylococcus</i>	4,2	6,8 à 7,5	9,3
<i>Clostridium</i>	4,6 à 5,0		9,0
<i>C. bolutinum</i>	4,8		8,2
<i>C. perfringens</i>	5,5	6,0 à 7,6	8,5
<i>C. sporogenes</i>	5 à 5,8	6,0 à 7,6	8,5 à 9,0
<i>Bacillus</i>	5,6	6,8 à 7,5	9,4 à 10,0
<i>L. monocytogenes</i>	4,3 à 5	6,5 à 7,5	

### L'activité de l'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 de la proportion d'eau liée. Pour évaluer cette tolérance, on se réfère à l' $A_w$ , ou activité de l'eau. Dans la majorité des produits sensibles (viande, lait, fruits, légumes), l' $A_w$  convient au développement bactérien et n'apparaît donc pas comme un obstacle (**Vallerian, 1999**).

### L'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 5ème gamme, sous vide d'air. Ces conditionnements sont assez peu utilisés en restauration rapide, sauf pour les plats préparés (**Robert et al., 2003**).

## **2. LA MICROBIOLOGIE DES PLATS CUISINES**

Il s'agit de préparation culinaire comportant des denrées animales ou d'origine animale, cuites ou précuites, dont la consommation est différée soit dans le temps, soit dans l'espace (**Jorf, 1974**).

### **2.1.L'activité des plats cuisinés**

Les plats cuisinés visent la suppression de toutes les opérations en amont de la cuisine préparation et la réduction du délai de préparation au minimum grâce au simple réchauffage de quelques minutes, au bain marie, four micro-onde, plaques ou fours traditionnels, en évitant les odeurs. Ce délai est nul pour les préparations consommées froides comme les entrées, les sauces variées et la quasi-totalité des desserts. Ils ont la qualité d'être facilement « juste à temps » dans les repas à plusieurs grâce aux portions multiples à partager qui facilitent la convivialité, et/ou les « repas de famille », et d'offrir aux consommateurs une immense variété de choix et donc un degré de liberté élevé (**Rozier et al., 1980**).

La figure suivante illustre le diagramme de fabrication dans le cas de différents ragouts Bœuf, sauté de veau, couscous, etc...

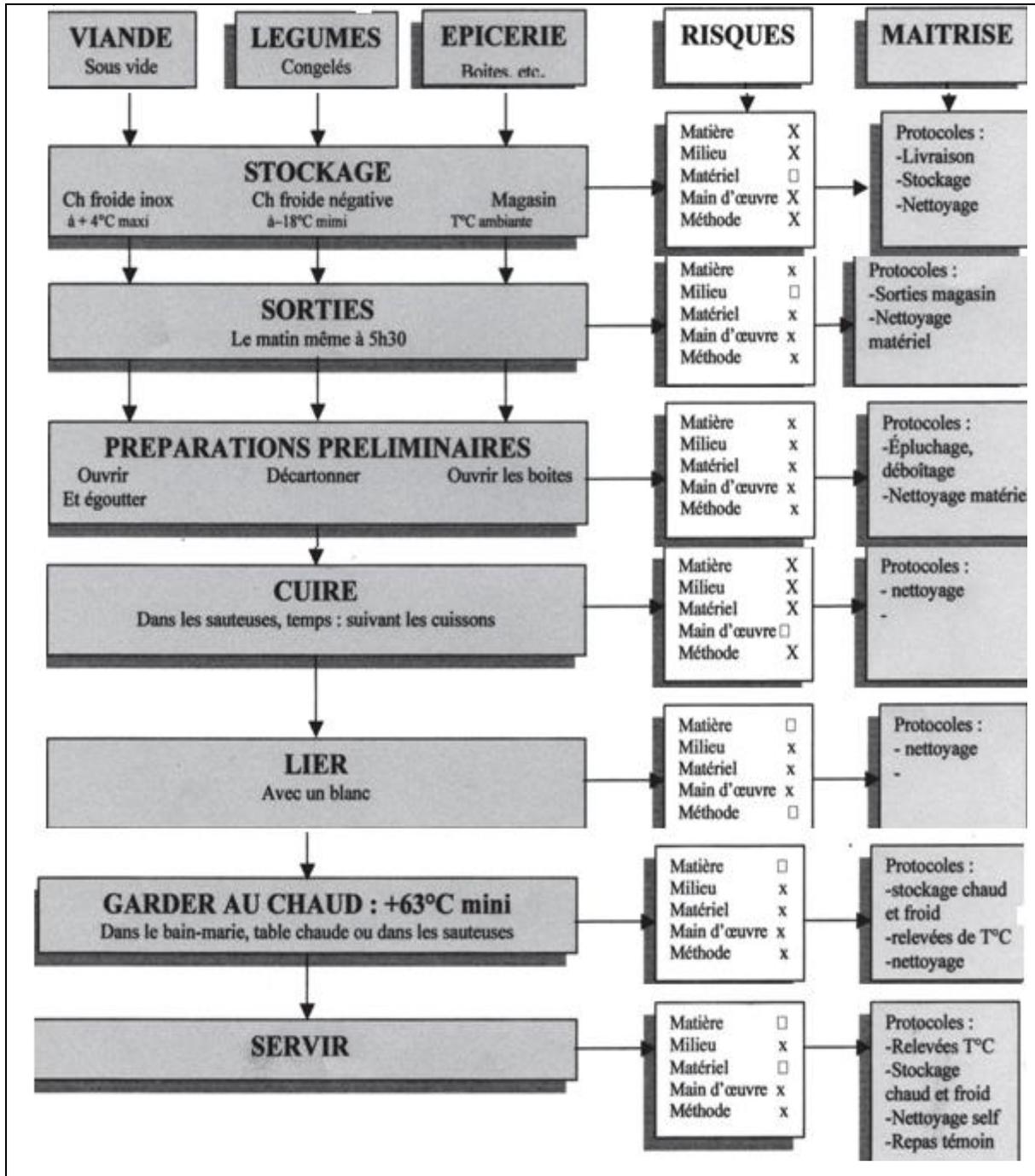


Figure 01 : Diagramme de fabrication de plats cuisinés en ragoût (Corpet, 2005).

## 2.2. Présentation 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 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 : légumes prêts à l'emploi, plats cuisinés à base de poissons, de viandes, les sauces diverses, les pâtes cuisinées surgelées... (**Rozier et al, 1980**).

Les plats cuisinés sont sujets à l'action des 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 environnementaux extérieurs : rupture de la chaîne du chaud ou du froid, non-respect des règles d'hygiène élémentaire, cuisson insuffisante, etc (**Gérim et al., 2003**).

## 2.3. Technologie des plats cuisinés

Les plats cuisinés conservés par la chaleur doivent être placés dès la fin de la cuisson dans des récipients munis de couvercle et maintenus à des températures supérieures à 65°C. Les plats cuisinés conservés par le froid ; après préparation et conditionnement, sont refroidis à 10°C en un délai maximum de 2 heures, conditionnement y compris. Dès la fin du refroidissement, le stockage se fait par la réfrigération (0°C à 3°C) ou mise en congélation ou en surgélation (inférieure ou égale à -18°C).

La fabrication des plats cuisinés à l'avance constitue une longue chaîne de précautions. Elles ont été définies par l'arrêté du 26 juillet 1974 de la réglementation française. Il est imposé aux fabricants une obligation de moyens et une obligation de résultats résumées comme suit.

### 2.3.1. Obligation de moyens hygiéniques

Les locaux seront disposés de telle sorte que puissent être respectés les principes de la marche en avant, de la séparation nette des secteurs sains (propres) et des secteurs souillés (règle des 5 S). La construction des murs, des sols, des plafonds fera appel à des matériaux résistants à l'usage et faciles à nettoyer et à désinfecter. L'usage de l'outil est d'une très grande importance, car aussi bien conçus que soient les installations, les matériels, la qualité hygiénique dépendra (Diouf, 1992).

### 2.3.2. Obligation de résultats hygiéniques

Les plats cuisinés à l'avance doivent présenter, jusqu'à leur consommation, des caractéristiques microbiologiques précises qui sont définis par l'arrêté du 21 décembre 1979, relatif aux critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire certaines denrées alimentaires d'origine animale (Diouf, 1992).

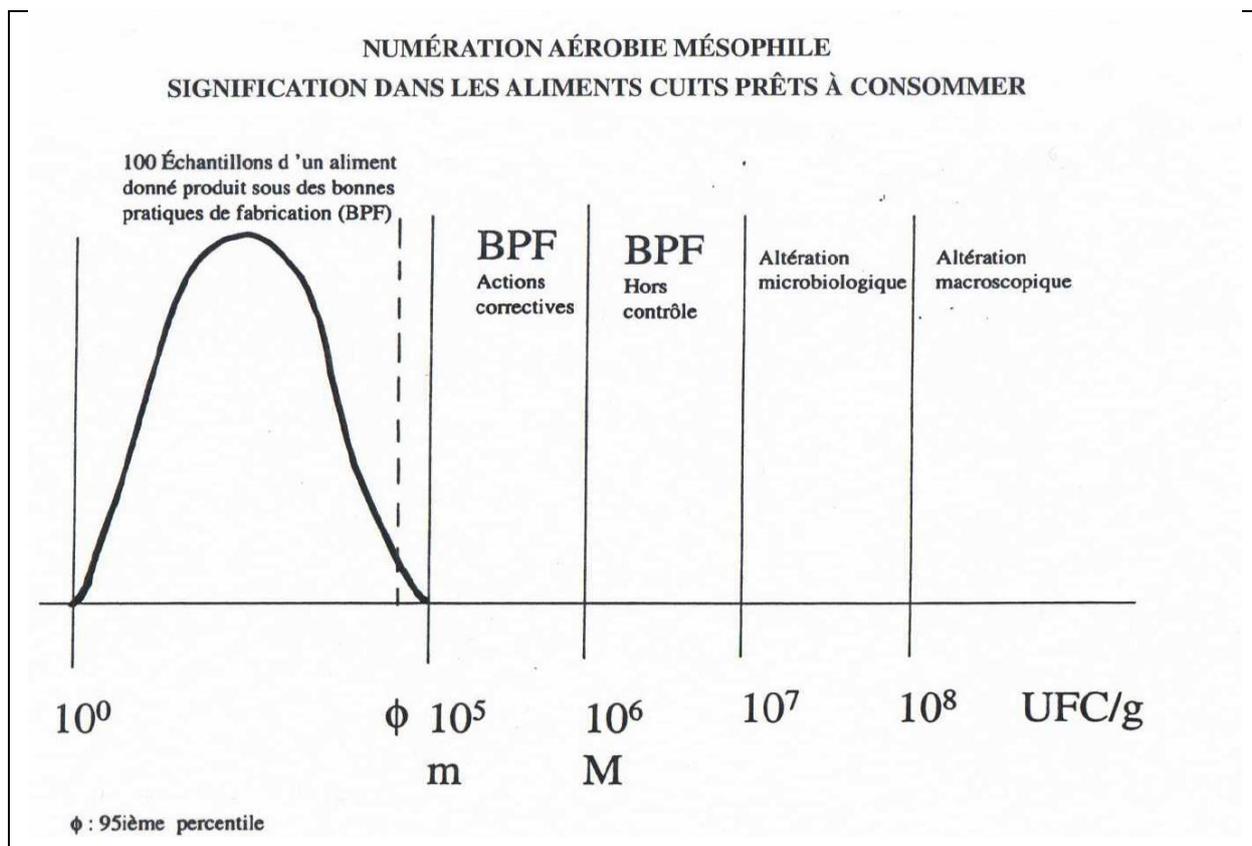


Figure 02 : numération aérobie mésophile signification dans les aliments cuites prêts à consommer (Pascal *et al.*, 2009).

**DISTRIBUTION DES RÉSULTATS D'UNE SURVEILLANCE BACTÉRIOLOGIQUE  
DE 100 ÉCHANTILLONS D'UN ALIMENT PARTICULIER PRODUIT SOUS  
DE BONNES PRATIQUES DE FABRICATION**

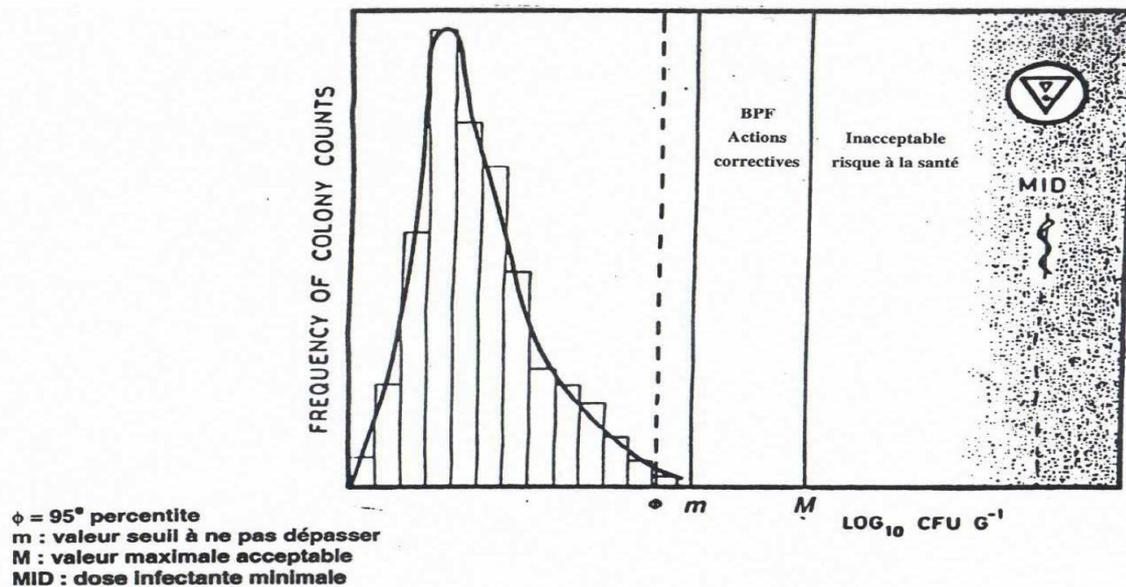


Figure 03 : distribution des résultats d'une surveillance bactériologique (Pascal *et al.*, 2009).  
100 échantillons d'un aliment particulier produit sous de bonnes pratiques de fabrication.

#### 2.4. Surfaces de contact des plats cuisinés et les ustensiles

Les biofilms microbiens qui restent sur les surfaces après le nettoyage sont une grande préoccupation dans l'industrie agro-alimentaire (Zottola et Sasahara, 1994). Méthodes de mesure de l'efficacité du nettoyage de l'environnement de production sont nécessaires dans les locaux de fabrication d'aliments à haut risque des aliments. Plaques de gélose de contact et de la méthode écouvillonnage peut être utilisé pour le contrôle de l'hygiène (NCFA, 1987 ; Tebbut 1991). Commercial plaques de gélose de contact sont également utiles pour le contrôle de l'hygiène des locaux alimentaires (Rahkio et Korkeala, 1997). Ils sont principalement utilisés pour les bactéries indicatrices de surveillance. Pour micro-organismes spécifiques, tels que *Listeria* et *Salmonella*, d'enrichissement sélectif et les médias doivent être choisis. La méthode de mesure de la bioluminescence adénosine-5'-triphosphate (ATP) donne des résultats en quelques minutes, ce qui rend ce système très approprié pour le suivi en ligne dans les programmes HACCP (Poulis *et al.* 1993, Vanne *et al.* 1996, De Boer et Beumer 1999). Cependant, l'ATP mesurée ne proviennent pas de bactéries seulement, mais le total ATP à partir de toute matière organique à la surface. Une occasion importante pour

l'avenir peut être la mise à disposition de la spécificité des agents pathogènes aux essais ATP (Stewart, 1997).

### **2.5.Applications à la sécurité des aliments**

La sécurité des aliments est un défi qui demande des efforts quotidiens aux professionnels. Pour ce faire, ils mettent en application les enseignements sur le développement bactérien. En restauration collective, les facteurs à maîtriser se rassemblent dans les "5 M": le Milieu (les locaux), le Matériel, la Main-d'œuvre, la Matière (matières premières, produits finis) et les Méthodes (règles de fonctionnement) selon un raccourci mnémotechnique classique. Ces cinq facteurs sont liés entre eux, à l'image des « maillons d'une chaîne » au sein de laquelle la faiblesse d'un élément n'est pas compensée par le renforcement d'un autre. Cette notion illustre la nécessité de la cohérence de la prestation (Corpet D, 2005). La sécurité au long de la chaîne de production alimentaire (transformation, stockage et préparation) est d'une grande importance pour le maintien de la qualité hygiénique des aliments préparés et servis aux restaurants collectives (Bobhate P *et al.*, 2011).

## **3. L'HYGIENE ET LA SECURITE ALIMENTAIRE DANS LES RESTAURATIONS COLLECTIVES**

### **3.1.Conception générale**

Le milieu de travail, local et matériel, conditionne grandement la qualité de l'offre au sens large. La qualité hygiénique est très dépendante de l'entretien des locaux et du matériel ainsi que de la conception des locaux et de l'organisation de la production.

#### **3.1.1. Principes généraux de l'hygiène dans les industries agro-alimentaires**

La conception des locaux, et particulièrement de la zone de production, doit intégrer les préoccupations de sécurité des aliments au cahier des charges. Quatre grands principes viennent régir l'organisation de la cuisine (Corpet, 2005).

### 3.1.1.1.principe de « la marche avant »

De l'arrivée des matières premières à la sortie des produits finis, l'ensemble des opérations effectuées en cuisine peut être divisé en étapes distinctes, correspondant chacune à un processus réalisé selon une procédure déterminée.

Depuis l'entrée dans les locaux jusqu'au départ vers le lieu de consommation, les denrées doivent progresser selon le principe de la "marche en avant", c'est-à-dire sans jamais effectuer de retour en arrière. Ce principe vise à prévenir des contaminations croisées : contaminations entre produits "propres" ou sensibles (produits cuits, assainis, prêts à consommer) et produits "sales" (produits bruts, matières premières non préparées) (**Arnaud-thuillier et Libert, 1991**).

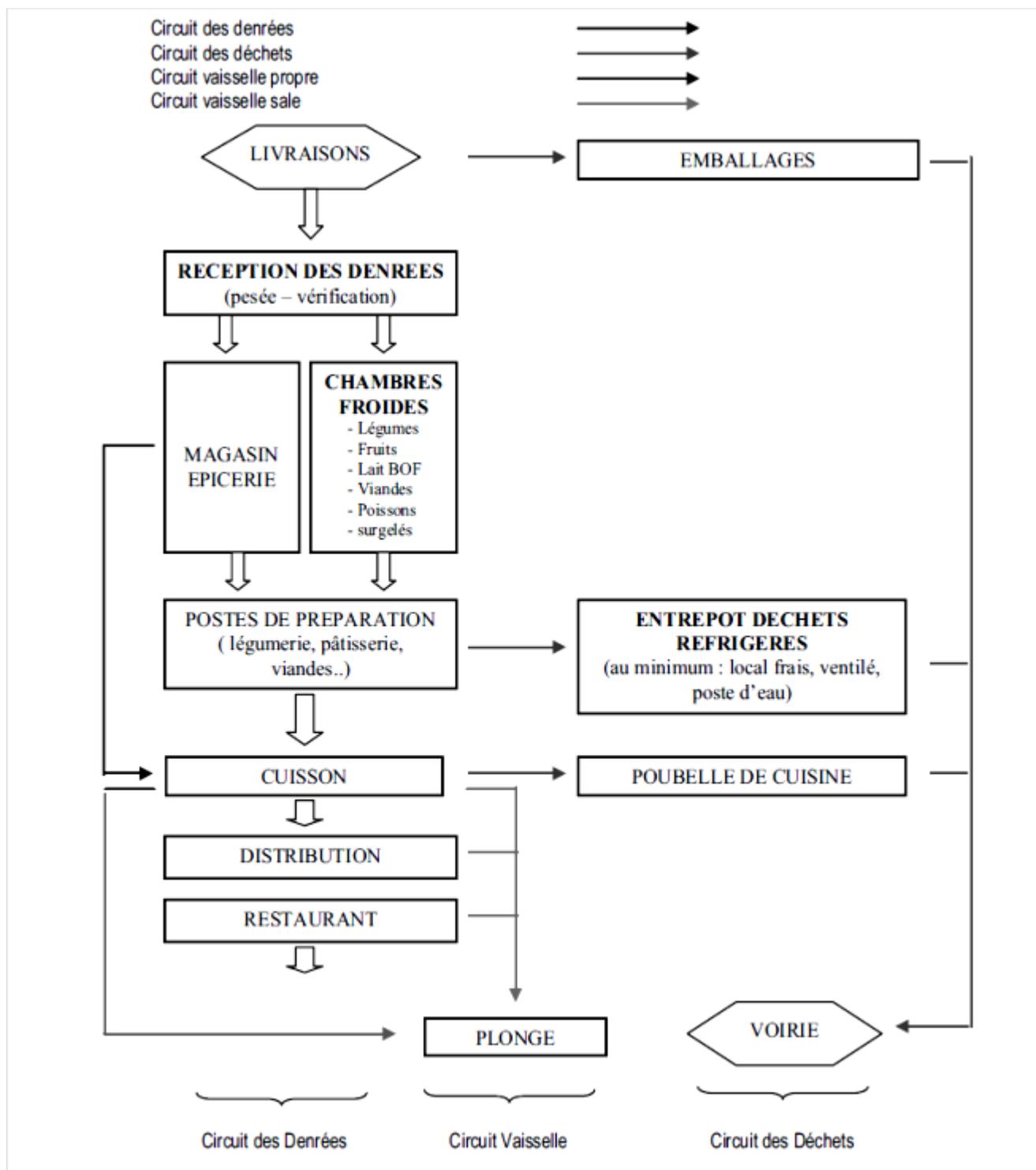


Figure 04. Procédure de la marche en avant (Cosson *et al.*, 2003).



### 3.1.1.2. La séparation des secteurs

En fonction du degré de contamination des produits qui y circulent, les différents locaux d'une cuisine de préparation peuvent être séparés schématiquement en plusieurs secteurs. Le « secteur souillé » comprend les zones de stockage (chambres froides et réserves) et de livraison, et les locales poubelles. Le secteur sain correspond dans la restauration à la zone d'assemblage de l'offre ou « laboratoire ». Cette zone est la dernière étape avant le service. Enfin, on distingue parfois des zones tampons (plonge, légumerie) qui permettent de réaliser la transition des matières entre une zone saine et une zone souillée (**Namkoisse, 1990**).

Le non-entrecroisement des courants de circulation Plusieurs courants de circulation peuvent être matérialisés au cours du travail de préparation des repas en cuisine : les matières premières (réception, stockage), les produits finis (préparation, stockage, service), les déchets (matières premières, préparation, restes de repas), le matériel (stockage, utilisation, nettoyage) et le personnel qui, par définition, utilise l'ensemble des locaux. L'organisation des locaux doit être conçue de façon à ce que ces circuits se croisent le moins possible (**Carbonel, 2007**).

### 3.1.1.3. Non-entrecroisement des courants de circulation

Le circuit sale représenté par exemple par le transport des matières premières brutes, des déchets de toute nature (poubelles, emballages...) (**Diabate, 1991**). Ceci est valable tant pour le personnel principal vecteur de germes que pour les denrées, les produits finis (plats cuisinés ou denrées prêtes à la consommation). La circulation doit se faire dans un sens. Selon les possibilités matérielles et financières, les quatre derniers principes sont recommandés (**Ndiaye, 1992**).

### 3.1.1.4. Aménagement rationnel

Les espaces doivent être aménagés de manière rationnelle avec des formes faciles à nettoyer, une pente du sol supérieure à un pour cent et l'absence d'angles vifs. Les dimensions doivent être suffisamment grandes pour permettre le travail et laisser des espaces autour de chaque machine. Les matériaux doivent pouvoir être lavés facilement et la circulation de l'air doit être maîtrisée avec un renouvellement de l'air intérieur et une filtration de l'air extérieur (**Carbonel, 2007**).

### 3.1.1.5. Utilisation précoce et généralisée du froid et de la chaleur

Des contaminations souvent faibles sont inévitables durant la fabrication. D'où la nécessité d'agir tôt, pour éviter le développement rapide de ces contaminations, par le froid ou par la chaleur (**Roudaut et Lefrancq, 2005**).

Le froid sera utilisé précocement et de façon continue de la production jusqu'à la consommation. La chaleur, précocement appliquée sur les produits paucimicrobiens, donnera de meilleurs résultats (**Rosset et Beaufort, 1983**).

### 3.1.1.6. Ordre, nettoyage et désinfection appropriés

Les industries agro-alimentaires traitant des produits contaminés et le plus souvent altérables voient leurs locaux, leur matériel et leur personnel se salir, les routines de nettoyage et désinfection s'est révélée largement inefficace (**Bajzík et al. 2012**). Donc le nettoyage et la désinfection doit être effectués de façon régulière, systématique et efficace dans des locaux où règne un ordre méticuleux s'avèrent nécessaires (**Ndiaye, 1992**).

### 3.1.1.7. Personnel compétant

Ceci devait être une exigence car le manipulateur se révèle être aujourd'hui l'élément principal, ou l'une des principales sources de contamination des aliments, soit directement comme vecteur actif ou inactif (**Corpet, 2005**). Le rôle du personnel est déterminant dans la maîtrise de la sécurité des aliments. Ses qualifications, sa sensibilisation aux aspects liés à l'hygiène et son état de santé sont des éléments fondamentaux. De fait, la formation professionnelle est une nécessité absolue et réglementaire.

La surveillance médicale est le second pivot de la maîtrise du risque alimentaire par le personnel, susceptible d'être excréteur de micro-organismes potentiellement responsables de toxi-infections alimentaires collectives (**Gartner et Durrèche, 2001**).

## 3.1.2. Principe de construction

Les locaux des établissements de restauration collective peuvent constituer des sources de dangers pour le consommateur :

Introduction de micro-organismes dans une denrée lors d'un croisement avec un élément " souillé " (homme, matériel, autre produit alimentaire ou non alimentaire, environnement, nuisibles) rendu inévitable du fait de la conception et/ou de l'implantation des locaux.

Prolifération de germes pathogènes du fait d'une absence de maîtrise des conditions de température et / ou d'hygrométrie imputable à des défauts de conception.

L'implantation des locaux sera choisie en fonction des agglomérations et des sources de pollutions, autant celles provenant de l'établissement et perturbant l'environnement que celles pouvant y pénétrer. Cet établissement doit être facile d'accès pour les voitures (**GBPH, 1999**).

Dans les locaux il ne doit pas avoir de tuyaux d'évacuation des eaux usées ou pluviales ou aboutissant à des fosses d'aisance, Les locaux, dans leur disposition, doivent permettre le respect du principe des 5S et de celui de la marche en avant tout en ayant des dimensions suffisantes (**Corpet, 2005**).

Les matériaux choisis seront imputrescibles, isolants, résistants et facilement lavables. Le sol, les murs et cloisons seront revêtus, sur une hauteur d'au moins deux mètres, de matériaux durs, résistants aux chocs, imperméables, imputrescibles, d'entretien facile.

Le sol aura une pente suffisante pour permettre l'écoulement des eaux vers un siphon grillagé antio-deurs et antirongeurs.

Entre le sol et les murs et les murs entre eux, les gorges seront arrondies pour faciliter l'entretien. Pour le travail, il faudra un éclairage artificiel adéquat et ne modifiant pas les couleurs. L'apport de lumière naturelle doit être maximal. L'aération et la ventilation devront être adéquates pour permettre l'évacuation rapide des odeurs, fumées, vapeurs ou buées.

La climatisation devra être à une température compatible avec le travail. Les locaux recevront une fourniture d'eau potable froide et chaude sous pression, et d'énergie, adaptée à chaque activité. L'eau froide doit avoir un débit de 6l/S environ et l'eau chaude un débit de l'ordre de 3l/S (**Rosset et al., 1983**) . L'utilisation d'eau non potable est interdite.

Les portes des accès extérieurs seront soit à fermeture automatique, soit en plastique souple. Les tuyauteries seront calorifugées (**Rosset et al., 1983**).

### **3.2. Différents types de locaux**

Ils seront orientés de façon à ce que les denrées ne soient pas exposées au soleil. Ils prendront l'orientation Nord ou Nord-Est.

#### **3.2.1. Locaux techniques**

##### **3.2.1.1. Magasins**

Le stockage prolongé des denrées doit être prévenu par une bonne rotation en faisant sortir en premier lieu, les plus anciennes.

Les produits alimentaires ne doivent jamais être entreposés à même le sol ou mélangés avec des produits non alimentaires.

Il est nécessaire que ces locaux possèdent un système de lutte contre la poussière et les nuisibles (**Rosset et al., 1983**).

##### **3.2.1.2. Locaux de préparation**

Les locaux et annexes doivent être de dimensions suffisantes afin que les activités professionnelles puissent s'y exercer dans des conditions d'hygiène convenables. Les locaux et postes de travail doivent être disposés de façon à réaliser une progression continue des différentes opérations.

Les installations doivent être conçues de telle sorte que soient prévenues les pollutions à l'intérieur des locaux et annexes, notamment celles provoquées par le vent, les afflux d'eau, les insectes et les rongeurs.

Les locaux et annexes ne doivent pas communiquer directement avec des vestiaires, cabinets d'aisance ou salles d'eau. Ils doivent avoir de l'eau chaude à au moins + 65°C.

Des locaux ou emplacements particuliers doivent être réservés pour l'entreposage des emballages et conditionnements, et pour le dépôt momentané des récipients contenant des déchets (**france, 1974**).

##### **3.2.1.3. Locaux pour poubelles**

La prévention des contaminations nécessite une bonne organisation du travail, afin de limiter et gérer les allées et venues du personnel dans le local des déchets. L'évacuation de ces derniers doit se faire en dehors de la période de préparation des plats en cuisine et avant la

désinfection des locaux. La formation du personnel doit insister sur la nécessité de respecter un sens de circulation afin d'éviter la contamination de secteurs propres après passage dans des secteurs souillés (**Dajon, 2004**).

La solution idéale consiste à avoir en cuisine des chariots montés sur roulettes supportant des sacs poubelles et munis d'un couvercle à commande non manuelle. Les supports restent en cuisine et les sacs sont évacués en temps voulu (**Dajon, 2004**).

Le local à poubelles doit de préférence communiquer directement avec l'extérieur. Sa température est aussi basse que possible et il peut éventuellement disposer d'un quai d'enlèvement spécifique. Dans le meilleur des cas, comme nous avons pu le noter lors de nos visites, ce local sera réfrigéré. Cela n'apparaît pas indispensable si le ramassage des ordures est quotidien. Le nettoyage de cette zone sera facilité par la présence d'un robinet d'eau chaude et d'un système d'évacuation des eaux de lavage par un orifice muni d'une grille et d'un siphon. Certains établissements prévoient un système de recueil des huiles usées (**Dajon, 2004**).

#### **3.2.1.4. Locaux administratifs**

Ce local administratif, lorsqu'il existe, s'avère souvent de faible superficie, plus ou moins bien éclairé et ventilé. Il contient un bureau parfois équipé d'un ordinateur et de son écran. On pourra demander à consulter certains documents volontiers archivés à cet endroit : plan de nettoyage, d'échantillonnages, résultats bactériologiques, fiches de données de sécurité etc... (**Courthiat et al., 1996**).

#### **3.2.2. Réfectoire**

Un local clair, aéré et chauffé est mis à disposition du personnel pour qu'il puisse prendre ses repas. Il est muni d'appareils permettant de réfrigérer les aliments et de les réchauffer et de produire l'eau chaude nécessaire au nettoyage de la vaisselle (**Godefroy, 1985**). Les lavabos et fontaines rafraichissantes doivent exister en nombre suffisant. La disposition des chaises et tables doit faciliter la circulation des personnes et des chariots. Le matériel de table (couteaux, cuillère...) doit être en nombre suffisant pour éviter leur rotation entre les convives (**Ndiaye, 1992**).

### **3.2.2.1. Cabinets d'aisances**

Il convient de mettre à disposition du personnel, les moyens d'assurer la propreté individuelle avec des postes d'eau potable, des lavabos, des toilettes, des vestiaires et des armoires individuelles. Dans les établissements occupant un personnel mixte, des installations nettement séparées doivent être prévues pour le personnel masculin et le personnel féminin.

Les toilettes doivent être en nombre suffisant et réservées au personnel. Ces endroits doivent être bien éclairés, ventilés et, le cas échéant, chauffés ; ils ne doivent pas donner directement sur les locaux dans lesquels circulent des denrées alimentaires. Des lavabos à commande non manuelle distribuant eau chaude et eau froide, un savon bactéricide ou bactériostatique pour se laver les mains, une brosse à ongles et des essuie-mains à usage unique doivent se trouver à proximité immédiate des toilettes et doivent être placés de telle manière que l'employé passe devant en retournant à la zone de travail (**Dajon, 2004**).

### **3.2.2.2. Vestiaires**

Les établissements doivent posséder des locaux aménagés en vestiaires. Suffisamment spacieux, ils sont réservés à l'usage du personnel et conçus de manière à éviter la contamination des vêtements de travail. Les armoires doivent être individuelles, fermant à clés, munies d'une tablette pour la coiffure, d'une tringle porte-cintre et à double compartiment avec deux patères séparant vêtements de ville et de travail. Les effets personnels et les vêtements ne doivent pas être laissés dans les zones de manipulation des aliments (**Aubaille et al., 1992**).

Les vestiaires et les toilettes doivent être tenus propres en permanence et nettoyés au minimum une fois par jour.

## **3.3. Hygiène des locaux**

### **3.3.1. Entretien physique**

Les locaux doivent être en bon état : les fissures et trous dans le mur et le sol, les carrelages défaits, le sol glissant et les peintures écaillées doivent être absents.

### 3.3.2. Entretien hygiénique

Le nettoyage et la désinfection seront réguliers et systématiques.

Le balayage à sec doit être interdit. Les déchets, rebuts et détritrus de toutes sortes seront déposés aussi tôt dans des récipients étanches munis de couvercles, vidés et nettoyés au moins une fois par jour (**Sommar, 1992**). Les extincteurs installés dans ces locaux seront autant que possible à base de produits neutres sans danger sur le plan alimentaire (**Sommar, 1992**).

### 3.3.3. Lutte contre les nuisibles

Ces nuisibles sont les carnivores domestiques, les oiseaux, les rongeurs, les insectes, à l'origine de contaminations microbiennes mais aussi d'autres types de déprédations.

Etant interdits dans ces locaux, il faut empêcher ces nuisibles d'y pénétrer. Pour les rongeurs et insectes, ceci peut se faire en recourant à l'herméticité des locaux, à l'étanchéité des portes et fenêtres et aux moustiquaires pour les fenêtres restant ouvertes.

Pour combattre les rongeurs dans les locaux, il faudra une hygiène et la climatisation, les raticides à et insectes déjà stricte, le froid base d'anticoagulant pour les rongeurs et les insecticides à base de pyrétbrinoïdes (**Bell, 2003**).

## 3.4. Equipement

L'entretien des machines et des équipements peut nécessiter des vérifications périodiques. Ainsi les installations de ventilation doivent être vérifiées annuellement. Les conduits d'évacuation dans les cuisines doivent être entretenus régulièrement et ramonés au moins une fois par trimestre. Le circuit d'extraction d'air, de buées et de graisse doit être nettoyé au moins une fois par an. Les filtres amovibles sont nettoyés aussi souvent qu'il est nécessaire et au minimum une fois par semaine (**Dajon, 2004**).

### 3.4.1. Machines et appareils

Les machines et outils de travail devront être constitués de matériaux autorisés pour les usages alimentaires. Une facilité de démontage des pièces mobiles permettra un nettoyage et une désinfection aisée en tout endroit (**Namkoisse, 1990**).

### 3.4.2. Entretien des équipements

La propreté est de rigueur. Il faut assurer constamment démontage et nettoyage, des filtres d'aspiration de buées et de fumées des hottes (**Alassane, 1998**).

### 3.4.3. Petit Matériel

Il s'agit des tranchoirs, des couteaux, des hachoirs;1 des crochets à viande, des louches. Après chaque utilisation ce matériel doit être démonté éventuellement et trempé dans une solution détergente pendant quelques instants puis brossé et rincé. Il sera ensuite entreposé dans un lieu propre à l'abri des souillures poussières (**Drieux, 1978**).

Ce matériel doit être bien entretenu et remplacé dès qu'il ne satisfait plus aux règles d'hygiène (**Rosset R et al., 1983**).

## 3.5. Nettoyage et Désinfection

Maintenir la propreté dans l'établissement de travail est un objectif sanitaire et de service : il est important pour d'avoir une sensation de propreté et cette propreté est une condition de base de la maîtrise de la sécurité des aliments. Au même titre que l'organisation de la cuisine et de la production, l'organisation du plan de nettoyage est une étape de base dans la démarche de création d'une enseigne (**Merouze et Tondusson, 1997**).

### 3.5.1. Nettoyage

Le nettoyage est une opération d'élimination des salissures (particulières, biologiques, liquides, etc.) à l'aide d'un procédé faisant appel, dans des proportions variables, aux facteurs suivants : action physico-chimique (détergence), action chimique (par exemple action des enzymes), action mécanique (jets, brosses), temps d'action et températures (**Isoard, 1988**).

On admet généralement que le nettoyage résulte de quatre mécanismes, seuls ou combinés, contribuant à séparer la souillure de la surface et à la disperser dans le détergent (**Bellon-Fontaine et Cerf, 1988**) :

1. **Solubilisation:** Les substances contaminantes sont absorbées par le liquide de nettoyage et s'y dissolvent ;

2. **Emulsification:** Les molécules tensioactives du détergent s'adsorbent à la surface des produits contaminants et abaissent leur tension superficielle. Le film encrassant se rétracte sur lui-même et les gouttelettes formées sont entraînées dans la solution ;
3. **Micellisation:** Les molécules tensioactives forment des micelles hydrophiles à l'extérieur et hydrophobes à l'intérieur. Les molécules hydrophobes des substances contaminantes forment des gouttelettes qui sont emprisonnées dans les micelles et sont entraînées avec elles ;
4. Action mécanique : L'énergie cinétique du liquide de nettoyage contribue à l'arrachement d'agrégats de substances contaminantes.

Tableau 03 : Choix de l'agent nettoyant (Hyginov, 1995)

Composants de la souillure	Agent nettoyant		
	Famille	Exemples d'agents	Caractéristiques
Sucres solubles	Alcalins	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Soude</li> <li>• Potasse</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Solubilisant</li> <li>▪ Saponifiant</li> </ul>
	Autres glucides	Alcalins	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪</li> </ul>
Protéines	Produits enzymatiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lipases</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Hydrolysant</li> <li>▪ Désagrégant</li> </ul>
	Alcalins	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Soude</li> <li>• Potasse</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪</li> </ul>
Matières grasses	Tensioactifs	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anioniques</li> <li>• Cationiques</li> <li>• Non ioniques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Mouillant</li> <li>▪ Emulsifiant</li> </ul>
	Produits enzymatiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lipases</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Hydrolysant</li> <li>▪ Désagrégant</li> </ul>
Minéraux	Acides	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chlorhydrique</li> <li>• Nitrique</li> <li>• Phosphorique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Solubilisant</li> </ul>
	Séquestrants (Chélatants)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• EDTA</li> <li>• Polyphosphates</li> <li>• Gluconate</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Séquestrant</li> </ul>
Tartre Eonologique	Alcalins	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Soude</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solubilisant</li> </ul>

### 3.5.2. Agents de nettoyage

Les produits de nettoyage sont le plus souvent formulés avec plusieurs principes actifs, généralement un composé alcalin ou acide agissant respectivement sur les souillures organiques et les dépôts minéraux, des agents tensioactifs responsables de l'action détergente, des séquestrants et des chélatants, des anti-moussants et enfin des inhibiteurs de corrosion (Bellon-Fontaine & Cerf, 1988).

En France, un arrêté ministériel décrit comme “liste positive ” les composés chimiques de base, utilisables en décontamination bactériologique et chimique des surfaces pouvant se trouver au contact des denrées alimentaires.

Au stade expérimental, quelques substances sont connues pour améliorer le détachement des biofilms. C’est le cas de l’EDTA et de l’EGTA qui chélatent les cations et en particulier le calcium dont le rôle dans la cohésion du biofilm a été démontré (**Turakhia & Characklis, 1989**). Les enzymes protéolytiques et glycolytiques peuvent aussi partiellement détacher les biofilms (**Wiatr, 1991**).

Le choix d’un détergent dépend des paramètres liés à son utilisation, à savoir, la nature de la souillure, le support, la qualité de l’eau, la température de nettoyage et l’action mécanique et/ou le procédé de nettoyage (**Vasseur, 1999**) (Tab. 4).

L’action chimique des produits de nettoyage est insuffisante sur les biofilms car même dans le meilleur des cas, les contaminations résiduelles restent très importantes. Une action mécanique (brosse, jets à moyenne et haute pressions) s’avère bien plus efficace pour l’élimination des biofilms (**Bourion, 1996**). Cependant la structure des équipements ne rend pas toujours ce type de nettoyage possible.

### 3.5.3. Désinfection

La norme NF T 72-101 (**Afnor, 1981**) définit le terme de désinfection comme une opération, au résultat momentané, permettant d’éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d’inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés, en fonction des objectifs fixés.

**Tableau 04** : Liste des produits chimiques autorisés en désinfection (Maris, 1995).

Famille chimique	Exemples (s)	Mode d'action
<b>Produits chlorés</b> <b>Dérivés iodés</b>	▪ Hypochlorites alcalins	♦ Dénaturation des protéines
	▪ Chlorure d'iode	♦ Halogénéation des composés soufrés des protéines ♦ Blocage de la chaîne respiratoire
<b>Oxydants</b> <b>Aldéhydes</b>	▪ Peroxyde d'hydrogène Eau oxygénée	♦ Oxydation non sélective des constituants organique
	▪ Formaldéhyde	♦ Dénaturation des protéines par formation de points méthylène ♦ Alkylation des acides nucléiques
	▪ Glutaraldéhyde	♦ Les groupements aldéhydes interfèrent avec les groupements aminés des cellules microbiennes
<b>Ammoniums Quaternaires</b> <b>Amphotères</b> <b>Biguanidine</b>	▪ Chlorure de benzalkonium	♦ Le cation réagit avec les groupements ioniques des acides aminés et entraîne des perturbations stérique
	▪ Amines grasse	♦ Antagonistes des acides aminés
	▪	♦ Lésions membranaires et fuite du matériel cellulaire
<b>Acide peracétique</b> <b>Composés phénolique</b>	▪	♦ Oxydation des protéines et lipides des micro-organismes
	▪ Hexachlorophenol	♦ Inactivation des enzymes transmembranaires
<b>Ozone</b>		♦ Oxydation

**Tableau 05** : Spectre d'activité des principaux désinfectants (Isoard, 1988)

Désinfectants	Bactéries		Mycobactéries	Spores	Moisissures	Levures	Virus phages
	G(-)	G(+)					
<b>Acide peracétique</b>	+++	+++		++	++	++	++
<b>Alcools</b>	++	++		0	++	++	+
<b>Alcool à 70°</b>	++	++	0	+	+	++	+
<b>Aldéhydes : Glutaraldéhyde</b>	+++	+++	++	+	+++	++	++
<b>Ammoniums quaternaires</b>	+++	+*	0	0	+	+	+
<b>Ampholères</b>	+++	+		0	+	+	0
<b>Biguanidine</b>	++	++		0	(+)	(+)	0
<b>Chloroexidine</b>	+++	++	+	0	+	+	0
<b>Chlore</b>	+++	+++	++	++	++	++	++
<b>Dérivés mercuriels</b>	++	++	0	0	+	+	
<b>Dérivés phénoliques</b>	Activité variable selon le composé						
<b>Eau oxygénée</b>	+++	+++		+	+	+	0
<b>Iode</b>	+++	+++	++	++	++	++	++

\* : Inactif sur *pseudomonas sp.*

0 : Activité nulle

(+) : Activité inconstante

+ : Activité moyenne

++ : Bonne activité

+++ : Très bonne activité

### 3.5.4. Agents de désinfection

Il existe à l'heure actuelle de nombreux agents de désinfection tant chimiques (Tab 5) Que physiques :

Les agents chimiques : Classés en six grands groupes (les halogènes, les oxydes et peroxydes, les aldéhydes, les agents tensioactifs, les acides et bases et les alcools) (Annexe 2), ils sont souvent inadaptés en tant que désinfectants, car ils agissent trop lentement ou ne développent qu'une action inhibitrice (Vasseur, 1999). Le choix du désinfectant dépend principalement de son spectre d'activité (Tableau 5), alors que l'efficacité de la désinfection

est conditionnée par la concentration du produit, le mode d'application, la température et le temps d'application.

Les agents physiques : La désinfection par la chaleur (sèche ou humide) est un des procédés d'élimination des micro-organismes les plus utilisés. La chaleur a pour effet de coaguler les protéines cellulaires et donc de détruire les organismes vivants. Il existe par ailleurs d'autres procédés de désinfection non thermiques comme les traitements par ultraviolets de longueur d'onde de 200 à 280 nanomètres, qui sont utilisés pour les petits ustensiles et les traitements par rayonnements ionisants (Cobalt60, Césium137) utilisés à la surface des emballages ou directement sur des denrées alimentaires (**Vasseur, 1999**).

### **3.5.5. Mécanismes de la désinfection**

L'inactivation des micro-organismes résulte de dénaturation, de lyse, d'altération, etc. d'un ou plusieurs éléments vitaux de la cellule tels la membrane, la paroi, le chromosome, les plasmides, les enzymes, etc. (**Briandet, 1999**). Dans le cas de la désinfection chimique, la première étape des interactions entre le désinfectant et la cellule bactérienne consiste en la fixation du produit sur la capsule ou la paroi cellulaire de celle-ci et au franchissement de ces enveloppes. On assiste alors ensuite, soit à une altération de la membrane cytoplasmique qui assure les fonctions essentielles à la vie des bactéries (production d'énergie, transport actif des nutriments, etc.), soit à une atteinte des constituants intracellulaires, telles que les protéines de structure; phénomène qui provoque une désorganisation du métabolisme, une fuite des substances, la dégénérescence de la cellule et finalement sa mort (**Pieto & Bardoneschi, 1990**). Notons en outre que les cibles sont variables selon le groupe auquel appartient le désinfectant (**Molinier, 1985**).

### **3.5.6. Protocole de nettoyage et de désinfection**

Les procédures de nettoyage et de désinfection doivent être précisées car chaque surface et chaque matériel présentent des caractéristiques particulières. Il s'agit à la fois d'assurer une bonne opération de nettoyage et de prévenir toute dégradation du matériel.

Tableau 06: Description des différentes techniques d'entretien (Hyginov, 1995)

	Définition	Objectifs	Matériel	Matériel Pratique
<b>Essuyage humide</b>	Opération de récupération des salissures non adhérentes sur les surfaces autres que les sols	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ Eliminer les salissures.</li> <li>♦ Limiter leur mise en suspension dans l'atmosphère.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ Chiffonnette réutilisable (si possible en microfibre) ou à UU.</li> <li>♦ Solution d*, d/D** sols ou surfaces hautes.</li> </ul>	<p>Plier la chiffonnette en 6 parties (6 faces de nettoyage).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>♦ Essuyer en 1 seul passage (du haut vers le bas, du propre le sale).</li> <li>♦ Déplier au fur et à mesure la chiffonnette.</li> <li>♦ Changer la chiffonnette aussi souvent que nécessaire.</li> </ul>
<b>Balayage humide</b>	Opération de récupération des salissures non adhérentes sur les sols secs et lissés	<p>Eliminer jusqu'à 90 % des salissures.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>♦ Limiter leur mise en suspension dans l'atmosphère.</li> </ul>	<p>Balai.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>♦ Gaze pré imprégnée à UU ou bandeau réutilisable.</li> <li>♦ Solution d, d/D sols ou surfaces hautes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ Poser la gaze sur le sol.</li> <li>♦ Placer le balai dessus, « la clipper ».</li> <li>♦ Ne jamais soulever le balai.</li> <li>♦ Changer la gaze aussi souvent que nécessaire.</li> <li>♦ Travailler selon les méthodes dites : <ul style="list-style-type: none"> <li>♦ « au poussé » utilisée pour les couloirs,</li> <li>♦ Ou à la « godille » utilisée pour les chambres.</li> </ul> </li> </ul> <p>1- Détourage. 2- Commencer au fond de la pièce et revenir sur le seuil de la porte.</p>
<b>Lavage à plat</b>	Action chimique et Mécanique permettant d'éliminer les salissures adhérentes sur les sols.	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ Obtenir une propreté visuelle (détergent)</li> <li>♦ Obtenir une propreté bactériologique en réduisant le nombre de micro organismes présents sur le sol (d/D) ou les surfaces hautes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ Balai,</li> <li>♦ Frange ou bandeau pour semelle de lavage à plat de préférence et si possible en micro fibre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ Poser le bandeau ou frange sur le sol.</li> <li>♦ Placer le balai dessus.</li> <li>♦ « clipper ».</li> <li>♦ Ne jamais soulever le balai.</li> <li>♦ Travailler selon les méthodes dites : <ul style="list-style-type: none"> <li>♦ « au poussé » utilisée pour les couloirs,</li> <li>♦ Ou à la « godille » utilisée pour les chambres (idem ci-dessus).</li> </ul> </li> </ul>

\* d : détergent., \*\* d/D : détergent/Désinfectant.

### 3.6. Personnel

Le personnel doit être considéré comme le moteur même de cette machine d'hygiène (**Chouman et al., 2010**). Sans un comportement hygiénique de sa part, il ne peut vraiment pas y avoir de salubrité. Les locaux, le matériel, et les denrées sont beau être propres, l'homme demeure pour eux le principal facteur de contamination et de dissémination des microbes. Aussi, son hygiène doit-elle être rigoureusement surveillée (**Udgori et Masali, 2007**).

#### 3.6.1. Etat de santé

L'état de santé des employés est un élément clé de la sécurité des aliments (**Zeru K et al., 2007**). Un employé malade ou présentant une blessure peut transmettre des germes infectieux. Toute personne malade doit porter un masque lors de la préparation des produits et toute blessure des mains et des bras doit être protégée par un pansement. Par ailleurs, il est important de rester vigilant après un épisode de maladie, un individu pouvant se révéler porteur sain de germes infectieux (**Mcswane et Kumie, 2000**).

#### 3.6.2. Hygiène corporelle

Elle comprend la toilette du corps, de la chevelure de façon régulière et la toilette fréquente des mains avant chaque reprise de travail et après chaque contact avec une surface ou un objet sale. En particulier à la sortie des cabinets d'aisance, après s'être mouché ou avoir gratté une plaie, effectué des manipulations dans le local des poubelles, le personnel doit se laver les mains avec une solution antiseptique (**Çekal, 2008**).

Pour un nettoyage plus efficace des mains, il faudrait avoir des ongles courts, bien les brosser et d'interdire le port de bijoux (bagues, bracelets) pendant le travail (**Billon, 1987**).

#### 3.6.3. Propreté vestimentaire

Les vêtements sont un vecteur actif de contamination des produits dans la chaîne de production. Les vêtements de ville transportent en effet des microorganismes humains et telluriques. Afin d'éviter une contamination par des agents pathogènes apportés de l'extérieur par le personnel, il est obligatoire que le personnel change ses vêtements de ville contre une

tenue de travail au vestiaire dès l'entrée sur le lieu de travail. Les chaussures doivent être propres et fermées. Les opérations salissantes (préparation des salades et denrées « telluriques ») nécessitent le port d'un tablier. Enfin, le linge doit être de nature à éviter l'ancrage de microorganismes (éviter plis, boutons et utilisation de coton et polyester). Les cheveux doivent être propres, attachés et recouverts par un calot changé à chaque service (**Cekal, 2008**).

### **3.6.4. Formation professionnelle**

La formation du personnel aux règles de l'hygiène est essentielle et doit comporter un enseignement adapté aux auditeurs car un règlement, même strictement suivi, perd beaucoup d'efficacité quand il n'est pas compris la plupart des gestes dangereux étant commis par ignorance ou par négligence (**Cekal, 2008**).

### **3.7. Denrées alimentaires**

On ne doit accepter aucun produit contaminé, ou supposé tel, par des parasites le rendant impropre à la consommation humaine (**Zeru K et Kumie, 2007**).

Les matières premières et ingrédients entreposés doivent être conservés dans des conditions adéquates. Ces conditions ont pour objet, d'une part, d'éviter toute détérioration néfaste et d'autre part, de protéger les denrées contre toute contamination susceptible de les rendre impropres à la consommation humaine (**Zeru K et Kumie, 2007**).

Il est impératif de lutter contre les organismes nuisibles et d'empêcher que les animaux domestiques aient accès aux endroits de stockage ou de préparation (**Ferreira, 2006**).

On ne doit pas conserver de produits à des températures qui pourraient entraîner un risque pour la santé. La chaîne du froid (maintien entre 0 et 4°C) ne doit en aucun cas être interrompue. On peut toutefois soustraire ces produits du froid pour une courte durée à des fins pratiques (**Ferreira, 2006**). Les exploitants doivent disposer de locaux adaptés, suffisamment vastes pour l'entreposage séparé des matières premières, comme des produits transformés, et disposer d'un espace d'entreposage réfrigéré suffisant (**Sommar, 1992**).

Le respect de la chaîne du chaud s'impose : un aliment doit être rapidement monté en température supérieure à 63°C et y être maintenu.

La descente thermique doit être la plus rapide possible pour atteindre la température de conservation à froid (3°C).

Les denrées alimentaires conservées ou servies à basse température doivent être réfrigérées dès que possible après le stade de traitement thermique ou, en l'absence d'un tel traitement, après le dernier stade de l'élaboration, à une température n'entraînant pas de risque pour la santé (Delaunay, 2011).

La décongélation des denrées alimentaires doit être effectuée de manière à réduire le risque de développement de micro-organismes pathogènes ou la formation de toxines. Pendant la décongélation, les denrées alimentaires sont soumises à des températures qui n'entraînent pas de risque pour la santé : la décongélation à l'air ambiant est prohibée. Tout liquide résultant de la décongélation susceptible de présenter un risque pour la santé est évacué d'une manière appropriée.

Les substances dangereuses et/ou non comestibles, y compris les aliments pour animaux, doivent faire l'objet d'un étiquetage approprié et être entreposées dans des conteneurs sûrs et séparés (Delaunay, 2011)

**Tableau 07 :** Températures maximales des denrées congelées (Delaunay, 2011).

NATURE DES DENRÉES	TEMPÉRATURE de conservation au stade de l'entreposage ou du transport	TEMPÉRATURE de conservation dans les établissements de remise directe ou de restauration collective
Glaces, crèmes glacées	- 18 °C	- 18 °C
Viandes hachées et préparations de viandes congelées	- 18 °C	- 18 °C
Produits de la pêche congelés	- 18 °C	- 18 °C
Poissons entiers congelés en saumure destinés à la fabrication de conserves	- 9° C	- 9 °C
Autres denrées alimentaires congelées	- 12 °C	- 12 °C

**Tableau 08** : Températures maximales des denrées réfrigérées (Delaunay, 2011).

NATURE DES DENRÉES	TEMPÉRATURE de conservation au stade de l'entreposage ou du transport	TEMPÉRATURE de conservation dans les établissements de remise directe ou de restauration collective
Viandes hachées	+ 2° C viande hachée + 4° préparation viande	+ 2 °C
Abats d'ongulés (d'élevage ou sauvage)	+ 3°C	+ 3 °C
Préparations de viandes	+ 4 °C	+ 4 °C
Viandes séparées mécaniquement	+ 2 °C	+ 2 °C
Viandes de volailles (y compris petit gibier d'élevage à plumes), de lagomorphes (y compris petit gibier d'élevage à poils), de ratites et de petit gibier sauvage	+ 4 °C	+ 4 °C
Viandes d'ongulés domestiques, viandes de gibier ongulé (d'élevage ou sauvage)	+ 3° C	+ 7 °C pour les carcasses entières et pièces de gros + 4 °C pour les morceaux de découpe
Produits de la pêche frais, produits de la pêche non transformés décongelés, produits de crustacés et de mollusques cuits et réfrigérés	Température de la glace fondante : 0 à + 2 °C.	+ 2 °C
Produits de la pêche frais conditionnés	Température de la glace fondante : 0 à + 2 °C.	Température de la glace fondante 0 à + 2 °C
Ovoproduits à l'exception des produits UHT.	+ 4 °C	+ 4 °C
Lait cru destiner à la consommation	+ 4 °C	+ 4 °C
Lait pasteurisé	Température définie sous la responsabilité du fabricant ou du conditionneur	Température définie sous la responsabilité du fabricant ou du conditionneur
Fromages affinés	Température définie sous la responsabilité du fabricant ou du conditionneur	Température définie sous la responsabilité du fabricant ou du conditionneur
Autres denrées alimentaires très périssables	Température définie sous la responsabilité du fabricant ou du conditionneur	+ 4 °C
Autres denrées alimentaires périssables	Température définie sous la responsabilité du fabricant ou du conditionneur	+ 8 °C
Préparations culinaires élaborées à l'avance	+ 3 °C	+ 3 °C

#### 4. PLAN HACCP

Dans le cadre du plan de maîtrise sanitaire, le plan HACCP a son application strictement limitée à la **sécurité des aliments** et repose sur le fait que les mesures de maîtrise ont des effets mesurables sur le produit fini (**Legnani et al., 2004**).

Terme anglais, « **HACCP** » est l'abréviation de Hazard Analysis Critical Control Points et est généralement traduit par analyse des dangers et points critiques pour leur maîtrise.

L'HACCP est une méthode basée sur la prévention qui est décrite en sept principes et douze étapes dans le Codex Alimentarius.

C'est un système simple et logique de maîtrise et de gestion des risques alimentaires, que le danger soit chimique, microbiologique ou physique, permettant :

- d'identifier et d'évaluer les risques associés à chaque étape de production ;
- de définir les moyens nécessaires à leur maîtrise et à leur surveillance ;
- de s'assurer que ces moyens sont mis en œuvre efficacement.

La méthode HACCP est basée sur 7 principes:

- 1- Analyser les dangers
- 2- Déterminer les points critiques pour la maîtrise (CCP)
- 3- Établir les limites critiques pour chaque CCP
- 4- Établir un système de surveillance pour chaque CCP
- 5- Établir des mesures correctives
- 6- Établir des procédures de vérification
- 7- Établir un système d'enregistrement et de documentation

Les facteurs de contamination et de prolifération microbienne sont identifiés à partir de la méthode des 5M (principe 1 de la méthode HACCP). Cette méthode énumère les sources possibles de la contamination qui sont les suivantes :

- La matière première qui peut contenir des micro-organismes et être une source de contamination par rapport à un autre produit
- Le matériel : prend en compte les plans de travail et ustensiles en contact avec les matières premières pouvant être source de contamination par manque de désinfection

- La méthode : techniques opérationnelles appliquées par le personnel de cuisine
- Le milieu : représente l'air, le sol, les murs, plafonds, surfaces...
- La main d'œuvre : représente le personnel qui est porteur de germes (tenue, hygiène corporelle) et est susceptible de contaminer les denrées alimentaires.

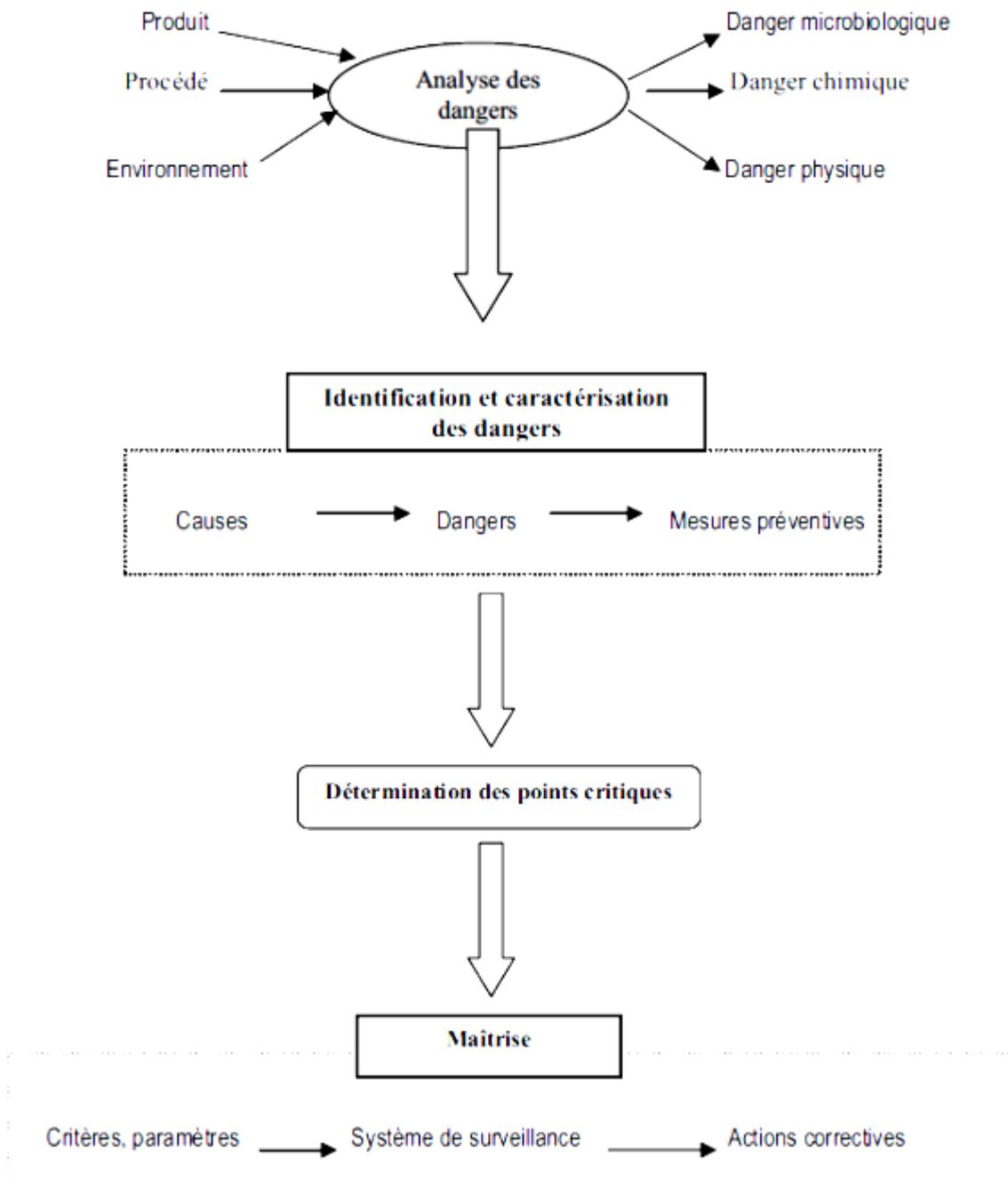


Figure 05 : La méthode HACCP (Cosson *et al.*, 2003).

## 5. TOXI-INFECTION ALIMENTAIRE COLLECTIVE

### 5.1. 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 victimes d'une « indigestion ». Mais l'unité de temps (simultanéité des cas) et l'unité de lieu (focalisation des cas) ne sont pas constamment observées. Dans plus de 90 % des cas, c'est devant une gastro-entérite aiguë typique, associant de façon variable nausées, crampes épigastriques, vomissements, diarrhée, fièvre, 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**).

### 5.2. 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 localisation est habituellement iléo-colique et la 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 sein même de l'aliment, est responsable du 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 de sang dans les selles. La fièvre est absente ou modérée. Le risque de déshydratation aiguë est important. 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*, 1998).

### 5.3. Les principaux germes pathogènes responsables des TIAC

#### 5.3.1. *Salmonella*

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.

##### 5.3.1.1. Maladie humaine (*Salmonellose*)

Il n'existe pas de publications relatives à la relation dose-effet (Colin, 2009). Concernant la dose-réponse, l'OMS indique que la dose de *S. Enteritidis* provoquant des troubles chez 50% des consommateurs est de l'ordre de 10 000 bactéries mais ne conclut pas sur le caractère extrapolable de cette relation aux sérotypes (Anderson *et al.*, 2002).

La durée d'incubation est de 12 à 36 heures.

Cliniquement, les salmonelloses se manifestent par une diarrhée fébrile accompagnée de vomissements et de douleurs abdominales. Elles peuvent entraîner des bactériémies et se compliquer de septicémies ou de localisations secondaires extra-digestives qui font la gravité de la maladie. Les signes vont durer spontanément 2 à 3 jours pour disparaître rapidement.

Le diagnostic sera confirmé par la coproculture qui identifiera la souche. L'antibiothérapie ne modifie pas l'évolution clinique et peut au contraire contribuer à prolonger le portage de la souche. Elle n'est donc pas indiquée en règle générale, sauf chez le sujet présentant un déficit immunitaire, chez le jeune enfant, chez la personne âgée, chez le sujet porteur d'une prothèse vasculaire ou articulaire, chez le drépanocytaire et enfin dans les formes cliniques sévères, avec altération de l'état général. Les antibiotiques utilisés sont soit l'amoxicilline, le cotrimoxazole ou mieux des fluoroquinolones systémiques pour une durée de 5 jours (Garcia *et Heredia*, 2009).

### 5.3.1.2. Aliments impliqués

Lors de différentes enquêtes relatives aux déclarations de TIA, les principaux aliments impliqués sont principalement les œufs et ovoproduits, ainsi que les viandes (volailles principalement)

(**Colin, 2009**). Cependant les cas décrits dans la littérature font état de nombreux autres aliments responsables. Des résultats d'investigations d'épidémies à *Salmonella* indiquent des épidémies liées à la consommation de Cantal au lait cru (**Haeghebaert et al., 2002**), et de poudre de lait infantile (**Brouard et al., 2006**).

D'une manière générale, tout aliment peut se révéler contaminé par *Salmonella* dès lors qu'une possibilité de transfert de contamination est possible à n'importe quelle étape de la chaîne alimentaire.

Les moyens de maîtrise visent en premier lieu à éviter les contaminations initiales, notamment par la mise en place de moyens de prévention des contaminations microbiologiques ainsi que le respect des bonnes pratiques hygiéniques.

Le maintien de la chaîne du froid au cours du transport et du stockage des aliments est également un élément important de maîtrise.

Les souches de *Salmonella* sont relativement sensibles aux traitements physiques. Une investigation montre le rôle important de la viande de bœuf hachée insuffisamment cuite dans la survenue des salmonelloses, et la nécessité de bien cuire la viande (**Loury et al., 2009**).

### 5.3.2. *Staphylococcus aureus* et enterotoxines staphylococciques

Coque à Gram positif, non sporulé, immobile, aéro-anaérobie facultatif. *S. aureus*, espèce type du genre *Staphylococcus* produit de nombreuses toxines dont les entérotoxines staphylococciques (SEs) responsables d'épidémies liées à *S. aureus*. A ce jour 21 sérotypes différents (SEA à SEE, SEG à SEV) ont été décrits dont six types ont été impliqués dans des intoxications : SEA (le plus détecté) à SEE, SEH. Contrairement à la bactérie, les SEs sont stables dans les conditions de traitement thermiques généralement appliqués aux aliments.

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 ont également été isolés de l'environnement naturel, domestique de l'Homme, hospitalier et des ateliers de préparation alimentaire. La présence de ce germe dans

l'environnement est vraisemblablement due à une contamination par l'Homme ou les animaux **(De Buysers et Hennekinne, 2009)**.

### 5.3.2.1. Maladie humaine

La maladie humaine d'origine alimentaire est une intoxication entraînée uniquement par l'ingestion de SE performée dans l'aliment, dans lequel *S. aureus* ou autre staphylocoque producteur de SE a pu se développer de façon à produire sa toxine.

Le pic d'incidence des TIAC par les staphylocoques survient en période estivale. L'incubation est généralement courte et varie de 1 à 4 heures. Les symptômes sont déclenchés par l'ingestion d'aliments contenant le germe à la suite d'une manipulation des aliments par un sujet porteur d'une staphylococcie cutanée ou rhinopharyngée **(Bennett, 2005; Dinges et al., 2000)**.

Elles se distinguent sur le plan clinique par des vomissements précoces suivis d'une diarrhée abondante sans fièvre **(Bergdoll, 1989)**. Des signes de choc peuvent survenir. Le lysotypage de la souche et si possible l'identification de l'entérotoxine dans les aliments suspectés et éventuellement dans les selles ou les vomissements des sujets malades, permettent d'affirmer la responsabilité du germe. La source de l'épidémie est identifiée quand le germe est retrouvé au niveau des fosses nasales chez le personnel qui a manipulé les aliments **(Bergdoll, 1989; Kérouanton et al., 2007)**.

### 5.3.2.2. Aliments impliqués

*S. aureus* peut être isolé d'aliments très variés. Les aliments les plus « à risque » sont : les viandes, volailles et jambon, cuits et tranchés, salades composées, gâteaux à la crème, plats cuisinés manipulés après cuisson (plus l'aliment est manipulé, plus le risque est élevé); les aliments fermentés à acidification lente permettant la croissance de *S. aureus* durant la fermentation, par exemple le fromage **(Ostyn et al., 2010)** ou le salami ; les produits séchés ou à teneur en eau réduite, dans lesquels la croissance de *S. aureus* a pu être favorisée à une étape de la fabrication ou du stockage par une activité de l'eau réduite et une température favorable (35-41°C), par exemple, le lait en poudre, les pâtes, les poissons séchés.

Les plats ayant nécessité des manipulations humaines et secondairement, les produits laitiers ont été les aliments les plus fréquemment associés aux intoxications à staphylocoque rapportées en France (**De Buyser et Hennekinne, 2009**).

La prévention des intoxications à staphylocoques est basée sur des mesures d'hygiène visant à éviter ou à limiter la contamination des aliments par *S. aureus*.

Destruction des ESs : aucun traitement compatible avec les procédés agro-alimentaires ne permet de garantir une inactivation complète (**De Buyser et Hennekinne, 2009**).

### 5.3.3. *Clostridium perfringens*

Bacille Gram positif, immobile, sporulé, anaérobie stricte mais aérotoleérant. *C. perfringens* sécrète de nombreuses toxines et enzymes hydrolytiques dont l'enterotoxine, synthétisée au cours de la sporulation, responsable de d'intoxication alimentaire. Selon les principales toxines produites, les souches de *C. perfringens* sont classiquement classées en cinq toxinotypes (Type A à E).

*Clostridium perfringens* type A est le type responsable des TIAC chez l'homme. Le sérotypage permet de caractériser la souche responsable de l'épidémie (**Avignon et al, 2001**).

Contrairement aux spores, l'enterotoxine est thermolabile ; elle est détruite en solution saline par un chauffage de 5 minutes à 60°C (**Poumeyrol et Popoff, 2006**).

#### 5.3.3.1. Maladie humaine

Les symptômes apparaissent entre 6 et 24 heures, généralement 10 à 12 heures, après l'ingestion du repas contaminé. Ils se traduisent surtout par de la diarrhée et de violents maux de ventre, parfois de nausées.

Les aliments ou préparations culinaires responsables d'intoxication alimentaire contiennent au minimum  $10^5$  formes végétatives vivantes de *C. perfringens* entérotoxigènes par gramme (**Poumeyrol et Popoff, 2006**).

*Clostridium perfringens* étant normalement présent dans les selles, la certitude diagnostique repose non pas sur la coproculture, mais sur la numération de bactéries dans l'aliment suspecté (**Labbé, 2000**). L'identification du germe dans les aliments consommés et les selles des malades nécessite des conditions strictes d'anaérobiose.

### 5.3.3.2. Aliments impliqués

Ce sont les préparations à base de viande qui sont les plus fréquemment à l'origine d'intoxication alimentaire. Le plus souvent, il s'agit de préparations culinaires réalisées à l'avance et en grande quantité. Les aliments les plus typiques sont des viandes en sauce, cuisinées en grand volume et à l'avance, qui n'ont pas été refroidies suffisamment vite entre le moment de leur préparation et celui où elles atteignent la température ambiante. Les préparations en forte teneur en amidon, comme les haricots sont également à risque.

Les matières premières sont faiblement contaminées (sous le seuil de risque d'intoxication  $10^5/g$ ). La cuisson détruit la plupart des formes végétatives, mais pas ou peu les spores. L'ébullition favorise les conditions d'anaérobiose suffisante pour la croissance de *C. perfringens* (dégazage). Les préparations en grand volume sont propices à cet effet (ré-oxygénation plus lente que dans les petits volumes).

Etant donné que *C. perfringens* se multiplie rapidement dans un milieu à base de viande ou d'amidon dans un intervalle de température entre 50 et 30°C, un maintien des préparations culinaires pendant plusieurs heures dans cette gamme de température rend possible une prolifération de cette bactérie au-delà du seuil critique.

La mesure principale concerne la maîtrise de la température de conservation des plats cuisinés dans l'intervalle +10 et +63°C. Les plats cuisinés à l'avance doivent être conservés soit à des températures supérieures à 63°C, soit inférieures à 10°C.

Le réchauffage des plats cuisinés à l'avance doit se faire à une température d'au moins 75°C (Poumeyrol et Popoff, 2006).

### 5.3.4. *Clostridium botulinum*

*Clostridium botulinum* est un bacille à Gram positif (faible) aux extrémités arrondies. Il est mobile (6 à 20 cils péritriches). Il n'est pas capsulé. Le réservoir est ubiquitaire. *C. botulinum* entraîne des toxi-infections graves. Cette bactérie est responsable d'une neuro-intoxication (Charles et Jean, 2005).

#### 5.3.4.1. Maladie humaine

La durée d'incubation est de 2 heures à 8 jours, en général entre 12 et 36 heures.

Cliniquement, parfois précédés de nausées et de vomissements, les signes sont d'ordre neurologique : diplopie troubles de l'accommodation, dysphagie, sécheresse des muqueuses ; et dans les cas graves, paralysies motrices pouvant atteindre les muscles respiratoires. Fait important, il n'y a ni fièvre, ni signe méningé ou d'atteinte du système nerveux central.

Evolution : le botulisme est une toxi-infection grave. Le type toxémique influence le pronostic. Le type A est plus sévère que le type B et le E que le A. Les autres facteurs déterminants sont: l'âge, la durée d'incubation (plus grave si plus court), la race (plus sévère chez les asiatiques), la survenue de complications infectieuses, ou d'atteintes des voies respiratoires (**Shapiro et al., 1998**).

#### **5.3.4.2. Aliments impliqués**

Les aliments contaminés sont habituellement les conserves n'ayant pas subi une cuisson préalable suffisante: conserves domestiques, poissons fumés, La neurotoxine protéique produite est thermolabile (**Lund et Peck, 2001; Sharma et Whiting, 2005**).

#### **5.3.5. *Listeria monocytogenes***

*Listeria monocytogenes* est un bacille à Gram positif ubiquiste et environnemental, résistant et pouvant se multiplier à basse température (réfrigérateur) (**Farber, J et al., 2000**). Après colonisation temporaire du tube digestif à partir d'aliments fortement contaminés, comme certains fromages à pâte molle à base de lait non pasteurisé (**Malvy et al, 1998**).

##### **5.3.5.1. Maladie humaine**

La listériose peut se manifester sous forme sporadique ou épidémique. La listériose de l'adulte est typiquement à symptomatologie neuroméningée. La listériose de la femme enceinte survient avec contamination fœtale par voie sanguine transplacentaire ou transmembraneuse à partir du liquide amniotique infecté par des abcès placentaires. Elle est difficile à dépister, voire asymptomatique, et révélée par ses conséquences obstétricales. En l'absence de traitement, les conséquences sont redoutables pour l'enfant (avortements précoces surtout du 2<sup>e</sup> trimestre, accouchements prématurés, seulement 20 % de naissances à terme. Les principes du traitement comprennent l'administration d'une pénicilline A

(amoxicilline) et de cotrimoxazole, voire un aminoside dans les formes sévères (**Malvy et al., 1998**).

### 5.3.5.2. Aliments impliqués

Toutes les grandes catégories d'aliments, qu'il s'agisse du lait et des produits laitiers, de la viande crue et des produits carnés, des végétaux, ou encore des poissons ou crustacés et des plats préparés peuvent être contaminés par cette bactérie, avec des fréquences et des taux de contamination variables. La fréquence de contamination par *L. monocytogenes*, ainsi que le niveau de contamination, varient selon les catégories d'aliments, qu'il s'agisse d'aliments crus ou transformés. Les aliments cuits peuvent également rester contaminés à la suite d'un traitement thermique insuffisant ou être contaminés par une contamination croisée post-traitement (**Lailier, 2006**).

### 5.3.6. *Bacillus cereus*

*B. cereus* est un bacille à Gram positif, sporulé, aéro-anaérobie facultatif. Il fait partie d'un ensemble d'espèces apparentées, souvent regroupées dans la littérature sous le terme «*Bacillus cereus sensu lato*».

*B. cereus sensu lato* a été récemment subdivisé en 7 groupes génétiques, les espèces traditionnelles se répartissant chacune dans un ou plusieurs groupes (**Guinebretiere et al., 2008**). Le groupe VI, le plus psychotrophe n'a pas pour l'instant été associé à des TIA.

*B. cereus* est retrouvé sous forme de spores dans le sol ( $10^4$  -  $10^5$  spores/g de sol).

#### 5.3.6.1. Maladie humaine

*B. cereus* est à l'origine de deux types de maladies transmises par les aliments (**Efsa, 2005**). D'une part une maladie caractérisée par des symptômes diarrhéiques, accompagnés de douleurs abdominales, de nausées, parfois de fièvre, survenant généralement dans les 8 à 16 heures après l'ingestion de l'aliment contaminé. D'autre part une maladie caractérisée par des symptômes émétiques, survenant généralement dans les 1 à 5 heures après l'ingestion de l'aliment contaminé, pouvant être suivis de diarrhées.

Les TIA diarrhéiques à *B. cereus* sont le plus souvent associées à une population égale ou supérieure à  $10^5$  UFC/g d'aliments consommés, bien que des épidémies associées à des aliments contenant  $10^3$  UFC/g aient été décrites (Efsa, 2005).

La dose de céréulide suffisante pour provoquer des symptômes émétiques serait de l'ordre de 5 à 10 µg par kg de masse corporelle. Une telle quantité de céréulide peut être retrouvée dans les aliments lorsque la souche atteint une concentration supérieure ou égale à  $10^6$  UFC/g (Efsa, 2005).

### 5.3.6.2. Aliments impliqués

Une large gamme d'aliments a été impliquée dans des TIA à *B. cereus* (Efsa, 2005). Il s'agit le plus souvent d'aliments ayant subi un traitement thermique et consommés après un délai ayant permis la multiplication de la bactérie, comme des plats cuisinés par exemple. Des cas liés à la consommation de jus d'orange, de graines germées et de préparations infantiles ont aussi été décrits (Nguyen-The, 2009).

De par son abondance dans le sol et la résistance de ses spores, *B. cereus* peut contaminer pratiquement toutes les catégories d'aliments. Les spores de *B. cereus* possèdent de fortes capacités d'adhésion aux surfaces en acier inoxydable et peuvent s'accumuler dans les équipements de transformation des aliments (Efsa, 2005).

Le céréulide étant très résistant à la chaleur, il ne sera pas détruit par une deuxième cuisson de l'aliment.

A l'exception des aliments ayant reçu un traitement thermique suffisant, et non recontaminés après traitement, la présence de spores est inévitable. Dans ce cas la première mesure de maîtrise est d'éviter que la bactérie ne se multiplie et n'atteigne une population pouvant provoquer des symptômes diarrhéiques, ou produire le céréulide.

### 5.3.7. *Campylobacter*

Bacilles Gram négatif, mobile, thermotolérant. Les oiseaux, sauvages et domestiques sont considérés comme les principaux réservoirs de *Campylobacter jejuni* et, dans une moindre mesure, de *C. coli*. Cependant d'autres réservoirs de *Campylobacter* ont été décrits : les bovins, les porcins et les petits ruminants, mais aussi les animaux de compagnie (Colin, 2006).

### 5.3.7.1. Maladie humaine (*Campylobactériose*)

La maladie la plus fréquemment observée est une entérite aigüe, causée par une infection intestinale, pouvant se compliquer par une bactériémie, des localisations secondaires et un syndrome post-infectieux. La durée d'incubation est comprise entre 1 et 10 jours. L'affection entérite se manifeste particulièrement par des diarrhées, des douleurs abdominales, des selles sanguinolentes, de la fièvre et parfois des nausées et des vomissements. *C. jejuni* est particulièrement associé à ce type d'infection entérique (Colin, 2006).

### 5.3.7.2. Aliments impliqués

Du fait de l'existence de réservoirs animaux « naturels », les *Campylobacter* peuvent être à l'origine de la contamination de nombreuses catégories de denrées alimentaires (viandes, lait). Pour les cas sporadiques, de nombreuses études cas/témoins identifient les produits à base de viandes de volailles comme le principal facteur de risques.

Au cours de la transformation, du transport et de la distribution des aliments, le nombre de *Campylobacter* thermotolérants viables a tendance à diminuer. D'une manière générale, la congélation arrête la croissance de ces bactéries et détruit vraisemblablement une faible partie de la population bactérienne. Par contre, ces bactéries survivent aux températures de réfrigération, mais sont très sensibles à la chaleur ; on peut considérer que les traitements thermiques supérieurs à 60°C permettent leur destruction.

Du fait des origines et des disponibilités de dissémination tout au long de la chaîne alimentaire, les mesures de maîtrise s'articulent essentiellement autour de la mise en place de bonnes pratiques d'hygiène tant au niveau des élevages que des abattoirs et ateliers de transformation des denrées d'origine animale (Jund, 2010).

#### 5.4. Evolution de TIAC en Algérie

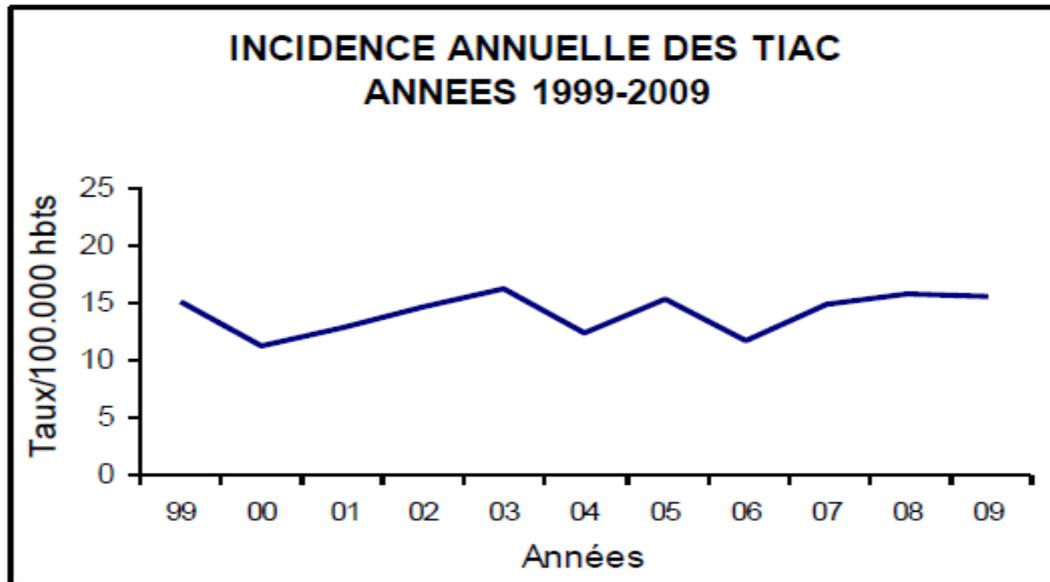


Figure 06: Incidence Mensuelle des TIAC Année 1999-2009 En Algérie (INSP, 2009).

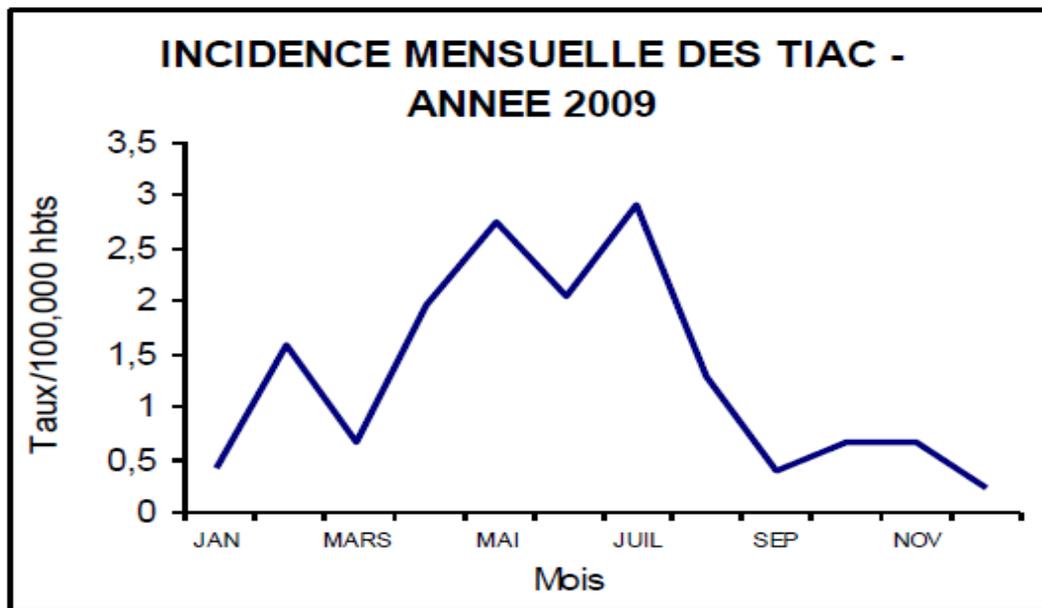


Figure 07: Incidence Mensuelle des TIAC Année 2009 En Algérie (INSP, 2009).

Le taux d'incidence des intoxications alimentaires collectives est stable avec 15,43 cas pour 100.000 habitants, en 2008 il était de 15,75. Les incidences mensuelles enregistrées durant l'année ont varié entre 0,21 et 2,90 cas pour 100.000 habitants, et les incidences les plus importantes ont été observées entre avril et juillet 2009, avec un pic de 2,90 en juillet 2009.

En nombre absolu, on retrouve plus du cinquième des cas enregistrés par la wilaya de Constantine (1169 cas). Cette wilaya a enregistré une nette augmentation de son incidence qui est passée de 41,27 à 119,89 cas pour 100.000 habitants. Les pics d'incidence ont été déclarés en février (44,24), en mai (54,81) et en juillet (9,65). La wilaya d'Illizi a enregistré l'incidence régionale la plus élevée avec 127,79 cas pour 100.000 habitants. Le pic épidémique a été notifié en juin avec 74,12 cas pour 100.000 habitants. La wilaya d'El Bayadh enregistre une nette augmentation de son incidence qui passe de 3,59 à 63,84 cas pour 100.000 habitants (**INSP, 2009**).

Les autres wilayas les plus touchées sont Tissemsilt (42,72), Ouargla (42,40), El Oued (37,21) et Bouira (36,43). Ce sont les 10-29 ans qui enregistrent les incidences selon l'âge les plus élevées :

- 17,10 cas pour 100.000 habitants pour les 10-19 ans ;
- 33,99 cas pour 100.000 habitants pour les 20-29 ans (**INSP, 2009**).

# Chapitre II

## Matériel et Méthodes



*Microscope milieu du 18ème siècle*

## MATERIELS ET METHODES

Afin d'évaluer l'état bactériologique des aliments en déterminant le taux de conformité nous avons procédé à l'analyse microbiologique des denrées alimentaires que nous avons prélevé aux niveaux de quatre sites de restaurants universitaires (Taleb Mourad Slim « IGMO », Es-Senia, cité universitaire de jeunes filles (30<sup>ème</sup> anniversaire de la révolution de libération) et Belgaid « I, II, III »). Pour garder l'anonymat, des lettres alphabétiques (A, B, C, D) ont été attribuées à chacun de ces blocs, les prélèvements ont été effectués selon un plan d'échantillonnage comportant cinq échantillons par prélèvement conformément aux dispositions de l'arrêté ministériel du 27 Mai 1998 (annexe 02).

### 1. Echantillonnage

Les échantillons sont obtenus par la méthode classique en respectant les textes officiels qui stipulent que les plats cuisinés devraient être prélevés à l'avance d'au moins un plat (unité individuelle) par semaine dans le cadre du contrôle systématique des établissements de préparation. L'importance est de veiller à la représentativité de l'échantillon, plus particulièrement lorsque le produit présente une grande hétérogénéité. Le produit doit être brassé avant le prélèvement et celui-ci doit porter sur les différents éléments (viandes, légumes, sauces) composant le plat.

### 2. Matériel de prélèvement

Pour assurer l'hygiène des prélèvements récoltés, nous utilisons différents matériels :

- Les flacons stériles d'une contenance de 500 g.
- Les écouvillons.
- Une glacière contenant des carboglaces (outres congelées) pour le transport des échantillons sous régime de froid.

### 3. Matériel de laboratoire

Ce sont les éléments utilisés dans tous les laboratoires d'analyse bactériologique de produits alimentaires.

- Bec bunsen
- Matériel de stérilisation et d'incubation.
- balance de précision pour la pesée (de marque KERN PLS 510-3, Max 510g d 0,001g)
- "Stomacher" pour le broyage et l'homogénéisation et le broyeur (Seward, Stomacher 400 Circulator).
- verrerie : Tubes à vis stériles, erlenmeyer, les lames, flacon de 500 ml, boîtes de pétri, béchers, pipettes, étaleurs.
- spatules métalliques stériles.
- portoirs.
- bain-marie pour la régénération des milieux.
- milieux de culture et les réactifs (annexe 1).

### 4. Les Analyses microbiologiques

Les aliments analysés proviennent des plats chauds et des plats froids (salades) lors de quatre étapes : dressage, transport, entreposage et distribution. A travers les analyses bactériologiques des différentes composantes de la cuisine centrale, on estime à évaluer la propreté des surfaces de travail et des locaux (paillasse, table de travail...), des ustensiles (plateaux, spatule, marmite...) et des mains du personnel entrant en contact avec les aliments.

#### 4.1. Nombre et nature des prélèvements des denrées alimentaires

A partir des quatre (4) sites A, B, C et D, nous avons prélevé quarante trois (43) échantillons de denrées alimentaires dans les conditions d'asepsie.

**Tableau 09:** Tableau récapitulatif des prélèvements des denrées alimentaires dans les 4 sites.

Restaurants		Repas	Date de prélèvement
Site A		Viande hachée	10/11/2011
		Viande cuite	12/10/2011
		Soupe à base de légume	13/10/2011
		Haricot blanc	14/11/2011
		Salade verte	14/11/2011
		Lentille	15/01/2012
		Salade verte	15/01/2012
		Spaghetti	27/02/2012
		Salade de riz	27/02/2012
		Poisson	04/03/2012
		Salade de riz	04/03/2012
		Haricot blanc	06/03/2012
		Salade de riz	06/03/2012
		Salade de carotte	17/01/2012
Site B		Pate en sauces	17/01/2012
		Lentilles	12/02/2012
		Salade verte	12/02/2012
		Lentille	20/02/2012
		Salade verte	20/02/2012
		Lentille	26/02/2012
		Salade verte	26/02/2012
		Haricot	23/02/2012
		Salade verte	23/02/2012
		L'haricot	22/01/2012
Site C		Salade verte	22/01/2012
		Salade de carotte	09/02/2012
		Spaghetti	09/02/2012
		Lentilles	14/02/2012
		Salade de riz	14/02/2012
		Haricot blanc	21/02/2012
		Salade de riz	21/02/2012
		Spaghetti	01/03/2012
		Salade de betterave	01/03/2012
	Site D	I	Poisson
Salade verte			25/01/2012
Riz			25/01/2012
II		Poisson	25/01/2012
		Riz	25/01/2012
		Salade verte	25/01/2012
III		Poisson	25/01/2012
		Salade de betterave	25/01/2012
		Spaghetti	25/01/2012

#### 4.2. Nombre et nature des prélèvements des surfaces et les mains

A partir des sites B et C, nous avons prélevé stérilement trente quatre (34) échantillons prélevés constituaient les surfaces et les mains.

**Tableau 10 :** Nombre et nature des prélèvements dans les sites B et C.

sites	Nombre et nature des prélèvements				
	Vestiaires des cuisiniers	surfaces	mains des manipulateurs	plats de consommation	équipements et chariots
site B	02	04	05	02	04
site C	02	04	05	02	04

#### 5. Prélèvements des échantillons

Le niveau de risque de contamination par les surfaces choisies, la représentativité des échantillons ainsi que le temps nécessaire pour les prélever, ont été les paramètres importants à considérer pour assurer un bon échantillonnage. Nous avons jugé obligatoirement important de prélever d'une manière aseptique dans le but d'avoir des analyses de haute qualité.

Ainsi l'expérimentateur doit veiller à respecter d'abord son hygiène corporelle (surtout les mains) et vestimentaire. Selon **Abouda (2011)**, il faudrait aussi éviter de faire des prélèvements dans des zones de courant d'air.



**Figure 08 :** Prélèvement sur surfaces, plats de consommation, équipements et chariots, vestimentaires et les mains des cuisiniers.

*a) Ustensiles utilisés comme assiette et méthode de séchage ; b) Surfaces (paillasse, sol) et chariots ; c) mains et vestiaire de cuisinier.*

### 5.1.Écouvillonnage

Pour assurer un bon prélèvement des surfaces comme mains des personnels, des équipements qui sont en contact avec la préparation des aliments et des surfaces des locaux, nous avons eu recours à la méthode d'écouvillonnage humide que nous avons trouvée plus efficace que l'écouvillonnage à sec (**Decade, 2005**). Cette analyse se fait par des écouvillons stériles en tube plastique.

### 5.2.Prélèvement des échantillons des denrées alimentaires

En utilisant des cuillères, les prélèvements des plats chauds et des plats froids sont mis dans des flacons stériles lors de dressage. Le transfert des échantillons est assuré à des températures voisines de +4°C puis acheminés dans une glacière contenant des boîtes eutectiques préalablement congelées.

## 6. Les germes recherchés pour les analyses des denrées alimentaires

Les germes recherchés sont différenciés dans chaque repas prélevé (JORA N°35 du 27 mai 1998 (annexe 02). Les principaux germes recherchés au niveau du Laboratoire régional d'Hygiène Alimentaire d'Oran : la flore aérobie mésophile qui reflète la qualité microbiologique générale d'un aliment (**Hygis, 1988**) ; les coliformes fécaux et les coliformes totaux, les germes anaérobies sulfitoréducteurs (*Clostridium*), les *Staphylocoques auréus* et les *salmonelles*.

## 7. Les germes recherchés pour les analyses des surfaces et les mains

Ce travail de recherche a été réalisé dans le Laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA) Département des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV) d'Oran. Nous avons recherché les principaux germes pathogènes (les coliformes fécaux, *Staphylococcus* et *Salmonella*). Ces micro-organismes peuvent se fixer sur un support dans certaines conditions et le coloniser (**Lebreton, 1998**).

## 8. Techniques d'analyses bactériologiques des denrées alimentaires

### 8.1. Préparation de l'échantillon pour l'analyse

A proximité du bec bunsen, la technique se déroule comme suit :

- a-vingt cinq grammes (25 g) de chaque échantillon sont pesés à l'aide de la balance de précision,
- ils sont transférés d'une manière aseptique dans un sac de stomacher stérile,
- ils subissent un broyage dans 225 ml d'eau peptonée tamponnée stérile, constituant ainsi la suspension mère (SM) (**Haeghebaert, 2002**),
- la SM est laissé au repos pendant 15 à 30 mn pour la revivification. La densité de cette solution est voisine de 1 (ce qui correspond à 1 g d'aliment dans 1 ml de solution).
- des dilutions décimales allant de  $10^{-2}$  à  $10^{-4}$  dans l'eau distillée stérile sont préparées à partir de l'échantillon broyé (SM). Le facteur de dilution varie d'un échantillon à un autre.

On obtient ainsi deux suspension mères ( $10^{-1}$ ) :

- La première servira l'analyse bactériologique courante.
- La deuxième (sera incubé pendant 24h à 37°C) servira à la recherche de *salmonelle*.

Lors de la réalisation des dilutions décimales, entre chaque dilution, il est impératif de changer la pipette. Par contre, lors de l'ensemencement, il est recommandé de commencer par la plus haute dilution pour ne pas changer de pipettes (recommandations **Institut Pasteur, 1999**).

### 8.2. Recherche des flores mésophiles aérobies totaux à 30°C (FMAT)

Le protocole expérimental de recherche des flores mésophiles aérobies totaux à 30°C (FMAT) se fait à partir des tubes de dilution  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ .

- un millilitre (1 ml) de suspension est prélevé puis transféré dans des boîtes de pétri stériles contenant (25 ml) de gélose standard pour dénombrement ou plate Couot Agar (PCA).
- la gélose est fondue puis refroidie à 40-50°C environ.

- elle est ajoutée dans chaque boîte puis homogénéisé avec le prélèvement par des mouvements circulaire de va-et-vient en forme de 8.
- Après refroidissement et solidification, la boîte est incubée à l'étuve à 30°C en position retournée.

Toutes ces opérations se déroulent dans le cône de stérilité engendrée par 1 bec bunsen allumé. La lecture est faite après 48 à 72 heures d'incubation par dénombrement des colonies blanchâtres poussées en profondeur. Le résultat est exprimé en nombre de germes/g d'aliment.

#### Expression des résultats :

Pour déterminer le nombre estimé de la flore aérobie mésophile totale dans un gramme d'aliment il faut donc retenir les dénombrements de boîtes contenant entre 30 et 300 colonies, obtenues (**Guiraud, 2003**). Pour chaque micro-organisme caractéristique, le nombre de micro-organismes par gramme d'échantillon est exprimé selon la relation (**Joffin et leyrat, 2006**).

$$N = \frac{\Sigma C}{(n_1 + 0,1 n_2) d_1}$$

**N**: Nombre d'UFC par g ou par ml de produit initial;

**Σ C**: Sommes des colonies des boites interprétables;

**V** : Volume de solution déposée (ml);

**n<sub>1</sub>** : Nombre de boites considérées à la première dilution retenue;

**n<sub>2</sub>** : Nombre de boites considérées à la deuxième dilution retenue;

**d<sub>1</sub>** : Facteur de la première dilution retenue.

### **8.3. Recherche des coliformes totaux à 37°C (teste de présomption)**

La technique utilisée est celle de Mac Grady (NPP : nombre le plus probable), méthode de dénombrement des coliformes en milieu liquide (**Institut pasteur, 1999**).

- Une série de tubes munis d'une cloche de durham contenant 10ml de VBL est préparée (milieu sélectif liquide) à raison de deux tubes par dilution.

- A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-3}$  à  $10^{-1}$  est transféré à l'aide d'une pipette graduée 1 ml dans chacun des deux tubes correspondant à une dilution donnée.
- Le gaz présent dans les cloches est chassé.
- Le milieu et l'inoculum est bien mélangé.

#### 8.4. Recherche des coliformes thermotolérants à 44°C (test de confirmation)

En se référant à la technique de Mac Kenzie, méthode de dénombrement des coliformes thermotolérants à partir des réactions positives du test de présomption :

- on procède au repiquage des tubes de VBL trouvés positifs lors de dénombrement des coliformes totaux,
- à partir de ces tubes, on transfère aseptiquement au moyen d'une pipette pasteur, quelques gouttes à la fois dans :
  - Un tube contenant 10 ml de VBL muni d'une cloche de Durham et
  - Un tube contenant 5 ml d'EPEI.
- on chasse le gaz présent dans les cloches, et on mélange bien le milieu et l'inoculum.
- après l'incubation, on ajoutera à chaque tube d'EPEI 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs (**Institut Pasteur, 1999**).

#### 8.5. Recherche des *Staphylococcus aureus*

Pour la recherche des *Staphylococcus aureus*, on a suivi la méthode d'enrichissement sélectif sur milieu Gioliti Cantoni (Bouillon d'enrichissement sélectif) mélangé aseptiquement et soigneusement avec son additif tellurite de potassium (ampoule).

##### 8.5.1. Enrichissement à 37°C

On prélève aseptiquement 1 ml de chacun des dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$  qu'on transfère par la suite au moyen des pipettes graduées dans des tubes contenant 25 ml de bouillon Gioliti Cantoni.

### 8.5.2. L'isolement à 37°C

A partir des tubes ayant viré au noir (afin de s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *staphylococcus* pathogène), on ensemence aseptiquement en strie la surface du milieu Chapman. Ce dernier est un milieu sélectif permettant l'isolement et l'enrichissement des *staphylococcus* pathogène. Il est préalablement coulé en boîtes pétri et solidifié.

### 8.5.3. Identification des résultats

En cas de présence de colonies typiques ou caractéristiques (colonie avec un halo jaunes lumineux, mannitol positif) sur le milieu Chapman (Afnor, 2004), on peut procéder à des tests confirmatifs pour s'assurer qu'il s'agit bien de *staphylococcus aureus*.

#### 8.5.3.1. Prés-identification des *Staphylococcus*

Les souches pures de cocci Gram+ doivent tout d'abord être soumises à une prés-identification en procédant aux tests de catalase, Staphylocoagulase et DNase Test Agar.

##### Catalase

Elle a pour but de classifier des bactéries aérobies et plus spécialement de différencier. Il s'agit d'une enzyme qui a la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène.

A l'aide d'un anse, on prélève aseptiquement une colonie typique suspectée d'être celle de *staphylococcus aureus* et on la mélange avec quelques gouttes d'une solution fraîche de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> placée sur lame, un dégagement gazeux abondant sous forme de bulle traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase (Guiraud, 2000)

### Staphylocoagulase

Elle pour but de déterminer la pathogénicité d'une *staphylococcus* qui secrète une enzyme la staphylocoagulase qui a la propriété de coaguler le plasma.

- A partir d'un Chapman déjà ensemencé, on prend aseptiquement une colonie ayant fermenté le mannitol.
- on la met dans un tube contenant le bouillon cœur-cerveille.
- on va placer à l'étuve de température 37°C pendant 18 à 24 heures.
- Dans des conditions d'asepsie, 0,5ml de culture (colonie + BHIB) mis au contact avec 0,5ml de plasma du lapin (remplacer par plasma d'humain) dilué au 1/5 dans un tube à hémolyse.
- L'ensemble est incubé à 37°C et examiné toutes les ½ heures pendant une demi-journée.

La coagulation se traduit par la prise en masse du contenu du tube qui peut être retourné (**Guiraud, 2000**).

### Test de DNase

On ensemence le milieu de DNase à partir d'une culture pure (de 18 à 24 heures) de staphylocoque sur milieu BN dans une bande, ou déposer la croissance en un point, à l'aide d'un ensemenceur à anse. Il est possible d'ensemencer jusqu'à quatre souches de Staphylocoques sur une même boîte de Pétri. Il est recommandé d'inclure un témoin positif, par exemple : *S. aureus*. Incuber les boîtes de Pétri en conditions aérobies pendant 18 à 24 h entre 35 et 37 °C. Si des souches d'autres espèces de bactéries ou de champignons sont testées, ensemencer conformément aux conditions requises.

Après incubation, recouvrir les boîtes de Pétri avec une quantité suffisante de solution d'acide chlorhydrique (HCl) 1 N. Attendre 2 min afin de permettre à l'acide de pénétrer toute la surface du milieu (**Kateete et al, 2010**).

Une fois que l'acide a été appliqué et laissé pénétrer dans le milieu, les microorganismes positifs à la DNase, comme *Staphylococcus aureus* ou *Serratia marcescens*, sont entourés de zones claires d'ADN dépolymérisé, tandis que les parties du milieu plus éloignées de la bande d'ensemencement sont opaques et blanchâtres, sous l'effet de l'ADN polymérisé. Les colonies de microorganismes négatifs à la DNase ne présentent pas de zones plus claires en périphérie des colonies.

### 8.5.3.2. Identification biochimique

Elle est proposée par microméthode sur la galerie API spécifiques de ces germes. A partir d'une culture pure (de 18 à 24 heures) de staphylocoque sur gélose de Chapman, on doit préparer une suspension bactérienne homogène. Son opacité doit être égale à 0,5 de Mac Farland dans une ampoule de milieu API Staph Medium, par comparaison à un témoin d'opacité du Mac Farland Standard.

On ensemence la galerie en respectant le mode opératoire du fabricant. Incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures (Delarras, 2007).

#### Test d'antibiogramme à 37°C

Il a pour but de déterminer la sensibilité de souches pures de staphylocoques isolé à partir les denrées alimentaires, les mains et les différentes surfaces des restaurants universitaires.

L'antibiogramme est la méthode analytique qui permet de définir in vitro la concentration minimale inhibitrice CMI d'une souche bactérienne vis-à-vis des divers antibiotiques.

En ce référant à la technique de diffusion en gélose ; méthode des disques, des boites de pétri contenant 25 ml de gélose Mueller Hinton (milieu non sélectif) déjà solidifiée sont Ensemencements par méthode écouvillonnage aseptiquement a partir d'une suspension bactérienne (utilisée pour la recherche des *Staphylococcus aureus* et *Salmonelle*). Pour assurer le contact avec le milieu, on applique légèrement les disques d'antibiotique et on laisse les boites 20mn à la température ambiante pour permettre une pré-diffusion de l'antibiotique (Tebible, 2008).

L'antibiogramme a été effectué sur 33 souches des *Staphylococcus aureus*, en utilisant quinze antibiotiques avec des doses différents sur milieu MH.

**Tableau 11** : liste des antibiotiques utilisé dans le test d'antibiogramme des souches de staphylocoques isolé à partir des denrées alimentaires, les mains, les surfaces et les équipements.

Antibiotiques	Charge du disque	symbole
acide Nalidixie	30 µg	NA
Spiramycine	100 µg	SP
Lincomycine	15 µg	L
Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	SXT
Colistine	50 µg	CS
Gentamicine	10 µl	GM
Erythromycine	15 µg	E
Sulphonamides	200 µg	SSS
Amoxicilin + clavulanic acid	20/10 µg	AMC
Nitroxoline	20 µg	NI
Pristinamycine	15 µg	PT
Oxacilline	1 µg	OX1
Chloramphenicol	30 µg	C
Amoxicilline	25 µg	AMX
acide Pipemidic	20 µg	PI

## 9. Recherche des spores de *Clostridium* sulfito-réducteur à 46°C

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

### Activation des spores

On chauffe au bain marie à 80°C pendant 10mn, quatre tubes contenant chacun 1ml des dilutions  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$  à raison de deux tubes par dilution puis on les refroidit rapidement sous une eau courante et froide (choc thermique).

### Ensemencement

- Après refroidissement, chaque tube reçoit aseptiquement 15ml de gélose VF liquéfié au bain marie.
- additionné après refroidissement d'Alum de Fer et Sulfite de sodium (ampoules d'additifs) et bien agité.
- une fois le milieu a été solidifié, quelques gouttes de vaseline stérile ont été ajoutées à la surface puis on les incube à 46°C pendant 16, 24, 48 heures.
- Les colonies sont noires volumineuses et la coloration ne diffuse pas dans la gélose (Seydi *et al.*, 2004).

## 10. Recherche des salmonelles

La recherche des *Salmonelles* s'effectue plusieurs étapes :

### 10.1. Pré enrichissement non sélectif

L'un de deux flacons de la solution mère (25g de viande préalablement broyée +flacon de TSE de 250ml est incubé pendant 24h à 37°C et va être utilisé pour la Recherche des salmonelles (Dennaï *et al.*, 2001).

### 10.2. Enrichissement à 37°C

Le lendemain, dans des conditions d'asepsie un enrichissement est effectué sur le bouillon SFB (bouillon d'enrichissement sélectif), en simple et en double concentration additionné d'acide de sodium (pour SFB S/C et SFB D/C), et repartie à raison de 100ml par flacon, soit :

- 100ml (du milieu incubé au 1<sup>er</sup> jour) pour le SFB D/C.
- 100ml (du milieu incubé au 1<sup>er</sup> jour) pour SFB S/C.

### 10.3. Isolement à 37°C

Sur le milieu sélectif *salmonella-shigella* (permettant l'isolement et la différenciation des entérobactérie pathogènes), à partir de chacun des milieux d'enrichissements (S/C et D/C) précédents, on effectue aseptiquement des isolements par des ensemencements en stries au moyen d'une anse de surface du milieu *salmonella-shigella* avec leur additif préalablement coulé en boîtes pétri et solidifié (Dennaï *et al.*, 2001).

#### 10.4. Lecture des boîtes et caractérisation des suspects

A partir des boîtes de *salmonella-shigella* incubées précédemment, on prépare aseptiquement une suspension bactérienne en mettant cinq colonies considérées comme typique (blanc châtre avec ou sans centre noir) dans 5ml d'eau physiologique stérile qu'on incube quelque heures à 37°C. Cette suspension servira à la réalisation des tests confirmatifs et biochimiques qui se déroule comme suit :

##### 10.4.1. Test d'urée-indole

Nous avons introduit environ 1 ml de ce milieu dans un tube à vis stérile. Par la suite nous l'avonsensemencé avec une souche pure, prélevée sur gélose *salmonella-shigella*. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, une lecture est faite.

La couleur du milieu reste inchangé pour les souches suspectes, et sont dites uréase négative (non productrices d'uréase). Dans le cas contraire, il vire au rose.

Pour la mise en évidence de la production d'indole, nous avons ajouté quelque goutte du réactif de Kovacs dans les tubes du milieu urée-indole. La dégradation du tryptophane est marquée par l'apparition d'un anneau jaune, pour les *salmonelles* qui sont dites indole négatif. Dans le cas contraire, nous avons un anneau rouge (Indole positif) (**Farmer et al., 1980**).

##### 10.4.2. Test de TSI à 37°C

Il a pour but l'identification rapide des entérobactéries, la gélose TSI permet de mettre en évidence la fermentation du lactose ou de glucose (avec ou sans dégagement gazeux), du saccharose et la production d'hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S), a l'aide d'un fil de platine, on ensemence aseptiquement la suspension bactérienne par piqure au fil droit et en stries sur la tranche de la gélose TSI inclinée en tube à essai (**Yazgi, 2002**).

##### 10.4.3. Test de mannitol-mobilité à 37°C

Il a pour but de différencier rapidement les entérobactéries, l'agar Mannitol-Mobilité permet de chercher simultanément la mobilité l'utilisation de mannitol et la réduction des nitrates.

On ensemence aseptiquement la suspension bactérienne par piqure centrale et profonde au moyen d'un fil de platine sur l'agar Mannitol-Mobilité en tube à essai.

#### 10.4.4. Test du citrate perméase à 37°C

Il a pour but de mettre en évidence le citrate perméase chez la bactérie suspecte.

Il s'agit de déterminer si un micro-organisme est capable ou non de dégrader la citrate qui est le premier composant intervenant dans le cycle de Krebs (métabolisme de glucide) et son utilisation indique le fonctionnement probable de ce cycle dans le germe étudié.

On réalise aseptiquement à l'aide d'une anse un ensemencement en stries de suspension bactérienne sur la tranche du milieu Citrate de Simmons en tube à essai.

#### 10.4.5. Test à l'oxydase

Sous l'action d'une cytochrome-oxydase, le di-méthyl-para-phénylène diamine, incolore, est transformé en une semi-quinone violacée qui s'oxyde rapidement pour donner un composé noirâtre.

- Réactif (à conserver à + 4°C et à l'obscurité)

Solution aqueuse à 1% de chlorhydrate ou d'oxalate de di-méthylpara- phénylène diamine dont on imbibera un papier buvard blanc. Ou disques de papier buvard imprégnés de cette substance dans le commerce.

- Placer le disque Ox sur une lame porte-objet et l'imbiber avec une goutte d'eau. Prélever à la pipette boutonnée une parcelle de culture et la poser sur le disque. La présence d'oxydase entraînera une coloration violette.

#### 10.4.6. Test à l'ONPG (Orthonitrophényl $\beta$ -D-Galactopyranoside)

Le test à l'ONPG est une technique basée sur l'action directe de l'enzyme sur une molécule chromogène pouvant être l'ortho-nitrophényl- $\beta$ -D-galactopyranoside ou le 2-naphtol- $\beta$ -D-galactopyranoside (Carbannelle *et al.*, 1987).

préparer une suspension épaisse de bactéries prélevées obligatoirement sur milieu lactosé dans 0,25 ml d'eau distillée en tube à hémolyse. Ajouter 0,25 ml de solution d'ONPG ou un disque imprégné d'ONPG prêt à l'emploi (ou encore un demi-disque) (**Farmer et al., 1980**). Le test de l'ONPG (analogue de lactose) a pour but de faire éclater les bactéries par choc osmotique dans de l'eau distillée stérile. Dans ces conditions l'enzyme, si elle existait dans la bactérie est libérée dans le milieu et réagit avec l'ONPG entraînant un changement de couleur. Dans le cas contraire un test négatif confirme que la souche était effectivement dépourvue de bêta-galactosidase.

#### 10.4.7. Coloration de Gram

Elle pour but la taxonomie ou la classification bactérienne. Cette technique reposant sur les caractéristiques membranaires et de parois des bactéries (**Guezlane, 2008**). Cette coloration se traduit par les étapes suivantes :

- Réaliser un frottis bactérien: sur une lame propre on dépose une goutte d'eau distillée, puis à l'aide de l'anse àensemencement on prélève un peu de la crème bactérienne (culture jeune), on sèche la lame avec la flamme bleue du bec bunsen et on la fait passer deux à trois fois au sein de la flamme.
- Colorer au violet de gentiane (1 minute): est un colorant basique qui se fixe sur les composants du cytoplasme bactérien, à ce moment toutes les bactéries sont de couleur violette. Laver à l'eau distillée.
- Mordantage au lugol (30 secondes): est un mordant qui renforce l'adhésion du violet de gentiane au niveau du cytoplasme bactérien. Laver à l'eau distillée.
- Décoloration rapide avec de l'éthanol à 95° (10 secondes): les bactéries Gram ont une paroi mince et riche en lipide, ce qui permet le passage de l'alcool qui va entraîner avec lui le violet de gentiane et les cellules vont devenir transparentes. Laver rapidement avec de l'eau distillée.
- Colorer avec la fuchsine (1 minute): cette étape sert à colorer les bactéries (Gram-) qui se sont décolorées lors du traitement précédent, de ce fait les bactéries Gram- seront colorées en rose et les Gram+ en violet. Laver à l'eau distillée.

Après séchage de la lame observer avec l'ajout d'huile à immersion (objectif x100).

### 11. Techniques d'analyses pour le contrôle bactériologique des écouvillons (surface et mains)

Il s'agit d'obtenir une suspension homogène dense dans un tube à hémolyse contenant 1 ml d'eau physiologique stérile et ceci à partir de l'écouvillon échantillonné.

- en premier lieu déposer deux gouttes sur milieu Chapman (premier cadran), étaler sur ce cadran, faire un isolement à l'anse à partir de ce cadran et incuber 24h à 37°C.
- En second lieu : Déposer deux gouttes sur milieu VRBL (vert brillon de bromocrisole), étaler sur ce cadran, faire un isolement à l'anse à partir de ce cadran et incuber 24h à 44°C.
- En troisième lieu, mettre le reste de la suspension dans un bouillon Sélénite simple concentration (tube) et incuber 24h à 37°C (**Abouda, 2011**). on effectue aseptiquement des isolements par des ensemencements en stries au moyen d'une anse de surface du milieu *salmonella-shigella* avec leur additif préalablement coulé en boîtes pétri et solidifié (**Dennaï et al., 2001**).

La lecture et l'identification des différents germes recherchés varient avec les différents milieux de culture et des techniques utilisées.

# *Chapitre* III

*Résultats*

*et*

*Discussion*

**Résultats**

**1.1.Critères microbiologique**

Les critères microbiologiques applicables aux différents repas analysé (chauds et froids) selon le journal Officiel de la république Algérienne n°35 sont mentionnés dans l’annexe 02

Tenant compte des germes recherchés et comme il s’agit de matériel de surface, ou des mains qui peuvent être en contact direct avec l’aliment, les critères microbiologiques seront : la présence ou l’absence des germes.

**Tableau12: critères bactériologiques, surfaces et mains (JORF, 1979 ; Innorpi, 1988 ; Abouda, 2011)**

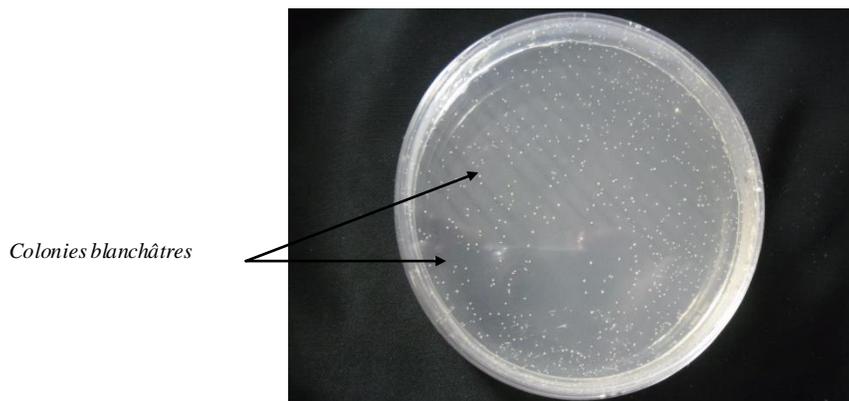
<i>Germes</i>  <i>Appréciation</i>	<i>Propre</i>		<i>Non propre</i>	
	<i>Mains</i>	<i>Locaux et équipements</i>	<i>Mains</i>	<i>Locaux et équipements</i>
<i>CF.thermotolirentes</i>	NR	Absence	NR	Présence
<i>S.Aureus</i>	Absence	Absence	Présence	Présence
<i>Salmonella</i>	Absence	Absence	Présence	Présence

NR : Non Réalisable

**1.2.Résultats Obtenus**

**1.2.1. La flore aérobie mésophile totale**

Le nombre de germes totaux donne une indication sur l’état sanitaire et hygiénique des repas servir aux restaurants universitaires. Les résultats obtenus dans les quatre restaurants universitaires dans la Wilaya d’Oran noter dans les tableaux (16,17, 18 et 19)



**Figure 09 : L’aspect de la flore aérobie mésophile totale sur gélose plate Couot Agar (PCA) après incubation pendant 72 h à 30° C.**

La photo au dessus montre les colonies FMAT qui sont apparaitre blanchatres lenticulaire poussent dans le milieu CPA.

### 1.2.2. les coliformes

Vivant normalement dans l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud, ces marqueurs peuvent être un indice de la présence des germes pathogènes.

#### 1.2.2.1. Les denrées alimentaires

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux supérieur à 1/10 de la hauteur de la cloche.
- Un trouble microbien accompagné d'un virage de l'indicateur de pH, ce qui témoigne de la fermentation du lactose présent dans le milieu.

#### A. Test de présomption

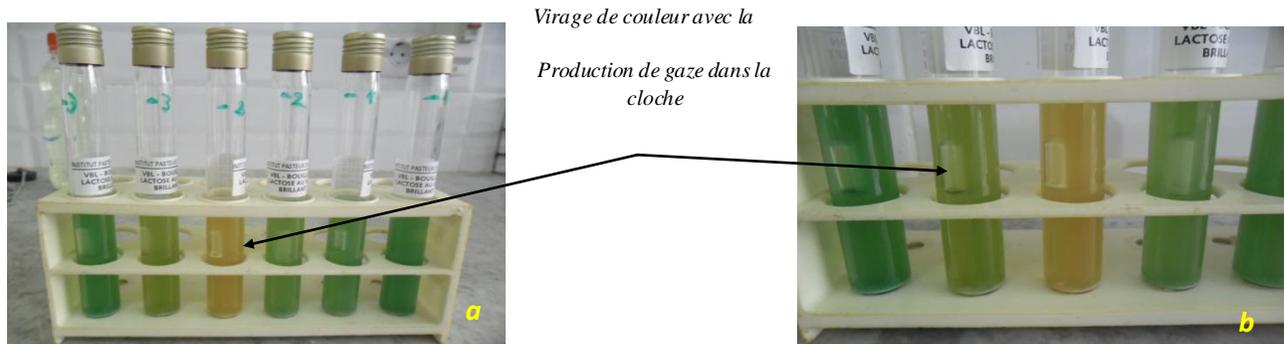


Figure 10 : Les tubes de VBL après 24 heures (test de présomption).

Photo (a) montre le virage de couleur des quelques tubes contenant milieu VBL (résultat positif) ; Photo (b) montre la production des gazes dans les cloches de durham ou le résultat positif.

#### B. Test de confirmation

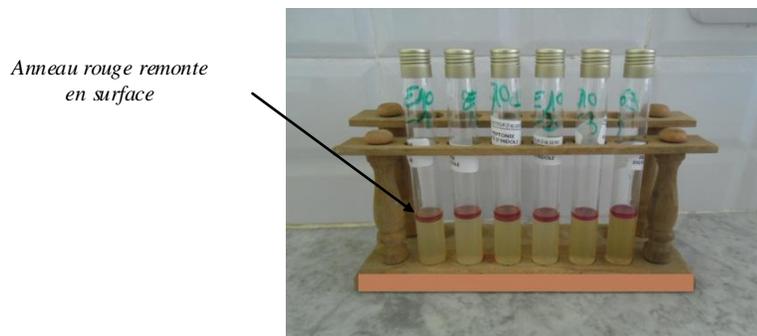
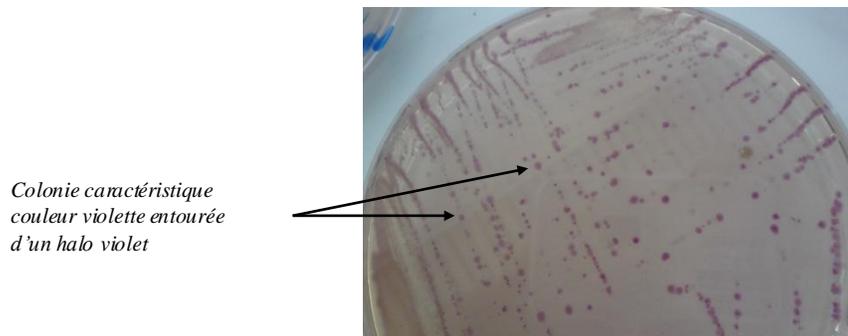


Figure 11 : les tubes d'EPEI après l'addition de kovacs (test de confirmation).

*Les tubes sur le portoir au dessus montre la formation d'un anneau rouge qui remonte en surface de milieu EPEI dans chaque tube après l'addition du réactif de kovacs( résultat positif).*

quant aux resultats de recherche des coliformes (totaux, thermotolérants), il sont mentionnés dans les tableaux (16,17, 18 et 19).

### 1.2.2.2. Les surfaces et les mains



**Figure 12 :** *L'aspect des colonies des coliformes thermotolérants sur milieu VRBL après l'incubation pendant 24 heure à 45°C.*

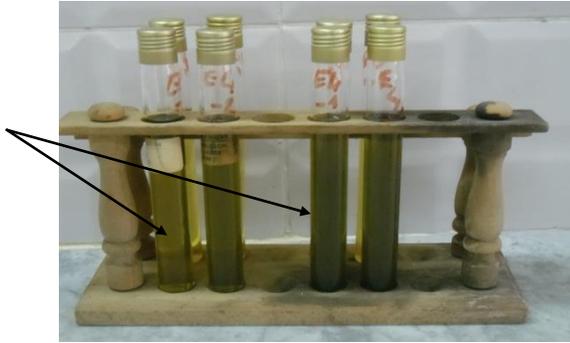
*La figure 12 montre les colonies des coliformes thermotolérants qui sont de couleur violette entourée d'un halo violet dans le milieu VRBL.*

### 1.2.3. les *Staphylococcus aureus*

La présence de ces Cocci Gram+, au sein des repas (chauds ou froids) au niveau des surfaces et les mains des manipulateurs dans les restaurants universitaires constitue un risque pour la santé des étudiants.

Les boites présentant des colonies de taille moyenne, lisses, brillantes et pigmentées en jaunes seront considérées comme positives. A partir des colonies jaunes, nous avons procédé aux tests biochimiques la catalase et coagulase et l'antibiogramme.

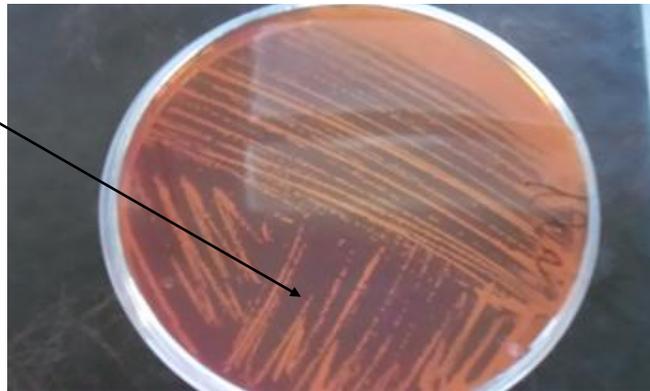
Noircissement des tubes



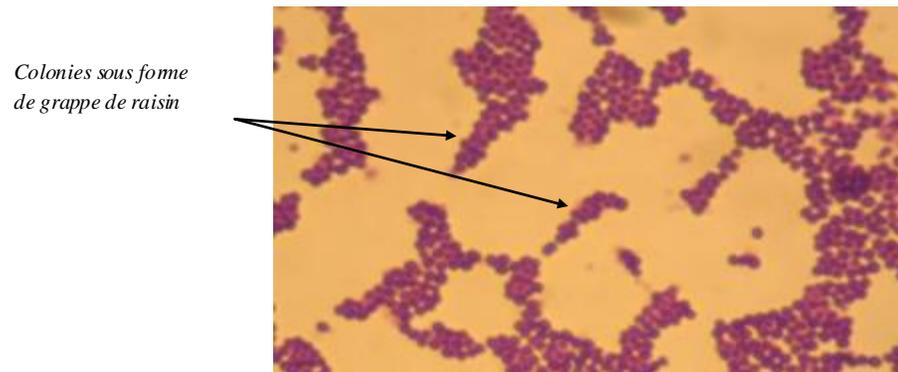
*Figure 13 : le milieu d'enrichissement Giolitti de Cantoni après 24 heures (staphylocoques).*

*Figure 13* montre le résultat positif de la présence des staphylococcus traduit par le noircissement des tubes de milieu Giolitti Cantoni.

Colonies jaunes



*Figure 14: Les colonies suspectes de staphylocoques après l'isolements et purification sur milieu chapman. Figure 14 présente les colonies de staphylococcus pures de couleur jaune dans le milieu sélectif chapman.*



*Figure 15 : Aspect Microscopique de Staphylococcus aureus (Coloration de Gram G X100).*

*Figure 15 montre S. aureus se présentent comme une coque en amas (grappes de raisin), Gramme Positif.*

**Tableau 13:** Resultat des tests catalase, DNase et coagulase des souches staphylocoques purifié apartir des denrée alimentaire, les surfaces et les mains.

Les souches	Catalase	DNase	Coagulase	
			Après 3Heures	Après 24Heures
St <sub>1</sub>	+	+	+/-	+
St <sub>2</sub>	+	+	+	+
St <sub>3</sub>	+	+	+	+
St <sub>4</sub>	+	+	+	+
St <sub>5</sub>	+	+	+	+
St <sub>6</sub>	+	+	+	+
St <sub>7</sub>	+	+	-	-
St <sub>8</sub>	+	+	+/-	+
St <sub>9</sub>	+	+	+	+
St <sub>10</sub>	+	+	+	++
St <sub>11</sub>	+	+	+/-	+
St <sub>12</sub>	+	+	+	+
St <sub>13</sub>	+	+	+	++
St <sub>14</sub>	+	+	+	+
St <sub>15</sub>	+	+	+	+
St <sub>16</sub>	+	+	+/-	+
St <sub>17</sub>	+	+	+	+
St <sub>18</sub>	+	+	+/-	+
St <sub>19</sub>	+	+	++	++
St <sub>20</sub>	+	+	++	++
St <sub>21</sub>	+	+	++	++
St <sub>22</sub>	+	+	+/-	+
St <sub>23</sub>	+	+	++	++
St <sub>24</sub>	+	+	+	+
St <sub>25</sub>	+	+	+	+
St <sub>26</sub>	+	+	+	+
St <sub>27</sub>	+	+	++	++
St <sub>28</sub>	+	+	+	+
St <sub>29</sub>	+	+	+	+
St <sub>30</sub>	+	+	+	+
St <sub>31</sub>	+	+	+	++
St <sub>32</sub>	+	+	+/-	+
St <sub>33</sub>	+	+	++	++
St <sub>34</sub>	+	+	-	-

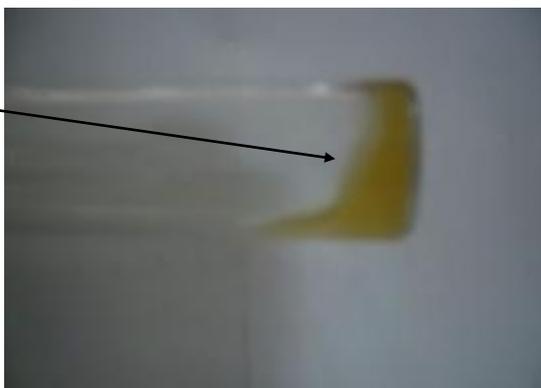
*Formation des bulles*



**Figure 16 : Test de catalase pour des souches de *Staphylococcus* (*St*<sub>3</sub>).**

*Cette photo(16) illustre le résultat positif de test de catalase qui montre la présence de staphylococcus par la dégradation H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> traduit par la formation des bulles.*

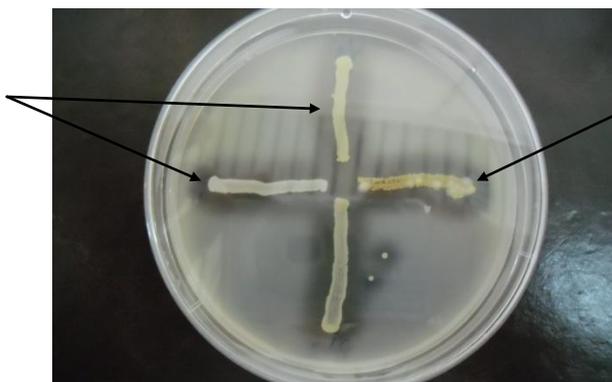
*Plasma est coagulé*



**Figure 17: Teste de la coagulase pour les souches de *Staphylococcus* (*St*<sub>3</sub>) réaliser sur plasma de l'humain.**

*Ici le résultat est positif de test de coagulase, après l'addition la souche de *Staphylococcus* après 2h en observe la formation un amas de plasma.*

*Zones claires*



*Souche référence*

**Figure 18 : resultat du test de la DNase des trois souches de staphylocoques (*St*<sub>3</sub>, *St*<sub>9</sub> et *St*<sub>28</sub>) avec la souche référence ( ATCC 6538).**

**Tableau 14 :** Résultats d’antibiogramme des souches de staphylocoques isolé à partir des denrées alimentaire, les maïs et les surfaces.

	NA		L		GM		SXT		NI		SP		E		CS		C		PT		AMC		AMX		PI		OX		SSS	
St <sub>1</sub>	0	R	19	I	20	I	0	R	21	S	20	I	20	I	0	R	24	S	25	S	15	I	17	I	15	I	0	R	0	R
St <sub>2</sub>	0	R	0	R	26	S	25	S	21	S	11	R	10	R	20	I	35	S	13	R	0	R	0	R	19	I	0	R	30	S
St <sub>3</sub>	0	R	38	S	34	S	29	S	26	S	31	S	34	S	20	I	34	S	34	S	35	S	32	S	0	R	25	S	25	S
St <sub>4</sub>	0	R	0	R	20	I	23	S	21	S	26	S	0	R	11	R	23	S	0	R	0	R	0	R	10	R	0	R	0	R
St <sub>5</sub>	0	R	25	S	30	S	0	R	21	S	25	S	23	S	10	R	24	S	26	S	17	I	16	I	15	I	0	R	0	R
St <sub>6</sub>	0	R	0	R	26	S	0	R	24	S	12	R	23	S	10	R	25	S	0	R	15	I	10	R	20	I	0	R	20	S
St <sub>7</sub>	0	R	20	I	23	S	11	R	16	I	10	R	17	I	0	R	27	S	25	S	30	S	12	R	17	I	0	R	0	R
St <sub>8</sub>	0	R	20	I	23	S	20	I	19	I	19	I	21	S	10	R	19	I	25	S	16	I	15	I	0	R	15	I	0	R
St <sub>9</sub>	0	R	25	S	20	I	23	S	21	S	22	S	20	I	0	R	22	S	25	S	23	S	20	I	0	R	16	I	0	R
St <sub>10</sub>	0	R	20	I	24	S	25	S	20	I	25	S	12	R	22	S	26	S	26	S	32	S	30	S	15	I	15	I	0	R
St <sub>11</sub>	10	R	21	S	28	S	0	R	19	I	25	S	20	I	0	R	21	S	24	S	15	R	16	I	13	R	0	R	0	R
St <sub>12</sub>	0	R	25	S	26	S	0	R	20	I	20	I	20	I	14	R	25	I	30	S	32	S	35	S	20	I	25	S	22	S
St <sub>13</sub>	0	R	25	S	22	S	25	S	22	S	30	S	20	I	10	R	24	S	30	S	29	S	35	S	16	I	29	S	0	R
St <sub>14</sub>	0	R	30	S	20	I	24	S	22	S	30	S	25	S	0	R	25	S	30	S	23	S	17	I	0	R	18	I	0	R
St <sub>15</sub>	24	S	25	S	27	S	0	R	22	S	25	S	20	I	10	R	23	S	25	S	13	R	13	R	19	I	0	R	15	I
St <sub>16</sub>	0	R	26	S	30	S	0	R	21	S	23	S	22	S	0	R	24	S	30	S	18	I	20	I	0	R	0	R	26	S
St <sub>17</sub>	0	R	20	I	26	S	0	R	22	S	25	S	21	S	0	R	24	S	25	S	14	R	14	R	15	I	0	R	0	R
St <sub>18</sub>	0	R	20	I	25	S	26	S	23	S	25	S	25	S	0	R	26	S	25	S	20	I	20	I	0	R	14	R	0	R
St <sub>19</sub>	0	R	20	I	20	I	22	S	19	I	21	S	22	S	11	R	20	I	25	S	22	S	17	I	0	R	23	S	0	R
St <sub>20</sub>	0	R	28	S	23	S	26	S	23	S	25	S	20	I	10	R	23	S	26	S	20	S	14	R	0	R	20	I	0	R
St <sub>21</sub>	0	R	30	S	24	S	26	S	22	S	27	S	25	S	0	R	25	S	29	S	24	S	11	R	11	R	23	S	0	R
St <sub>22</sub>	14	R	25	S	29	S	12	R	25	S	25	S	22	S	10	R	25	S	25	S	16	I	15	I	15	I	0	R	0	R
St <sub>23</sub>	0	R	40	S	35	S	26	S	25	S	28	S	40	S	25	S	25	S	26	S	39	S	40	S	0	R	25	S	28	S
St <sub>24</sub>	0	R	24	S	26	S	0	R	21	S	26	S	25	S	11	R	26	S	26	S	15	I	15	I	14	R	0	R	15	I
St <sub>25</sub>	0	R	27	S	24	S	26	S	20	I	26	S	25	S	13	R	35	S	30	S	35	S	32	S	17	I	37	S	0	R
St <sub>26</sub>	0	R	0	R	22	S	0	R	20	I	0	R	0	R	15	I	13	R	0	R	0	R	0	R	20	I	0	R	20	I
St <sub>27</sub>	0	R	25	S	26	S	25	S	22	S	26	S	28	S	11	R	26	S	30	S	19	I	12	R	15	I	18	I	0	R
St <sub>28</sub>	0	R	27	S	25	S	27	S	25	S	24	S	25	S	13	R	25	S	30	S	35	S	31	S	14	R	26	S	0	R
St <sub>29</sub>	0	R	23	S	28	S	10	R	22	S	24	S	22	S	12	R	28	S	26	S	17	I	17	I	13	R	0	R	0	R
St <sub>30</sub>	23	S	24	S	29	S	12	R	26	S	26	S	21	S	11	R	25	S	27	S	17	I	18	I	19	I	0	R	15	I
St <sub>31</sub>	0	R	27	S	28	S	0	R	23	S	30	S	20	I	10	R	22	S	25	S	15	I	15	I	20	I	0	R	0	R
St <sub>32</sub>	0	R	30	S	25	S	0	R	20	I	25	S	21	S	10	R	25	S	25	S	10	R	10	R	15	I	0	R	0	R
St <sub>33</sub>	0	R	25	S	20	I	10	R	26	S	22	S	20	I	12	R	23	S	32	S	11	R	23	R	33	S	0	R	0	R

R : Résistante.

S : Sensible.

I : Intermédiaire.

Diamètre en millimètre (mm).



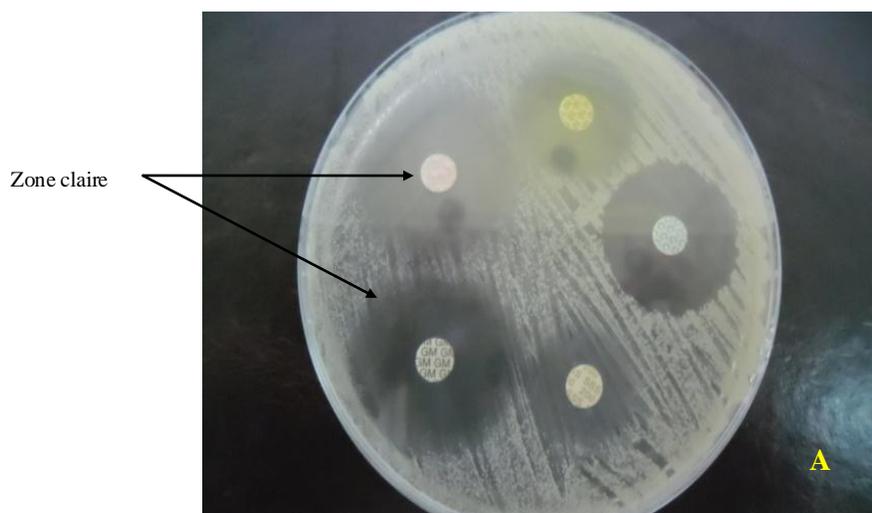


Figure 19 : résultat d'antibiogramme de souche *St*<sub>24</sub>.

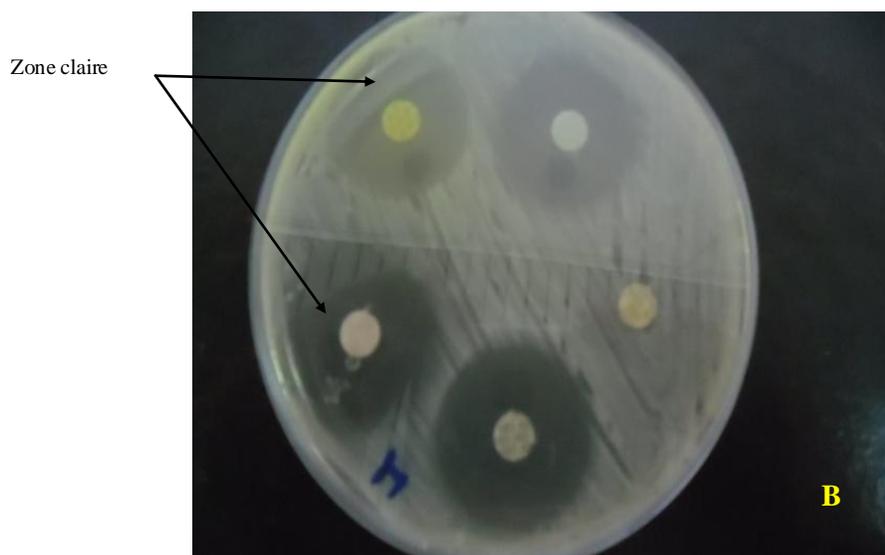


Figure 20 : résultat d'antibiogramme de souche *St*<sub>4</sub>.

Les zones claires dans les photos **A** et **B** montrent la résistance des souches étudiées aux les antibiotiques utilisés dans le test d'antibiogramme.

**Tableau 15:** Identification des souches de staphylocoques isolé à partir des denrées alimentaire, les mains et les surfaces.

	St <sub>24</sub>	St <sub>21</sub>	St <sub>10</sub>	St <sub>20</sub>	St <sub>2</sub>	St <sub>5</sub>	St <sub>34</sub>	St <sub>33</sub>	St <sub>11</sub>	St <sub>9</sub>	St <sub>28</sub>	St <sub>26</sub>
GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
FRU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MNE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LAC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TRE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
XLT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MEL	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
NIT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PAL	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
VP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RAF	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XYL	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
SAC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MDG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NAG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ADH	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
UREE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

( ? ) : Non réaliser



Figure 21 : résultats de la galerie API staph des souches *St*<sub>20</sub>, *St*<sub>10</sub> et *St*<sub>21</sub>.

On observe dans la figure 21 les caractères biochimiques des souches de staphylococcus ou le résultat positif virée au jaune (les sucres), au rose (ADH, Urée et VP) ou au rouge (NIT).

#### 1.2.4. les spores de *Clostridium sulfuto-réducteurs*

Ces bacilles anaérobiques responsables de toxi-infection alimentaire chez l'homme, leur présence indique une contamination fécale ancienne qui est lié à la résistance et à la persistance des spores dans l'environnement.

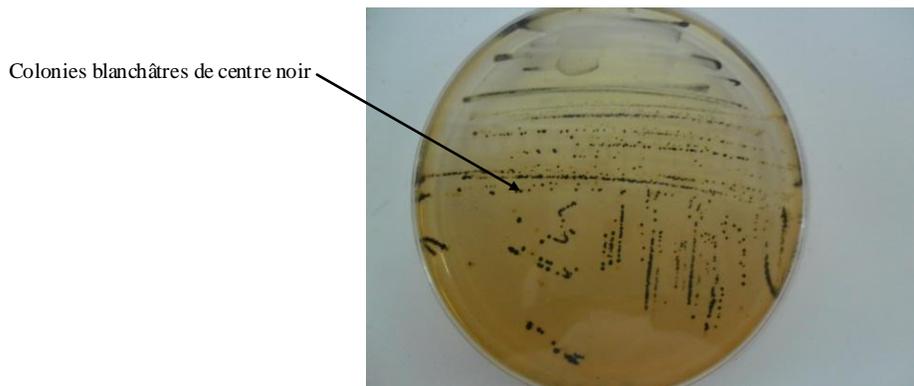
Les analyses microbiologique des plats cuisinés et légumes cuits montre des resultats negatives.



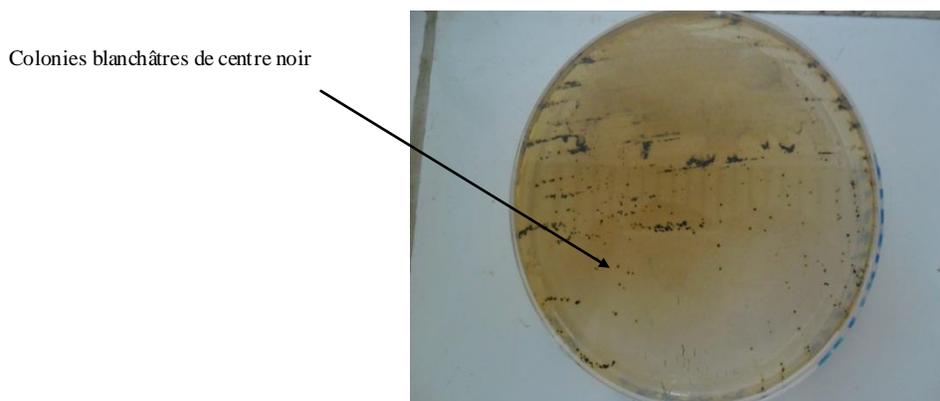
Figure 22 : milieu viande foie pour la recherche de *Clostridium sulfite-réducteurs* (resultats negatif).

### 1.2.5. Les *Salmonelles*

Etant une bactérie particulièrement dangereuse, la recherche de *Salmonella* dans les échantillons prélevés (les plats cuisinés, les surfaces et les mains) à partir des restaurants universitaires est indispensable. Après les analyses bactériologiques et biochimiques des différents échantillons nous avons remarqué l'absence de colonies incolores blanchâtres caractéristiques de *Salmonella* dans le milieu SS (*Salmonella-Shegella*).



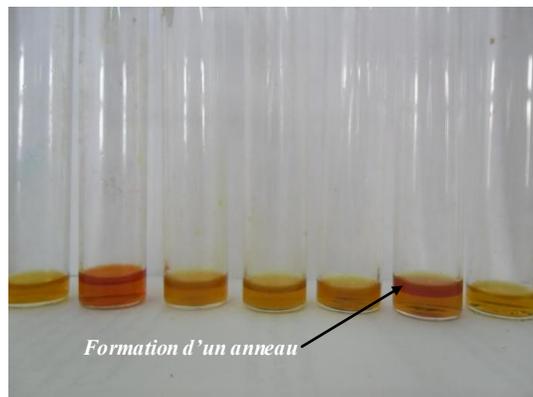
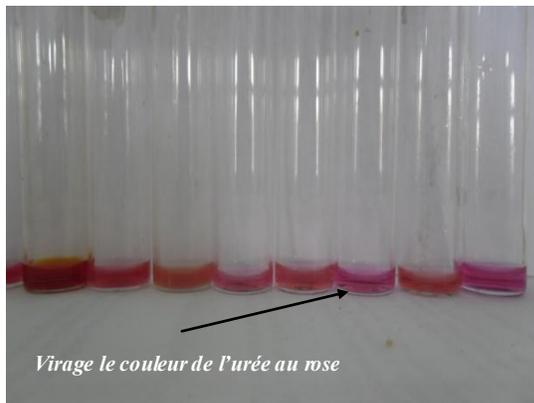
**Figure 23 : Isolement sur milieu SS (*salmonella-shegella*) après 24 heures (colonie suspectes de salmonelle) à partir un repas cuit.**



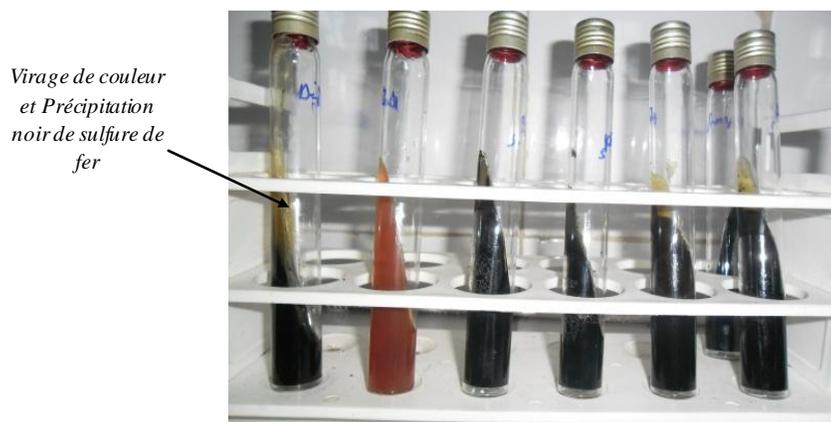
**Figure 24 : Isolement sur milieu SS (*salmonella-shegella*) après 24 heures (colonie suspectes de salmonelle) à partir des mains de cuisinier d'un restaurant universitaire.**

Les figures 23 et 24 nous donne le résultat qui suspect des colonies de salmonelle à partir de repas cuits ou des mains de cuisiniers.

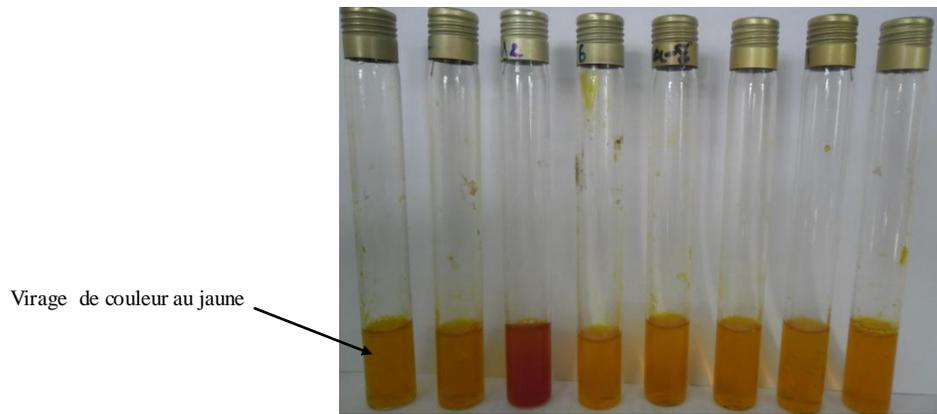
**Les tests biochimique**



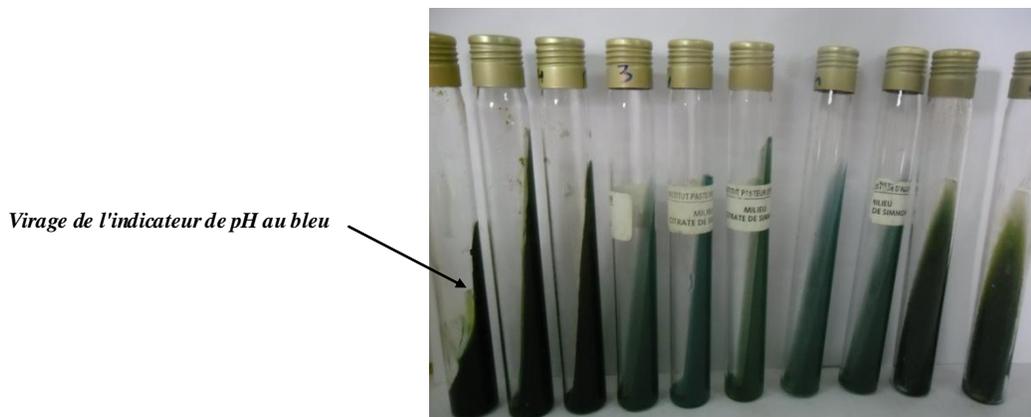
*Figure 25 : Milieu Urée Indole incubé 24 heure à 37°C avant et après l'addition de kovacs.*



*Figure 26 : Milieu TSI après l'incubation 24 heure à 37°C (pour des souches des entérobactéries isolée à partir des surfaces et les mains).*

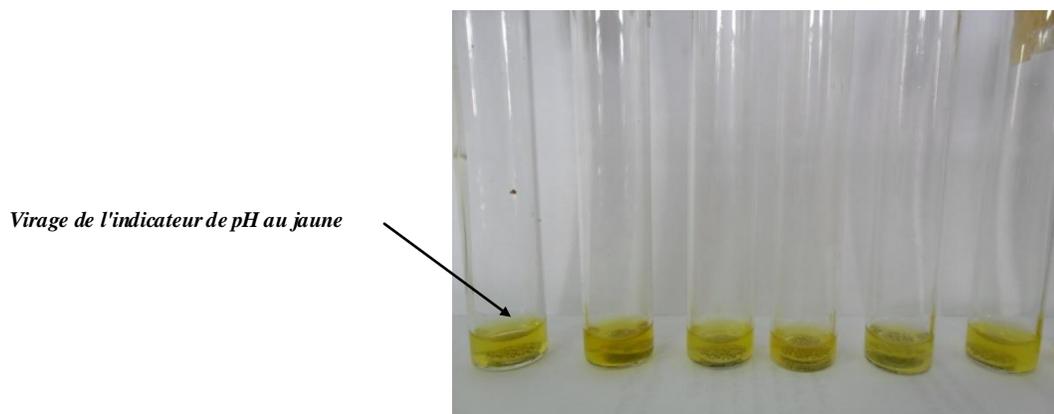


**Figure 27 : Milieu Manitol Mobilité après l'incubation 24 heure à 37°C (pour des souches des entérobactéries isolées apartir des surfaces et les mains).**

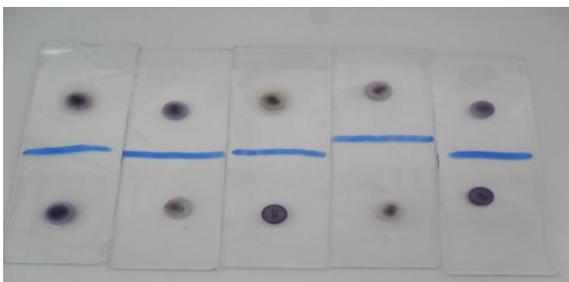


**Figure 28 : Milieu Citrate de Simmons après l'incubation 24 heure à 37°C (pour des souches des entérobactéries isolées apartir des surfaces et les mains).**

Les tubes ci dessus montrent le Virage de l'indicateur de pH au bleu à cause de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone par les bactéries.



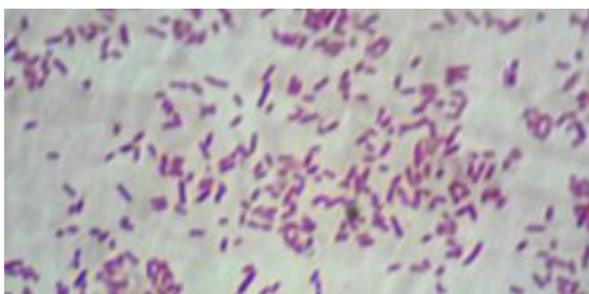
**Figure 29 : Test de l'ONPG après l'incubation 24 heure à 37°C (pour des souches des entérobactéries isoler).**



*Figure 30 :Resultat de test de l'oxydase (pour des souches des entérobactéries isolées).*



*Figure 31 : Aspect Microscopique de Klebsiella pneumoniae (Coloration de Gram G X100).*



*Figure 32 :Aspect Microscopique de Proteus mirabilis (Coloration de Gram G X100).*



*Figure 33 : Aspect Microscopique d'E. Coli (Coloration de Gram G X100).*

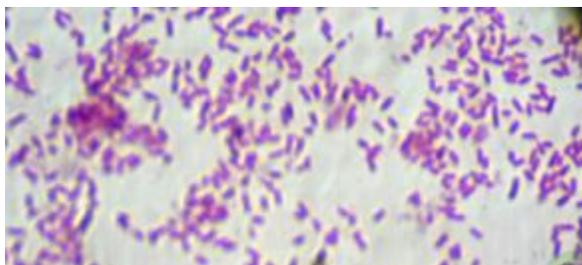


Figure 34 : Aspect Microscopique de *Proteus vulgaris* (Coloration de Gram G X100).

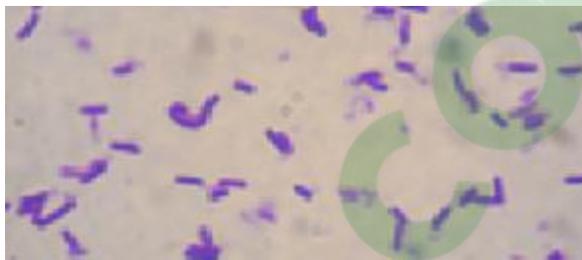


Figure 35 : Aspect Microscopique de *Morganella morganii* (Coloration de Gram G X100).



Figure 36 : Aspect Microscopique de *Citrobacter freundii* (Coloration de Gram G X100).

**Tableau 16 :** Les resultats d’analyses des repas chauds et froids qui ont été prelevés au niveau de la restaurant de cité universitaire de jeunes filles 30<sup>ème</sup> anniversaire de la révolution (selon le journal officiel de la république algérienne annexe 01).

Les echantions	Les germes recherchés par grame d'aliment (UFC/g)					
	FMAT à 30°C	Staph.a à 37°C	Clostridium à 46°C	C.T 37°C	C.Th à44°C	Salmonelles
01	3 . 10 <sup>5</sup>	Abs	Abs	/	Abs	Abs
02	2,5. 10 <sup>5</sup>	Abs	Abs	/	Abs	Abs
03	/	Abs	/	/	/	Abs
04	/	Abs	/	/	/	Abs
05	2,58.10 <sup>7</sup>	90	/	/	/	Abs
06	/	Abs	/	/	/	Abs
07	/	Abs	/	/	/	Abs
08	2.10 <sup>6</sup>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
09	/	Abs	/	/	/	Abs
10	/	Abs	/	/	/	Abs
11	3,4.10 <sup>6</sup>	Abs	Abs	130	130	Abs
12	/	Abs	/	/	/	Abs
13	2,3.10 <sup>5</sup>	Abs	/	3.10 <sup>4</sup>	3.10 <sup>4</sup>	Abs

**Tableau 17** : Les resultats d'analyses des repas chauds et froids qui ont été prelevés au niveau de la Restaurant universitaire Es-Senia.

Les echantions	Les germes recherchés par grame d'aliment (UFC/g)					
	<i>FMAT</i> à 30°C	<i>Staph.a</i> à 37°C	<i>Clostridium</i> à 46°C	<i>C.T</i> 37°C	<i>C.th</i> à44°C	<i>Salmonelles</i>
<b>01</b>	/	Abs	/	/	/	Abs
<b>02</b>	1,852.10 <sup>3</sup>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
<b>03</b>	/	Abs	/	/	/	Abs
<b>04</b>	/	Abs	/	/	/	Abs
<b>05</b>	/	Abs	/	/	/	Abs
<b>06</b>	10 <sup>6</sup>	4,2.10 <sup>2</sup>	Abs	130	130	Abs
<b>07</b>	/	Abs	/	/	/	Abs
<b>08</b>	4,6.10 <sup>6</sup>	Abs	Abs	4.10 <sup>4</sup>	4.10 <sup>4</sup>	Abs
<b>09</b>	/	Abs	/	/	/	Abs
<b>10</b>	9,12.10 <sup>5</sup>	abs	/	130	130	abs

**Tableau 18** : Les resultats d'analyses des repas chauds et froids qui ont été prelevés au niveau de la restaurant d'IGMO.

Les echantions	Les germes recherchés par grame d'aliment					
	<i>FMAT</i> à 30°C	<i>Staph.a</i> à 37°C	<i>Clostridium</i> à 46°C	<i>C.T</i> à 37°C	<i>C.th</i> à44°C	<i>Salmonelles</i>
01	7,3.10 <sup>7</sup>	Abs	/	2,6.10 <sup>4</sup>	2,6.10 <sup>4</sup>	Abs
02	6,4.10 <sup>3</sup>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
03	/	Abs	/	/	/	Abs
04	4,2.10 <sup>6</sup>	Abs	Abs	3.10 <sup>4</sup>	3.10 <sup>4</sup>	Abs
05	/	Abs	/	/	/	Abs
06	/	Abs	/	/	/	Abs
07	/	Abs	/	/	/	Abs
08	/	Abs	/	/	/	Abs
09	/	Abs	/	/	/	Abs
10	/	abs	/	/	/	abs

**Tableau 19 :** Les résultats d'analyses des repas chauds et froids qui ont été prélevés au niveau de la restaurant de Belgaid « I, II, III ».

Les restaurants	Les échantillons	Les germes recherchés par grame d'aliment UFC/g					
		FMAT à 30°C	Staph.a à 37°C	Clostridium à 46°C	C.T à 37°C	C.F à 44°C	Salmonelles
DI	01	5.10 <sup>5</sup>	Abs	abs	abs	abs	Abs
	02	/	Abs	/	/	/	Abs
	03	/	Abs	/	/	/	Abs
DII	04	6,4.10 <sup>3</sup>	Abs	/	/	/	Abs
	05	/	Abs	/	/	/	Abs
	06	/	Abs	/	/	/	Abs
DIII	07	7,1.10 <sup>4</sup>	Abs	abs	abs	abs	Abs
	08	/	Abs	/	/	/	Abs
	09	/	Abs	/	/	/	Abs
	10	/	abs	/	/	/	abs

**Tableau 20 :** Les analyses microbiologiques des échantillons des surfaces et les mains qui ont été prélevés au niveau de la Restaurant universitaire Es-Senia.

Prélèvements		Germes recherchés		
		CF.Fécaux	S.Aureus	Salmonella
Mains de cuisinier	MP1	/	+	-
	MP2	/	+	-
Mains de distributeurs	DP1	/	-	-
	DP2	/	+	-
	DP3	/	+	-
Vestiaires de cuisinier	VP1	-	+	-
	VP2	+	+	-
Plats de consommation	PP1	-	+	-
	PP2	-	+	-
Postes de distributions	PDP1	+	+	-
	PDP2	+	+	-
Paillasse de travail	PTP1	+	-	-
	PTP2	+	+	-
Equipements	EP1	-	+	-
	EP2	-	+	-
Chariots	HP1	+	+	-
	HP2	+	+	-

**Tableau 21** : Résultats des tests biochimiques effectués pour les souches isolées sur milieu SS.

	Uréase	Indole	Glucose	lactose	Saccharose	H <sub>2</sub> S	Gaz	Citrate perméase	Mobilité	ONPG	OX
E <sub>1</sub>	+	-	+	+	+	++	+	+	+	+	-
E <sub>2</sub>	+	-	+	+	+	++	+	+	+	+	-
E <sub>3</sub>	+	-	+	+	+	++	+	+	+	+	-
E <sub>4</sub>	+	-	+	+	+	++	+	+	+	+	-
E <sub>5</sub>	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
E <sub>6</sub>	+	-	+	+	+	++	+	+	+	+	-
E <sub>7</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
E <sub>8</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
E <sub>9</sub>	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+
E <sub>10</sub>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
E <sub>11</sub>	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+/-
E <sub>12</sub>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
E <sub>13</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E <sub>14</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
E <sub>15</sub>	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
E <sub>16</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
E <sub>17</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-

**Tableau 22** : Les analyses microbiologiques des échantillons des surfaces et les mains qui ont été prélevés au niveau de la Restaurant universitaire IGMO.

Prélèvements		Germs recherchés		
		<i>CF.Fécaux</i>	<i>S.Aureus</i>	<i>Salmonella</i>
Mains de cuisinier	MI1	/	+	-
	MI2	/	+	-
Mains de distributeurs	DI1	/	-	-
	DI2	/	+	-
	DI3	/	+	-
Vestiaires de cuisinier	VI1	+	+	-
	VI2	+	+	-
Plats de consommation	PI1	+	+	-
	PI2	+	+	-
Postes de distributions	PDI1	+	+	-
	PDI2	+	+	-
Paillasse de travail	PTI1	+	-	-
	PTI2	+	+	-
Equipements	EI1	+	+	-
	EI2	+	+	-
Chariots	HI1	+	+	-
	HI2	+	+	-

**Tableau 23** : Résultats des tests biochimiques effectués pour les souches isolées sur milieu SS.

	Uréase	Indole	Glucose	lactose	Saccharose	H <sub>2</sub> S	Gaz	Citrate perméase	Mobilité	ONPG	OX
E <sub>18</sub>	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
E <sub>19</sub>	+	-	+	+	+	++	+	+	+	+	+/-
E <sub>20</sub>	+	-	+	+	+	++	+	+	+	+	-
E <sub>21</sub>	+	-	+	+	+	++	+	-	+	+	+
E <sub>22</sub>	+	-	+	+	+	++	+	-	+	+	+
E <sub>23</sub>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E <sub>24</sub>	+	-	+	+	++	+	+	+	+	+	+
E <sub>25</sub>	+	+	+	+	++	+	+	+	+	+	-
E <sub>26</sub>	+	-	+	+	++	-	+	-	+	+	+
E <sub>27</sub>	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-
E <sub>28</sub>	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
E <sub>29</sub>	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-
E <sub>30</sub>	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+/-
E <sub>31</sub>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E <sub>32</sub>	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+

## 2. Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats d'examen s'effectue au regard des limites numériques définies par les critères microbiologiques. Ces critères sont fixés par des arrêtés ministériels (**Bornert G, 2000**).

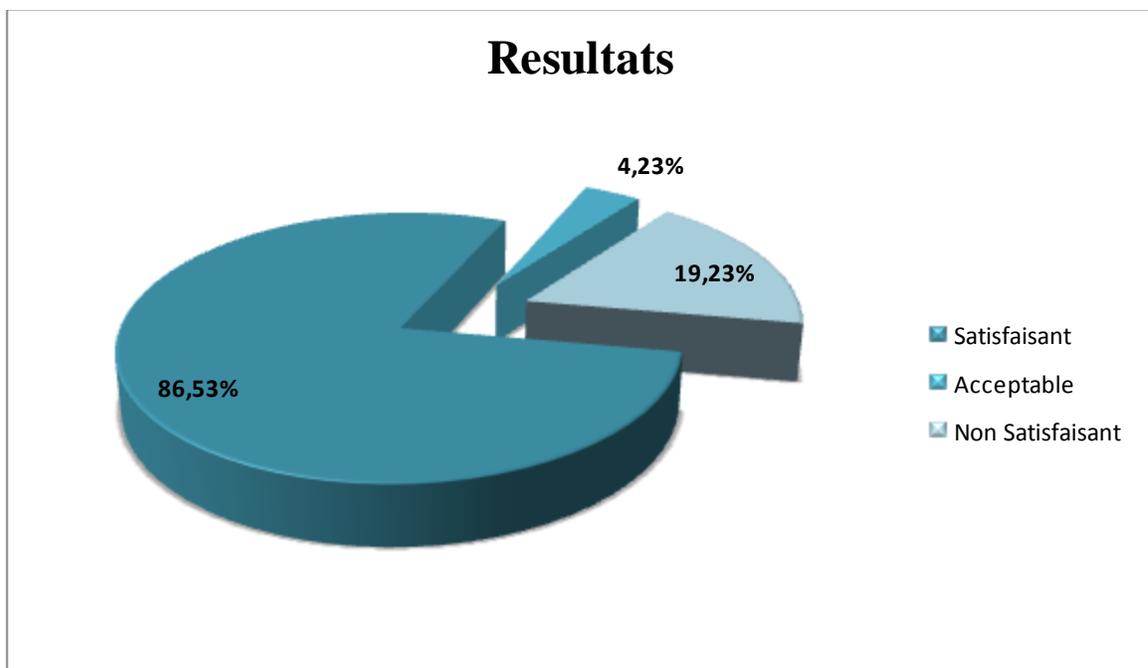
### 1.1. Les denrées alimentaires

En matière d'échantillonnage et interprétation des résultats d'analyse, il est tenu compte, dans la présente annexe, des travaux menés en matière au sien des organisations internationales (**Jora, 1998**). L'interprétation est faite suivant un plan à trois classes. Ce plan conduit à trois éventualités d'appréciation.

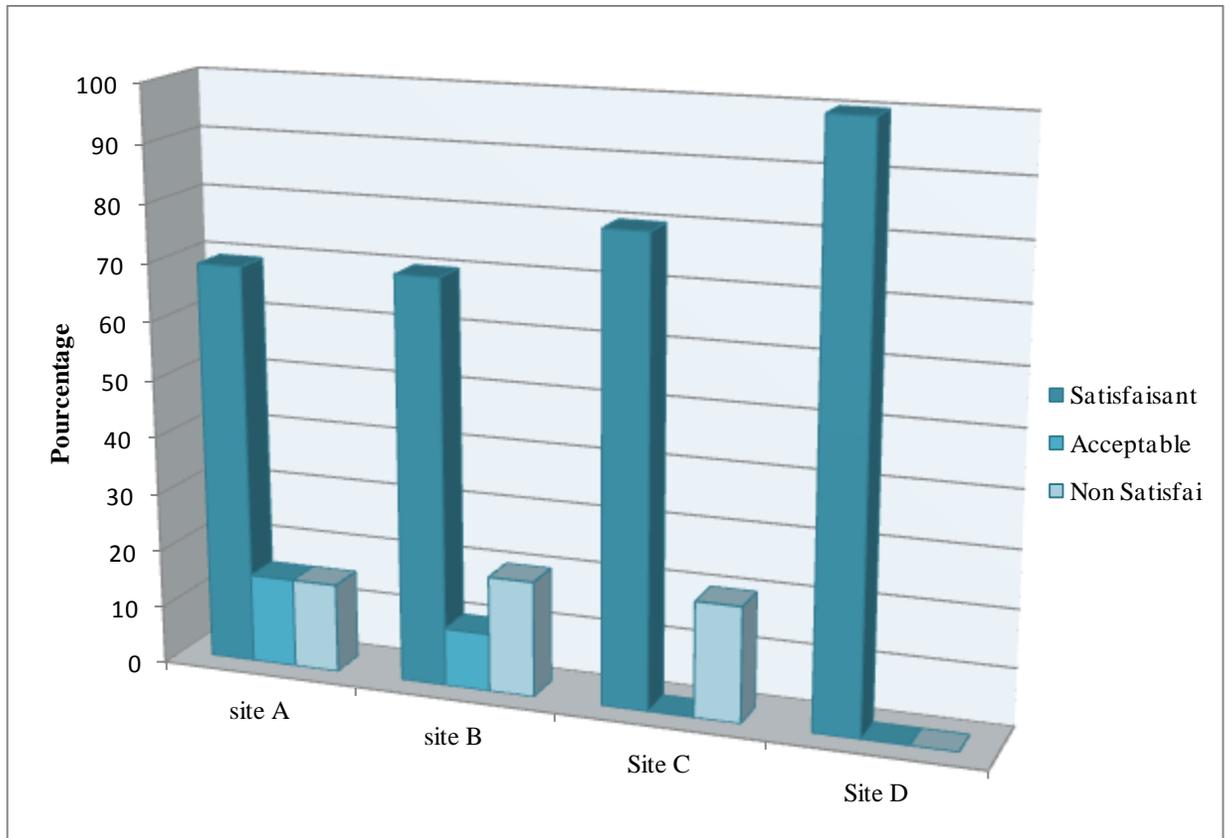
- Echantillon satisfaisant si le résultat. Obtenue est inférieur ou égal à la norme m pour le paramètre donné.
- Echantillon acceptable si le résultat est compris entre 3m et 10m en milieu solide ou entre 10m et 30m en milieu liquide.
- Echantillon non satisfaisant si le résultat est supérieur à 10 m en milieu solide ou 30m en milieu liquide.

**Tableau 24** : Interprétation des résultats pour les échantillons des denrées alimentaires prélevés.

		Satisfaisant		Acceptable		Non Satisfaisant	
		nombre	Pourcentage %	nombre	Pourcentage %	nombre	Pourcentage %
<b>Site A</b>		09	69,23	02	15,38	02	15,38
<b>Site B</b>		07	70	01	10	02	20
<b>Site C</b>		08	80	00	00	02	20
<b>Site D</b>	<b>DI</b>	03	100	00	00	00	00
	<b>DII</b>	03	100	00	00	00	00
	<b>DIII</b>	04	100	00	00	00	00
<b>Total</b>		34	86,53	03	4,23	06	19,23

**Figure 37** : Interprétation globale des résultats d'analyse microbiologiques des aliments.

*Ce résultat nous donne un pourcentage élevé de repas satisfaisant par rapport aux repas acceptables et non satisfaisants.*



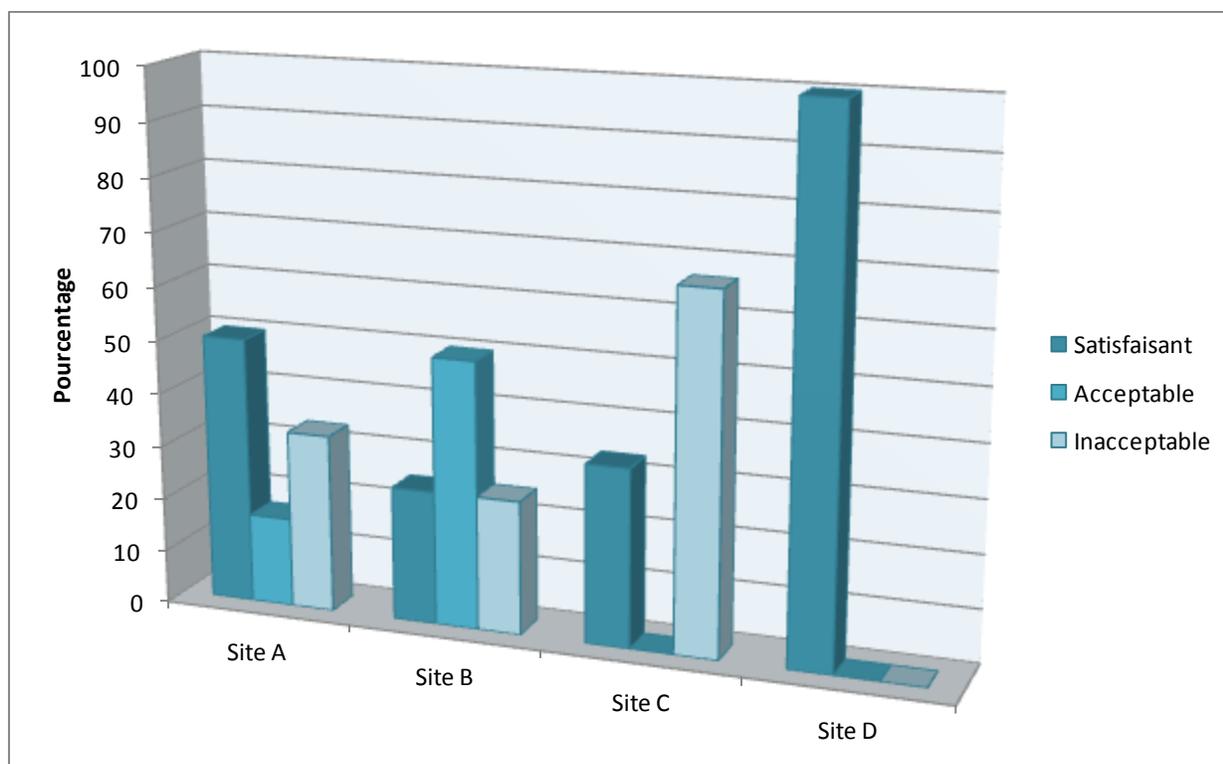
*Figure 38 : Histogramme comparatif globale entre quatre sites des restaurants universitaire.*

Tous les échantillons du site D sont satisfaisants (100%), contre 69,23, 70 et 80% respectivement pour les sites A, B et C. tandis qu'au niveau du site B et C 20 % des échantillons sont non satisfaisants contre 15,38 % des échantillons sont non satisfaisant au niveau du site A. 15,38, 10, 0, 0% des échantillons sont acceptables successivement pour les sites A, B, C et D.

**Tableau 25** : Niveau de contamination par la flore mésophile aérobie totale à 30°C (FMAT) dans les repas au niveau des quatre sites de l'étude.

	Satisfaisant (%)	Acceptable (%)	Inacceptable (%)
Site A	50	16,66	33,33
Site B	25	50	25
Site C	33,33	00	66,66
Site D	100	00	00
Total	52,08	16,66	31,24

Le tableau ci dessus nous informe que 52,08% des repas sont satisfaisants comme 31,24% inacceptable.

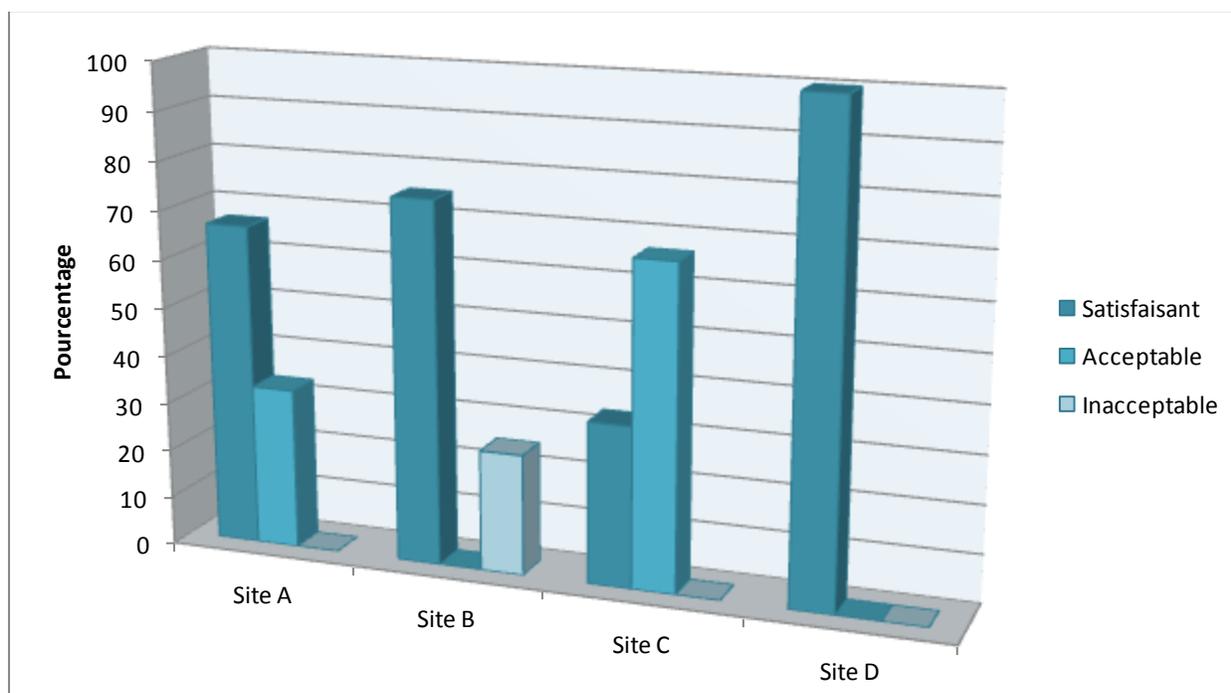


*Figure 39 : Histogramme du niveau de contamination par la flore aérobie mésophile totale à 30°C.*

La figure indique les niveaux de contamination par la flore totale, au niveau des sites des restaurations universitaires. 50, 25, 33,33 et 100% des échantillons satisfaisants, 16,66, 50, 0 et 0% des échantillons des échantillons sont acceptables et 33,33, 25, 66,66 et 0% des échantillons sont non satisfaisants respectivement pour les sites A, B, C et D.

**Tableau 26** : Niveau de contamination par les *coliformes thermotolérants* dans les repas au niveau des quatre sites de l'étude.

	Satisfaisant (%)	Acceptable (%)	Inacceptable (%)
Site A	66,66	33,33	00
Site B	75	00	25
Site C	33,33	66,66	00
Site D	100	00	00
Total	68,74	24,99	6,25



**Figure 40** : Histogramme du niveau de contamination par les *coliformes thermotolérants*.

La figure indique les niveaux de contamination par les *coliformes thermotolérants*, au niveau des sites des restaurations universitaires.

66,66, 75, 33,33 et 100% des échantillons satisfaisants, 33,33, 0, 66,66 et 0% des échantillons des échantillons sont acceptables et 0, 25, 0 et 0% des échantillons sont non satisfaisants respectivement pour les sites A, B, C et D des différents restaurants universitaire.

2.2. Les surfaces et les mains

Tableau 27 : Interprétation des résultats pour les échantillons prélevés à partir des surfaces et les mains.

	Propre %		Non propre %	
	Mains	Locaux et équipements	Mains	Locaux et équipements
Site A	20	00	80	100
Site B	20	00	80	100

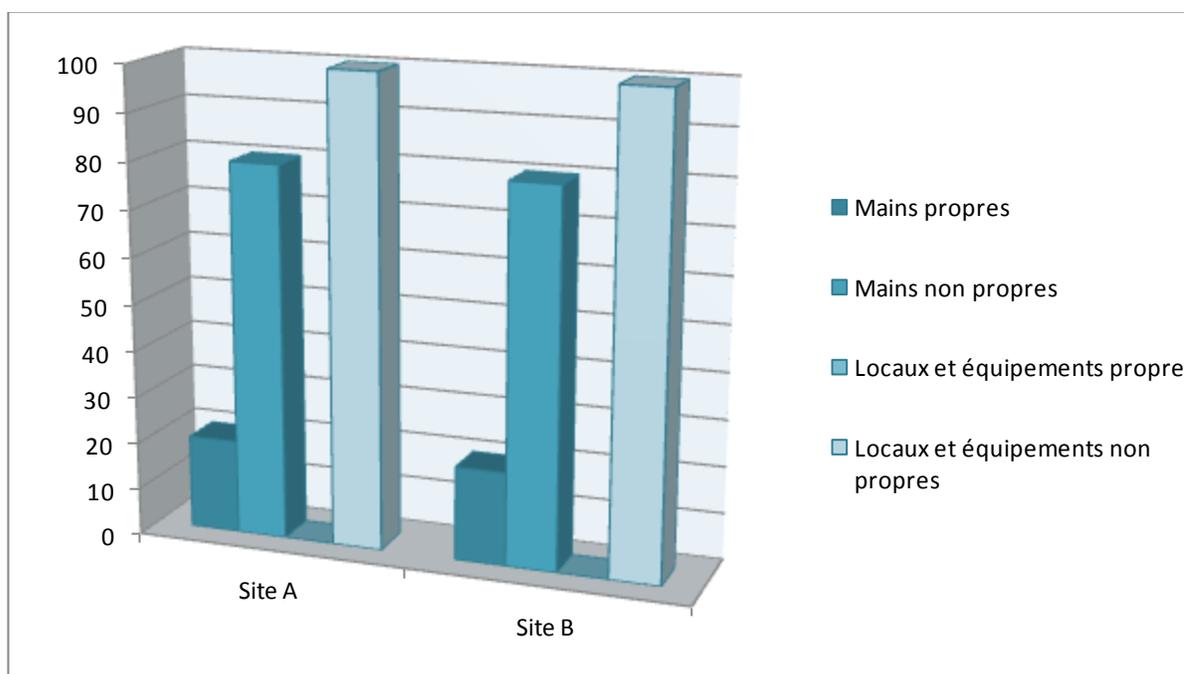


Figure 41 : Histogramme d'interprétation de la propriété des deux restaurants universitaire (Site A et Site B).

20% des échantillons prélevés à partir des mains dans les deux sites sont propres et 80% sont non propres, tous les échantillons prélevés à partir des Locaux et équipements sont non propre dans les deux sites.

## Discussion

La sécurité et la qualité hygiénique des plats servis aux consommateurs dépendent des contaminations initiales des matières premières (**Ilboudo et al., 2009**), des possibilités de contaminations surajoutées à chaque étape du processus d'élaboration, de la possibilité de contamination résiduelle lorsqu'un traitement assainissant est appliqué et enfin des possibilités de multiplication des micro-organismes présents dans la denrée (**Anonymous, 1982 ; Ewen et Todd, 1985 ; Goktan et Tunçel, 1987 ; Inal, 1992**). Une politique d'hygiène mal adaptée se traduira par une augmentation de la contamination biologique avec possibilité de développement de micro-organismes pathogènes (salmonelles, streptocoques, clostridium, coliformes, staphylocoques) avec un risque de toxi-infection alimentaire (**Barro et al., 2002 ; Goussault, 1983 ; Rosset et al., 1983**).

La recherche de la flore aérobie mésophile totale dans les plats servis aux étudiants a donné des résultats peu satisfaisants. La présence de cette catégorie de germes donne une idée sur la contamination globale **Commission hygiène du Geco (1983)**, 52,08 % échantillons prélevés au niveau des repas étaient satisfaisants. Ce pourcentage est proche de celui trouvé par **Ilboudo et al., (2009)** (45%), est très inférieur à celui trouvé par **Sylla et Seydi (2003)** (98%). Ce qui nous pousse à recommander encore plus d'hygiène au niveau des restaurations collectives.

Sachant que la présence des *salmonelles* et des *staphylocoques* dans les aliments témoigne de leur insalubrité ; les *staphylocoques* se retrouvent par tout, et ce fait tous les échantillons prélevés au niveau des sites A, B, C et D sont satisfaisants. Quant aux analyses réalisées sur les repas pour le dénombrement des *Staphylococcus aureus*, elles donnent des résultats satisfaisants à 100 %, contrairement aux résultats trouvés par **Kruy et al (2001)** (12,4 %) . Toutefois, l'absence totale de *salmonelles* dans les échantillons est à prendre souvent avec prudence, car selon la nature du milieu d'isolement et la présence éventuelle de germes compétiteurs comme les coliformes et les *proteus*, cette recherche peut s'avérer faussement négative.

Le dénombrement des *coliformes thermotolérants* dans les repas révèle 68,74% des échantillons sont satisfaisant, 24,99% sont acceptables et 6,25% sont non satisfaisant .Ces pourcentages en accord avec ceux trouvés par **Goussault (1983)** (5 %) est un peu inférieur à ceux trouvés par **Alassane (1998)** (3,57%), ou leurs travaux ont été réalisés dans les mêmes conditions.

Les *coliformes thermotolérants* sont des germes témoins de la qualité hygiéniques des aliments à côté des coliformes à 30 °C et des anaérobies sulfitoréducteurs (**Catsaras et Grebot, 1984**).

Quant aux analyses réalisées pour le dénombrement des flores sulfitoréducteurs, elles donnent des résultats satisfaisants à 100 %. Supérieurs à ceux trouvés par **Sylla et Seydi (2003)** (96%).

Les analyses microbiologique appliquée sur les échantillons prélevées dans les différents surfaces et les mains des cuisiniers ainsi que les distributeurs au niveau des deux sites universitaires A et B donnent des résultats conformes à 20% et non conforme à 80%, pour les échantillons prélevées à partir des mains, ainsi que ceux prélevées à partir des surfaces et des équipements.

Les chercheurs insistent sur l'importance de la surveillance bactériologique des aliments dans les restaurants universitaires, laquelle présente un triple intérêt : s'assurer de l'absence de contamination bactérienne des aliments proposés aux étudiants, avoir une valeur éducative pour le personnel de restauration universitaire ; enfin contrôler de façon globale, la qualité du travail tout au long de la chaîne de préparation des aliments.

Sur nos 43 prélèvements de repas servis aux étudiants, et 34 prélèvements à partir des mains et des surfaces dans les quatre restaurants universitaires de la wilaya d'Oran, nous avons mis en évidence la présence de 34 souches de genre *Sataphylococcus* et 34 souches des entérobactéries.

Selon les tests biochimiques orientales rapides réalisés sur les souches des entérobactéries (test de TSI, uréase, indole, ONPG, H<sub>2</sub>S, citrate perméase, manitole mobilité et Oxydase), nous avons mis en évidence une espèce dominante étant ici *Proteus mirabilis* 65,62%. Nous avons également mis en évidence la présence de cinq autres souches réparties essentiellement entre 6,25% *Klebsiella pneumoniae*, 15,62% *Citrobacter freundii*, 6,25% *E.coli*, 3,12% *Proteus vulgaris*, 3,12% *Morganella morganii*.

Après l'identification des 34 souches de staphylococcus par les tests de Catalase, Coagulase et DNase nous avons mis en évidence 100% des souches catalase positif et 97,05% sont coagulase et DNase positif.

Après l'identification des 12 souches de *Staphylococcus* par le galrie API Staph et a l'aide de mis à jour des bases de données pour l'identification microbienne, nous avons constaté 91,66% des souches sont des *Staphylococcus aureus* comme une espèce dominante et 8,33% des souches sont *Staphylococcus xylosus* Par contre dans le cas de l'étude de **Leroy et al.**,

(2001) a montré que *S. xylosus* est l'espèce dominante dans 42,8 % des ateliers analysés dans le cadre d'identification et caractérisation de la flore d'intérêt technologique,

La mise en évidence des antibiorésistances des souches de *Staphylococcus* isolées et identifiées à partir des denrées alimentaires, et sur les différentes surfaces, les équipements, les mains des cuisiniers et les distributeurs, a été réalisée par la technique de diffusion sur milieu gélosé MH. Le procédé a été le même pour tous les sites A, B, C et D.

Les résultats obtenus dans notre étude montrent que 33 souches 12,12% sont résistantes à l'Erythromycine (15 µg), 57,57% à Oxacilline (1 µg), 24,24% à Amoxicilline + clavulanate (20/10 µg), 36,36% à Amoxicilline (25 µg), 93,93% pour Nalidixique (30 µg), 12,12% à Spiramycine (100 µg), 12,12% à Lincomycine (15 µg), 51,51% à Triméthoprim-sulfaméthoxazole (1.25/23.75 µg), 84% à Colistin (50 µg), 69,69% à Sulfonamides (200 µg), 12,12% à Pristinamycine (15 µg), 3,03% à Chloramphénicol (30 µg), 45,45% et en fin Pipemidic acid (20 µg).

Toutes les 33 souches sont sensibles à 81,81% pour Gentamicine (10 µg), 69,69% pour Nitroxoline (20 µg). Les travaux de **André et al, (2008)** ont montré que la résistance des souches isolées à partir de différentes denrées alimentaires 5,5% pour Erythromycine et pour Oxacilline.

## Conclusion

Dans notre pays, la restauration collective prend une ampleur chaque jour grandissant particulièrement en milieu universitaire. Lorsque les conditions d'hygiène de cette restauration ne sont pas respectées, il en résulte que les repas présentent un risque considérable du fait de la présence possible de microorganismes pathogènes pour le consommateur. La distribution de repas aux collectivités nécessite de ce fait un contrôle particulier afin de protéger la santé des convives.

La préparation des repas de bonne qualité microbiologique exige le respect de nombreuses règles d'hygiène à plusieurs niveaux : matières premières mises en jeu, environnement de préparation (matériel, conservation, locaux, personnel) et savoir-faire.

Cette étude a révélé qu'au niveau du service de quatre restaurations universitaire dans la wilaya d'Oran il est nécessaire d'améliorer l'aménagement et l'équipement déficient des cuisines. Par ailleurs, il faut d'urgence former les personnels de restauration, qui souvent ignorent les règles élémentaires d'hygiène, afin d'assurer de bonnes pratiques d'hygiène depuis la constitution du repas jusqu'à sa distribution en évitant d'éventuelles recontaminations par les divers vecteurs, et enfin renforcer la mise en place et le contrôle d'un programme de nettoyage-désinfection.

Des mises à jour périodiques concerneront :

- Les fiches récapitulatives lors de changements touchant les locaux ou le matériel.
- Les fiches d'instruction doivent être revues en fonction des résultats des autocontrôles et lors de changements touchant les produits utilisés ou les procédés appliqués.



*Références*  
*Bibliographiques*



## Références bibliographique

- **Abouda Y, 2011** : La qualité bactériologique en restauration hospitalière, un paramètre de gestion de risque infectieux. *Science Lib Editions Mersenne* ISSN 2111-4706, 3 ; N ° 110301.
- **AFNOR (Association Française de Normalisation), 2004** : Analyse microbiologique méthodes horizontales Paris. Association Française de Normalisation (AFNOR) :1, 521.
- **Alassane A, 1998** : Contribution à l'étude de l'hygiène dans la restauration collective au centre des œuvres universitaire (COUD). Thèse de médecine vétérinaire, Dakar, n° 26.
- **Alli A, 2004**: Food Quality Assurance: Principles and Practices. FLORIDA 33431: CRC Press.
- **Anderson W., Ebel E., M. Fazil A., Kasuka F., Kelly L., Lammerding A., Morales R., Schlosser W., Snary E., Vicari A., Yamamoto S, 2002** : Evaluation des risques liés à *Salmonella* dans les œufs et les chairs de poulet. OMS.
- **André M., Campos M., Borges L., Kipnis A., Pimenta F., Serafini A, 2008**: Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following smal digestion. *Food Control* 19: 200–207.
- **Anonymous, 1982**: Guidelines for Organization and Management of surveillance of foodborne Diseases. WHO. Geneva.
- **Arnaud-thuillier H., Libert B., 1991**: Visite des restaurants d'entreprise, guide méthodologique pour le médecin du travail. *Fiche Medico-Technique* N° 38.
- **Aubaille C., Bordes D., Derrien H., Fieschi J., Gourmelen A., Isaute E., Joseph M., Quinsat C., Soler C, 1992** : Le plan d'activité commun à plusieurs médecins. Exemple : hygiène et ergonomie en restauration collective. *Archive des Maladies Professionnelles*, 309-310.
- **Avignon A., Barbe P., Basdevant A., Bresson J., Colette C., Constans T., Cosnes J., Crenn P., Delarue J. & al., 2001** : cahiers de nutrition et de diététique. Collège des Enseignants de Nutrition. Société de nutrition et de diététique de langue française 36, 2S1-2S163.
- **Bajžík P., Bobková A., Bobko M., Zeleňáková L., Lopašovský L., Čapla J, 2012** : Ratings of the hygienic conditions and verification professional competence employee

- in common food services. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 717-724.
- **Bayard J., Vignal J, 1987** : Cuisine centrale. *Municipale d'Etampe Riva*, N° 224, P. 19 - 24.
  - **Becila A, 2009** : Préventions des altérations et des contaminations microbiennes des aliments, mémoire de magistère. Université Mentouri – Constantine.
  - **Bell C, 2003**: Pest control: insects and mites, hygiene in food processing. Woodhead, Cambridge, pp. 335–379.
  - **Bennett R, 2005**: Staphylococcal enterotoxin and its rapid identification in foods by enzymelinked immunosorbent assay-based methodology. *Journal of Food Prot.* 68:1264–1270.
  - **Bergdoll M, 1989**: *Staphylococcus aureus*, foodborne Bacterial Pathogens. Marcel Dekker, New York and Basel, pp. 463–523.
  - **Billon J, 1987** : contamination des aliments par personnel dans les industries alimentaires. RTVA, 231, 4-6.
  - **Bobhate P., Shrivastava S., Seth P, 2011**: Profile of catering staff at a tertiary care hospital in Mumbai. *Australasian Medical Journal*, vol.4, 2011, n° 3, p. 148-154.
  - **Bolnot F, 2004** : La maîtrise de la qualité et les signes de qualité. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, observatoire risques et aliments. 17p.
  - **Bornert G, 2000** : La place des analyses microbiologiques de denrées alimentaires dans le cadre d'une démarche d'assurance-sécurité, *Groupe de Secteurs Vétérinaires Interarmée*, **151**, 8-9, 805-812.
  - **Bornert G, 2000** : La place des analyses microbiologiques de denrées alimentaires dans le cadre d'une démarche d'assurance-sécurité. *Revue Médecin Vétérinaire*, **151**, 8-9, 805-812.
  - **Brouard C., Espie E., Weill F-X., Brisabois A., Kerouanton A., Michard J., Hulaud D., Forgue A-M., Vaillant V., De Valk H, 2006** : Epidémie de salmonellose à *Salmonella enterica* sérotype Agona liée à la consommation de poudres de lait infantile. France, janvier-mai 2005. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire, n°33, p.248-250.
  - **Brunet D., Maincent M, 1983** : Pratiques culinaires et hygiène. 1. T.S.V, 127 – 134.
  - **Buchanan R., Philips J, 1990**: Response surface model for predicting the effects of temperature, pH, NaCl content, sodium nitrite concentration and atmosphere on the growth of *L. monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, **53**, 370-3.

- **Carbonel X 2007** : Problématique de la sécurité des aliments en phase de création d'une chaîne de restauration rapide, thèse de doctorat vétérinaire. École Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- **Carbannelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargues R, 1987** : Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. *SIMEP SA*. Paris, 121-137 ; 146-155.
- **Carlier V, 1983** : Étude de quelques paramètres du pH ultime des viandes de bovins. *RTVA*, 185, 3.
- **Catsaras M., Grebot D, 1984** : Multiplication des *salmonelles* dans la viande hachée. *Bull Académie Vétérinaire France*, 57 : 501-2.
- **César M, 2006** : Analyse bactériologique des aliments en milieu rural au Laos. Mémoire de licence en Sciences Biomédicales, la faculté de Médecine de l'Université Nationale du Laos.
- **Charles N., Jean L, 2005** : Bactériologie Médicale, Masson Paris 187p-192p.
- **Chouman K., Giglio Ponsano E., Michelin F, 2010** : Microbiological quality of food from *self-service* restaurants. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 69(2):261-6.
- **Cirillo T., Agozzino E., Cocchieri R., Del Prete U, 2004** : Perception of biological risk and food choices in university students in Naples. *Italian journal of public health* ; 62P - 67P
- **Colin P, 2009** : Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments : *Salmonella*. Afssa.
- **Commission hygiène du Geco, 1983** : Nettoyage et désinfection en restauration. Sols surfaces- matériels-vaisselle-linge. In : La Restauration. Paris : Informations techniques des services vétérinaires.
- **Corpet D, 2005** : Maîtrise de l'hygiène (restaurant & industrie) hygiène en restauration hors foyer. polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Unité pédagogique de l'hygiène et l'industrie des denrées alimentaires d'origine animale, 26p.
- **Corpet D, 2005** : Qualité des aliments. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Unité pédagogique de l'hygiène et l'industrie des denrées alimentaires d'origine animale, 11p.
- **Corpet D, 2005** : TIAC, risques sanitaires des aliments dangers chimiques & toxico-infections alimentaires collectives. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Unité pédagogique de l'hygiène et l'industrie des denrées alimentaires d'origine animale, 28p.

- **Cosson C., Bolnot F., Tronchon P, 2003** : « Sécurité alimentaire » en milieu hospitalier : de la logique de crise à la logique de progrès. *Nutrition clinique et métabolisme*, 17 ; 242–251
- **Courthiat M., Boitel L., Chau N., Julliard G, 1996** : Conditions de travail et risques professionnels dans la restauration. Documents pour le médecin du travail, 43, 315-322.
- **Crosby P, 2004** : Définition de la qualité. AUPETIT (P) Assurance qualité & ISO 9000. Module C3 Conservatoire National des Arts et Métiers, 88p.
- **D’Aoust J, 2001**: *Salmonella. Guide to Food-borne Pathogens*. Wiley, New York, pp. 163–192.
- **Dajon J, 2004** : Guide de visite d'entreprise de restauration, mémoire pour la délivrance du diplôme d'études spécialisées de médecine du travail. Université de Montpellier I.
- **De Boer E and Beumer R, 1999**: Methodology for detection and typing of foodborne microorganisms. *Journal of food Microbiol.* 50: 119-130.
- **De Buyser L., Hennekinne A, 2009** : Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments, *Staphylococcus aureus* et enterotoxines staphylococciques. *Afssa*.
- **Decade C., Marty L., Demontrond D., Manuel C., Cabrit R., Mann G, 2005**: Gestion du risque infectieux d’origine alimentaire dans les unités de soins. XVI Eme Congres National de la Sfh. Reims.
- **Delarras C, 2007** : Microbiologie pratique pour laboratoire d’analyses ou de contrôle sanitaire. La Voisier. Paris.376p - 377p.
- **Delaunay J, 2011** : Les règles d’hygiène en restauration. Chambre de commerce et d’industrie d’Alençon.
- **Dellaras C, 2007** : Microbiologie pratique pour le laboratoire d’analyses ou de contrôle sanitaire. Lavoisier Tec et Doc. Paris. PP 476.
- **Delmas G., Gallay A., Espie A., Haeghebaert S., Pihier N., Weill F., De Valk H., Vaillant V., Desenclos J, 2006** : Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 1996 et 2005. BEN 51- 52 418-422.
- **Dennaï N., Kharrati B., El Yachioui M, 2001**: Appréciation de la qualité microbiologique des carcasses de bovins fraîchement abattus. *Médecine Vétérinaire*, 145, 270-274.

- **Diabate V, 1991** : Contribution à l'étude de l'hygiène de la Restauration Collective en Côte d'Ivoire cas du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Cocody d'Abidjan, thèse de Médecine Vétérinaire. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, N° 05.
- **Dinges M., Orwin P, & Schlievert P, 2000**: Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev.* 13:16–34.
- **Diouf F, 1992** : Contribution à l'étude de la qualité hygiénique des aliments vendus sur la voie publique (AVP) dans la région de Dakar. Université Cheikh Anta Diop – Dakar.
- **Drieux H, 1978** : Aspects hygiénique de la production et de la transformation des aliments d'origine animale. R.T.V.A, N° 133 : 29 - 36.
- **Efsa, 2005**: Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp in foodstuffs. *The Efsa Journal*, n°175, p1-48.
- **Ewen C., Todd D, 1985**: Economic loss from foodborne disease outbreaks associated with food service establishments, *Journal Food Prot*, 48(2): 169-180.
- **Farber J. & Peterkin P, 2000**: *Listeria monocytogenes*, the microbiological safety and quality of food, Vol. 2. Aspen Publishers, Gaithersburg, MD, pp. 1178–1232.
- **Farmer J., Asbury M., Hickman F., Brenner J, 1980**: *Enterobacter sakazakii*: A new species of “*Enterobacteriaceae*” isolated from clinical specimens. *International Journal of Systematic Bacteriology*, p 569-584 Vol. 30, N°3.
- **Ferreira M, 2006** : Restauration d'entreprise, Aide-mémoire juridique. L'Institut national de recherche et de sécurité Paris.
- **France, République Arrêté ministériel du 26 Juin 1974** relatif à la réglementation des conditions d'hygiène relatives préparation, la conservation, la distribution vente des plats cuisinés à l'avance. Journal officiel de la République Française. Paris, 16 Juillet 1974.
- **Garcia S & Heredia N, 2009**: Microbiologically safe foods, foodborne pathogens and toxins: An Overview. John Wiley & Sons, p15-36p.
- **Gartner F., Durrèche P, 2001** : La nécessité d'interdire l'utilisation à des fins privées des cuisines centrales concédées ou affermées dans le cadre des délégations de service public de restauration passées par les communes. Syndicat National des Entreprises Régionales de Restauration Sociale, 38 p.
- **Gérin M., Gosselin P., Cordier S, 2003**: Environnement et santé publique. Fondements et pratiques. Éditions Tec & Doc, edisem, 1023p.

- **Ghezzi, S, 2011**: Analyzing Food Safety Cultures: A means to improve food safety in the catering sector. A thesis submitted to the graduate faculty of auburn university in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science. Auburn, Alabama.
- **Godefroy M, 1985**, Guide professionnel de la restauration. *Jacques Lanore*, 1- 457.
- **Gontier A, 2009** : La qualité micro biologique en restauration collective, le portage à domicile. Licence professionnelle hôtellerie tourisme. Université de Toulouse le Mirail
- **Goussault B, 1983** : Importance et rôle du contrôle microbiologique dans la restauration collective. *Informations Techniques des Services Vétérinaires*, Paris, 447p.
- **Goussault B, 1983** : Importance et rôle du contrôle microbiologique dans la restauration collective, la restauration. Paris : Informations techniques des services vétérinaires.
- **Guide des bonnes pratiques d'hygiene en restauration collective à caractère social, 1999**: U.P.R.M.
- **Guiraud J, 2000** : microbiologie alimentaire. Ed dunot, paris.
- **Haeghebaert S., Le querrec F., Gallay A., Bouvet P., Gomez M., Vaillant V, 2002** : Les toxi-infections alimentaires en France en 1999 et 2000. *B.E.H*, 23 : 105-109
- **Haeghebaert S., Sulem P., Deroudille L., Bagnis O., Vanneroy-Adenot E., Pouvet P., Grimont F., Brisabois A., Le Querrec F., Hervy C., Espie E., De Valk H., Vaillant V, 2002** : Deux épidémies de salmonellose à *Salmonella enteridis* en 2001. *Bulletin Epidémiologique*, n°5, p. 1-2.
- **Hance P., Teyssou R., Nicand E., Buisson Y, 1998** : Sources alimentaires des diarrhées bactériennes. *Toxi-infections alimentaires collectives. Médecine thérapeutique / Pédiatrie*. Volume 1, N°1, 25-30.
- **Hobbs B, 1974**: Food poisoning and food hygiene. 3° edition, London.
- **Hygis, V, 1988** : Hygiène hospitalière, manuel de lutte contre l'infection nosocomiale. Ed. C & R La Madeleine, p 411.
- **Ilboudo A., Savadogo A., Barro N., Ouedraogo M., Traore A, 2009**: Qualité hygiénique de la viande utilisée en restauration collective dans trois restaurants universitaires d' Ouagadougou (Burkina Faso). *Cahiers Santé* vol. 19, n° 4.

- **Inal T, 1992:** Bensin hijyeni (Hayvansal Gidalarda Saghk Kontrolu) (food hygiene Health inspection of food Obtained from Animals). *Final Ofset*, Istanbul.
- **INNORPI, 1988 :** Norme Tunisienne relative aux spécifications microbiologiques interprétation des résultats d'analyses. NT 16.39.
- **Institut National de Santé Publique (INSP), 2009 :** Situation épidémiologique de l'année 2009 sur la base des cas déclarés à L' I .N.S.P, R.E.M. Vol XVIII, N° 5.
- **Institut pasteur, 1999 :** Guide pratique d'analyse microbiologique des denrées alimentaires.
- **Isoard, P. 1988 :** Guide de la biocontamination. 1ère ed. Lavoisier, Paris.
- **Jay J, 1992:** Modern food microbiology. Van nostrand reinhold compagny, New York.
- **Journal Officiel de la République Française, 1974 :** Hygiène alimentaire dans les établissements publics scolaires et universitaires. Mesures de prophylaxie, n° 1411, 38P.
- **Journal officiel de la République Française, Arrêté du 21 Décembre 1979,** Échantillon pour laboratoire et technique de prise d'essai publié le 19 Janvier 1980.
- **Jund A, 2010 :** Mise en place du Plan de Maîtrise Sanitaire sur l'UCP du Grand Sauvoy, mémoire de Master Microbiologie. Université Henri Poincaré Nancy 1.
- **Kateete D., Kimani C., Katabazi F., Okeng A., Okee M., Nanteza A., Joloba M., Najjuka F., 2010:** Identification of *Staphylococcus aureus*, DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9:23.
- **Kérouanton A., Hennekinne J., Letertre C, 2007:** Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. *International Journal of Food Microbiology*, 115, 369–375.
- **Khodja M, 2012:** Hygiène et qualité au menu. la dépêche de kabyle le *journal des hommes libres*.
- **Kruy S., Soares J., Ping S., Flye Sainte-Marie F., 2001:** Qualité microbiologique de l'aliment "glace, crème glacée, sorbet" vendu dans les rues de la ville de Phnom Penh. *Bull Soc Pathol Exot*, 94, 5, 411-414.
- **Labbé R, 2000:** *Clostridium perfringens*, the microbiological safety and quality of food. Aspen Publishers. Gaithersburg. MD, pp. 1110– 1135.
- **Lailler R, 2006 :** Fiche de description de danger transmissible par les aliments, *Listeria monocytogenes*. Afssa.

- **Layrat V, et Vierling E, 1996** Microbiologie et Toxicologie des aliments. DOIN, Paris France. Alfort, 99.
- **Lebreton V, Simon L, Lestreit J, May I, 1998**: Assurance qualité des préparations stériles, évaluation des techniques de prélèvements microbiologiques sur des surfaces. *Journal de Pharmacie Clinique*, 17, 4, 227-31.
- **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 Veterinaire d'alfort.
- **Legnani P., Leoni E., Berveglieri M., Mirolo G., Alvaro N, 2004**: Hygienic control of mass catering establishments, microbiological monitoring of food and equipment. *Food Control*, 15; 205–211.
- **Leroy S., Lebert I., Chacornac J., Chevallier I., Talon R, 2001** : Saucissons secs fermiers du Massif central. Identification et caractérisation de la flore d'intérêt technologique : bactéries lactiques et staphylocoques à coagulase négative. *Viandes Prod. Carnés Vol 25 (5)*.
- **Leveau J, Larpent J, Bouix M, 2010** : Sécurité microbiologique des procédés alimentaires, Techniques de l'Ingénieur, traité Agroalimentaire. F 1 120 – 1.
- **Lopez E., Contrini M., Sanz M, 1997**: Perspectives on Shiga-like toxin infections in Argentina. *Journal of Food Protection* **60**, 1458–1462.
- **Loury P., Guillois-Becel Y., Le Mao A., Briand A., Le Hello S., Jourdan-Da Silva N., Vaillant V, 2009** : Cas groupé de salmonellose à *Salmonella enterica* sérotype Putten. Nord-ouest de la France, juillet-août 2008. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire, n°30, p.329-331.
- **Lund B., Peck M, 2001**: *Clostridium botulinum. Guide to Food-borne Pathogens*. Wiley. New York, p69–p85.
- **Malvy D., Djossou F., Le Bras M, 1996** : Les toxi-infections alimentaires collectives aspects cliniques et épidémiologiques.
- **Mcswane D., Rue N., Linton, R. 2000**. Essentials of food safety and sanitation. New Jersey: Prentice Hall Inc.
- **Merouze R, Tondusson O, 1997** : Bonnes pratiques d'hygiène et plans de nettoyage des outils de maîtrise des risques. Ed. BPI, 160p.
- **Namkoisse E, 1990** : Hygiène de la restauration collective au centre des œuvres universitaires de Dakar (COUD) ; cas du nouveau restaurant dit "ARGENTIN" ou de 3000 places, thèse de Médecine Vétérinaire. Dakar, N° 17.

- **NCFA, 1987:** Total number of microbes, determination with the swab method or contact plate method on utensils in contact with food. Method N° 5. Nordic Committee on Food Analysis, Espoo. Finland
- **Ndiaye A, 1992:** étude de l'hygiène de la restauration collective au centre régional des œuvres universitaires. Université Cheikh Anta Diop DAKAR, N°28.
- **Nguyen-The C, 2009 :** Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments : *Bacillus cereus*. Afssa.
- **Niangaly A., Diarra S., Coulibaly D., N'Diaye S, 2006 :** Etude des toxi-infections alimentaires collectives en république du mali ministère de la sante mali.
- **Ostyn L., De Buyser M., Guillier F., Groult J., Salah S., Delmas G., Hennekinne J., 2010 :** Première preuve d'une épidémie due à une intoxication alimentaire à Staphylocoques type entérotoxine E. France, 2009. *Eurosurveillance*. Volume 15, n°13.
- **Panisset J., Dewailly E., Doucet-Leduc H, 2003:** Contamination alimentaire, edisem Tec & doc. ction Vale Paris.
- **Pascal D., Françoise P., Renée R, 2009 :** Lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire, bibliothèque nationale du Canada ISBN 978-2-550-56811-7.
- **Poullis J., de Pijper M., Mossel D., Dekkers P, 1993:** Assessment of cleaning and disinfection in the food industry with the rapid ATP-bioluminescens technique combined with the tissue fluid contamination test and a conventional microbiological method. *Journal of Food Microbiol.* 20: 109-116.
- **Poumeyrol M., Popoff M, 2006 :** Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments : *Clostridium perfringens*. Afssa.
- **Rahkio T., Korkeala H, 1997:** Use of Hygicult- tpc in slaughterhouse hygiene control. *Acta vet. scand.* 38: 331-338.
- **Raquel M., Jayme L., Kipnis A., Pimenta F., Serafini A, 2008:** Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following small digestion. *Food Control* 19; 200–207.
- **Reynolds A., Harrison M., Rose-Morrow R., Lyon C, 2001:** Validation of Dry Cured Ham Process for Control of Pathogens. *Journal of Food Science* vol 66; N° 9.
- **Robert N., Joseph D., Hounhouigan T, 2003 :** les aliments, transformation, conservation et qualité. *Bckhuys Publishers Gmb.* ISBN 90-5782-124-9.

- **Rosset R., Beaufort A, 1983** : Des cuisines 4 étoiles. Programmation, conception et réalisation des locaux de cuisine collective. Paris: LT.S.V: 167-118.
- **Rosset R., Lebert F., Bouvier N, 1983** : L'analyse microbiologique interprétation des résultats. Informations techniques des services vétérinaires Paris.
- **Rosset R., Lebert F., Poumeyrol G., Morelli E, 1983** : Aptitude au nettoyage des matériels utilisés en restauration collective. I.T.S.V, 235 - 239.
- **Roudaut H., Lefrancq E, 2005** : Alimentation théorique. Wolters Kluwer France, 1629-7954 séries science des aliments, 283p.
- **Rozier J, 1986** : Qualité hygiénique des aliments. R.T.V.A, (214):7- 12p
- **Rozier J., Carlier V., Bolnot F, 1980** : Plats cuisinés et l'avance R.T.V.A, 6p.
- **Rozier J., Carlier V., Bolnot F, 1985** : Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments, S.E.P.A.L.C. École Nationale Vétérinaire d'alfort, 230P.
- **Seydi M., Syllak S., Musabyemyemarya B, 2004** : Niveau de contamination bactérienne des cuisses de poulets congelés importés au Sénégal. Revue. RASPA, 2 (3-4) : 24 1-244
- **Shapiro R., Hatheway C., Swerdlow D, 1998**: Botulism in the United States: a clinical and epidemiologic review. *Annals of Internal Medicine* 129, 221–227.
- **Sharma S., Whiting R, 2005**: Methods for detection of *Clostridium botulinum* toxin in foods. *Journal Food Prot.* 68:1256–1263.
- **Silue N, 2005** : Thermorésistance de trois serotypes de *salmonella* dans l'œuf et les gésiers de poulets. Mémoire DEA Biotechnologies Université Cocody d'Abidjan.
- **Sommar B, 1992** : Etude de l'hygiène de la restauration collective dans l'armée sénégalaise, thèse de médecine vétérinaire. Université cheikh Anta Diop Dakar.
- **Stephan S, 2007** : Contribution a l'étude de la qualité bactériologique des aliments vendus sur la voie publique de dakar. Université Cheikh Anta Diop De Dakar.
- **Stewart G, 1997**: Challenging food microbiology from a molecular perspective. *Microbiology.* 143: 2099-2108.
- **Sylla K, 2000** : Contribution à l'étude comparée des conditions de réception, stockage et préparation des denrées alimentaires d'origine animale en restauration collective : cas particulier des restaurants du centre des œuvres universitaires de Dakar (COUD), Sénégal. Thèse Médecine Vétérinaire. Dakar ; 2.
- **Sylla K., Seydi M, 2003** : Etude de la qualité hygiénique du poisson utilisé en restauration collective universitaire à Dakar (Sénégal). *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales, RASPA Vol.1 NO 1,*

- **Tebbutt G 1991**: An assessment of cleaning and sampling methods for food-contact surfaces in premises preparing and selling high-risk foods. *Epidemiol. Infect.* 106: 319-327.
- **Udgiri RS et Masali K, 2007** : A Study on the Health Status of Food Handlers Employed in Food Establishments in Bijapur City. *Indian Journal of Community Medicine*, Vol. 32, Issue 2.
- **Vallerian S 1999**. Contribution à l'étude de la maîtrise de la qualité hygiénique dans la restauration rapide. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse.
- **Vanne L., Karkowski M., Karppinen S and Sjöberg A 1996**: HACCP-based food quality control and rapid detection methods for microorganisms. *Food Control* 7: 263-276.
- **Yasuda T 2010**: Food safety regulation in the United States: An empirical and theoretical examination. In *Independent Review*, vol. 15, p. 201-226.
- **Yazgi H, 2002**: KIA ve Triptofanli Buyyon Besiyerindeki Biyokimyasal Ozelliklerine Gore Enterik Bakterilerin Tanmlanmasnda Klasik Yontemlerin Modifikasyonu, *Turk Mikrobiyol Cem Derg* 32: 260-264.
- **Zeru K., Kumie A, 2007** : The sanitary conditions of food establishments in Mekelle Town, Tigray, North Ethiopia. *Ethiop journal Health Dev* ;21(1)
- **Zottola E., Sasahara K, 1994**: Microbial biofilms in the food processing industry - Should they be a concern? *Int. Journal Food Microbiol*, 23: 125-148.

## Annexe 1

**Milieu VRBL (Violet Red Bile Lactose)****Composition:**

Peptone de viande .....	7g
Extrait de levure .....	3g
Lactose .....	10g
Sels biliaires .....	2g
Chlorure de sodium .....	5g
Cristal violet .....	0.002g
Rouge neutre .....	0.03g
Agar .....	18g
Eau distillée .....	1000 ml
pH = 7.3	

**Préparation :**

Dissoudre 45g de la composition précédente dans un litre d'eau distillée; répartir dans des flacons de 225ml; autoclaver 15min à 121°C.

**Gélose Mueller-Hinton**

La gélose Mueller-Hinton est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard

**Composition**

Infusion de viande de bœuf.....	300,0 ml
Peptone de caséine.....	17,5 g
Amidon de maïs.....	1,5g
Agar.....	17,0 g
pH = 7,4	

**Preparation**

38 g par litre. Stérilisation à l'autoclave. Pour préparer ce milieu il faut peser 38g de poudre et la mélanger dans 1L d'eau. Il faut homogénéiser puis chauffer en agitant. Il faut porter à

ébullition pendant environ une minute. Ensuite il faut stériliser la gélose à l'autoclave durant 15 minutes à 116°C.

### **Salmonella-Shigella (Gélose SS)**

Isolement des Salmonella et des Shigella mais aussi des Pseudomonas ou des Yersinia enterocolitica.

#### **Composition**

Peptone:.....	5,0 g
Extrait de viande.....	5,0 g
Lactose.....	10,0 g
Citrate de sodium.....	10,0 g
Citrate de fer III.....	1,0 g
Sels biliaires.....	8,5 g
Vert brillant.....	3,3 mg
Rouge neuter.....	25 mg
Thiosulfate de sodium.....	8,5 g
Agar.....	12,0 g

pH = 7,3

#### **Préparation**

63 g de poudre dissous par ébullition.

Se reporter à la notice en raison de variations de la composition (Formule moins inhibitrice des Shigella à 5,5 g de sels biliaires par exemple).

Ne pas autoclaver.

**Triple sugar iron**

Milieu utilisé pour l'identification des entérobactéries. Il permet de voir si la bactérie est capable de réduire le sulfate.

**Composant**

Peptones de caséine.....	15g
Peptones de viande.....	5g
Extraits de viande.....	3g
Peptones de levure.....	3g
NaCl.....	5g
Lactose.....	10g
Saccharose.....	10g
Glucose.....	1g
Citrate ammoniacal de Fer (III).....	0,5g
Thiosulfate de sodium.....	0,5g
Rouge de phénol.....	0,024g
Agar.....	12g

**Citrate de Simmons****Composition**

Citrate de sodium.....	1,0 g
Bleu de bromothymol.....	0,08 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Sulfate de magnésium.....	0,2 g
Hydrogénophosphate de potassium.....	1,0 g
Dihydrogénophosphate d'ammonium.....	1,0 g
Agar-agar.....	15,0 g
pH = 7,1	

**Préparation**

23 g par litre. Stérilisation classique par autoclavage. Conditionnement en tubes inclinés.

**Gélose Chapman**

Il est utilisé pour l'isolement des *Staphylococcus*.

**Composition**

Peptone :.....	10,0 g
Extrait de viande de bœuf :.....	1,0 g
Chlorure de sodium :.....	75,0 g
Mannitol :.....	10,0 g
Rouge de phénol :.....	0,025 g
Agar-Agar :.....	15,0 g

Eau distillée : ..... 1 Litre  
 $pH = 7,4$

### **Préparation**

111 g par litre de milieu Autoclavage classique.

### **Bouillon cœur-cervelle**

Milieu polyvalent riche utilisé pour la coagulase et la DNase des *Staphylococcus*. Il peut aussi servir dans la recherche de *streptococcus* résistant *enterococcus* dans la galerie de sherman.

### **Composition**

Protéose-peptone ..... 10,0 g  
 Infusion de cervelle de veau ..... 12,5 g  
 Infusion de cœur de bœuf ..... 5,0 g  
 Glucose ..... 2,0 g  
 Chlorure de sodium ..... 5,0 g  
 Hydrogénophosphate de sodium ..... 2,5 g  
 $pH = 7,4$

### **Préparation**

37 g par litre. Stérilisation classique.

### **Bouillon nutritif**

### **Composition**

Tryptone ..... 10,0 g  
 Extrait de viande ..... 5,0 g  
 Chlorure de sodium ..... 5,0 g  
 Eau distillée : ..... 1 Litre

$pH$  du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,2 \pm 0,2$ .

### **Préparation**

Mettre en solution 20,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

## Annexe 2

Selon l'arrêté interministériel du 24 Janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23 Juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.

PRODUITS	N	C	M
<b>1. Plats cuisinés à l'avance à base de viandes et de poissons :</b>			
- Germes aérobies à 30°	5	2	3.10 <sup>5</sup>
- Coliformes	5	2	10 <sup>3</sup>
- Coliformes fécaux	5	2	10
- <i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	10 <sup>2</sup>
- Clostridium sulfito-réducteurs à 46°C	5	0	30
- <i>Salmonella</i> .	5	0	absence
<b>2. Plats cuisinés à base de légumes produits végétaux crus en saucés :</b>			
- <i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	10 <sup>2</sup>
- <i>Salmonella</i> .	5	0	absence

**Photos du matériel de laboratoire utilisé pour les expérimentations.**



*Bec bunsen*



*Balance de précision*



*Broyeur*



*Bain-marie*



*Incubateurs*



*Sachets Stomacher*

## Résumé

Dans la restauration collective universitaire en particulier, les grandes quantités de denrées préparées quotidiennement font que les règles élémentaires d'hygiène sont souvent négligées. Ceci est particulièrement vrai dans nos pays où la main d'œuvre a souvent un faible niveau de formation. L'étude de la qualité sanitaire de ces restaurants collectifs permettra d'évaluer sa qualité hygiénique.

Dans le but de d'analyser la qualité bactériologique des denrées alimentaires dans les restaurants universitaires, nous avons étudié 77 échantillons qui ont été prélevés tout le long de la chaîne alimentaire sur quatre sites de restauration universitaire ( Université de Taleb Mourad Salim « IGMO », Es-Senia, cité universitaire de jeunes filles 30<sup>ème</sup> anniversaire de la révolution et Belgaid « I, II, III ») (les prélèvements de denrées alimentaires, de surfaces, d'équipements – matériels, et de mains). Nos objectifs ont consisté à déterminer l'évolution de la qualité hygiénique et microbiologique des denrées alimentaires et des plats finis servis aux étudiants et identifier les différents germes en cause (flore aérobie mésophile, coliformes totaux et fécaux, anaérobies sulfito-réducteurs, *Staphylocoques aureus* et *Salmonella*). Les résultats ont été interprétés suivant les normes et les critères algériens légaux.

Nous avons mis en évidence la présence de 34 souches de genre *Staphylococcus* et 34 souches des entérobactéries regroupant principalement les espèces de *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *E.coli*, *Proteus vulgaris* *Morganella morganii* parmi les entérobactéries, et les espèces de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus xylosum* parmi les *staphylococcus*.

## Mots-clés:

*Restauration Collective; Analyse Bactériologique; Qualité Hygiénique; Microbiologie; Denrées Alimentaires; Restauration Universitaire; Oran; Altération; Bactérie; Toxi-infection Alimentaires Collectives.*