

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologique

Option : Microbiologie appliquée

Département : Ecologie et Génie de l'Environnement

Thème

Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de la pâtisserie (cas de la wilaya de Guelma)

Présenté par :

- AOUAM ISLEM

Devant le jury :

Présidente	Dr. BENBELKACEM.S	M.A.A	Université de Guelma
Examinatrice	Dr. YALLES.A	M.C.A	Université de Guelma
Encadrante	Dr. HADDIDI Imane	M.C.B	Université de Guelma
Co-encadrante	Dr. MALEK.I	M.C.B	Université de Guelma

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH, le Tout puissant, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je remercie particulièrement les membres de jury qui ont bien voulu consacrer une partie de leur temps à juger ce travail :

*Mes sincères remerciements vont à **Mme. Benbelkacem S**, Docteur à l'Université de Guelma, pour avoir accepté de présider le jury de soutenance.*

*Je remercie également. **Mme. YALLES A.**, Docteur à l'Université de Guelma, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Je tiens à remercier mes promotrices et directrices de mémoire **Dr. HADIDI I.** et **Dr. MALEK I.** de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.*

*Grand merci à **Mme. GHRAIB N.**, employée administrative et pédagogique à l'université de Guelma qui m'a encouragé et aidé à rester motivé et surmonter les obstacles durant mon parcours académique.*

Merci beaucoup à mes chers parents, ma famille et mes amis, qui ont toujours été là, pour leurs amours, leurs conseils et pour leur soutien moral inconditionnel.

Dédicaces

Le devoir de reconnaissance m'oblige de dédier ce modeste mémoire à tous ceux qui me sont chers, ce sont ceux à qui je dois mon succès.

*À ma merveilleuse mère **Razika** aucun mot ne saurait exprimer la profondeur de l'amour et l'affection que je ressens pour toi. Tu es bien plus qu'une mère, tu es mon générosité et mon exemple de dévouement. Ta tendresse infinie est une source inépuisable de réconfort, et je te suis infiniment reconnaissant pour chaque instant où tu as été là pour moi, sans jamais faillir. Merci pour ta présence rassurante et pour tous ces instants où ton amour inconditionnel a été ma plus grande force.*

*À mon cher père **Saïd** chaque mot semble bien fade pour exprimer l'amour profond et la gratitude infinie que j'ai pour toi, pour les innombrables sacrifices que tu as consentis pour mon éducation. Tu as été bien plus qu'un guide, tu as été mon modèle d'honnêteté, de sérieux et de responsabilité. Ta présence incarne pour moi la quintessence de la persévérance, de la créativité et du dévouement sans bornes.*

*À ma deuxième maman ma tante **Fella** et son mari **Nour Eddine**. Vous êtes plus que des parents pour moi tout au long de ma vie. Vos encouragements, votre soutien et votre présence constante ont été une source de motivation inestimable pour moi. J'ai toujours pu compter sur vous, dans les bons comme dans les mauvais moments.*

*À ma douce sœur **Selma**, ma lumière et ma douceur, ta présence est un précieux cadeau qui inonde ma vie de joie et de tendresse, tes sourires étincelants illuminent le foyer et ton innocence m'apprend chaque jour la beauté de la simplicité et la pureté de l'amour. Que tu sois toujours entourée de bonheur et de sérénité, ma chère Selma car je t'aime au-delà des mots je suis infiniment reconnaissant de t'avoir comme sœur.*

*À mon petit frère **Zaki**, tu as toujours été là pour moi ; pour me soutenir, me consoler et me faire rire. J'ai tellement de chance de t'avoir comme frère.*

***Achachra Amjed** grâce à votre aide, j'ai pu rédiger un mémoire de fin d'études dont je suis fier et j'ai franchi une étape importante dans ma vie universitaire. Je ne peux pas exprimer toute ma gratitude, mais j'espère que vous avez je n'oublierai jamais votre gentillesse.*

*À mon plus cher ami **Ammar** avec toi, j'ai connu le sens de la vraie amitié celle qui dépasse les limites du temps et de l'espace, tu n'es pas qu'un ami, tu es mon frère et compagnon de route ; avec tout mon amour et ma reconnaissance.*

*Grâce à vous **Zaki LS, Zineddine S, Zineddine D, Moussa, Idriss, Aymen**, j'ai appris la valeur de l'amitié, de la loyauté et du partage. Chaque moment passé avec vous est un trésor dont je vous suis reconnaissant.*

*À tous ceux qui sont proches de mon cœur et qui m'encouragent et me soutiennent pour donner le meilleur de moi-même mes grands-pères, mes grandes mères, ma cousine **Warda**, mes tantes et mes oncles.*

*Grâce à vous **Salim, houssam, fateh**. Je suis ravi de vous adresser mes sincères remerciements pour l'aide précieuse que vous m'avez apportée lors de la rédaction de mon mémoire de fin d'étude.*

*Grande remerciement au service de la direction de sante et population le chef service **Djeradi A, Aboude J, Boumaaza R, Soudani S**, grâce à votre aide j'ai pu réaliser mon travail pratique de mon projet de fin d'étude.*

*Grande remerciement à **Adili A** l'ingénieur de laboratoire de l'université 08 Guelma 1945.*

Islem

The background features a repeating pattern of graduation caps (mortarboards) and staves (dissertations) tied with red ribbons. The caps are grey with black tassels, and the staves are light brown with red ribbons. The pattern is set against a light, textured background.

Résumé

La présente étude vise à évaluer la qualité microbiologique des produits pâtisseries fabriqués dans la wilaya de Guelma. Ces derniers offrent un environnement favorable à la croissance de nombreux germes et constituent une cause fréquente d'intoxications alimentaires. Les analyses microbiologiques et le dénombrement réalisés sur treize échantillons prélevés au hasard dans la région ont révélé que 54 % des produits analysés présentent une qualité insatisfaisante en raison de la présence de la flore mésophile aérobie totale (FMAT). Les coliformes totaux et fécaux sont présents dans 92 % et 69 % des échantillons, respectivement, les rendant impropres à la consommation. Les spores de *Clostridium* sulfito-réducteur ont été détectées dans 15 % des produits, tandis que 62 % sont fortement contaminés par *Staphylococcus aureus* et les streptocoques. Cependant, le genre *Salmonella* était absent dans 84 % des échantillons, ce qui est satisfaisant. En ce qui concerne les levures et moisissures, la charge était variable et élevée.

Mots clés : produit pâtisseries, analyses microbiologiques, qualité microbiologique.

Abstract

The present study aims to assess the microbiological quality of pastry products manufactured in the Guelma province. These products provide a favorable environment for the growth of numerous germs and are a common cause of food poisoning. Microbiological analyses and enumeration conducted on thirteen randomly sampled specimens from the region revealed that 54% of the analyzed products exhibit unsatisfactory quality due to the presence of total aerobic mesophilic flora (FTAM). Total and fecal coliforms are present in 92 % and 69% of the samples, respectively, rendering them unfit for consumption. Clostridium sulfite-reducing spores were detected in 15 % of the products, while 62 % are heavily contaminated with *Staphylococcus aureus* and streptococci. However, the *Salmonella* genus was absent in 84% of the samples, which is satisfactory. Regarding yeasts and molds, the burden was variable and high.

Key words: pastry product, microbiological analysis, microbiological quality.

ملخص

الهدف هو تقييم الجودة الميكروبيولوجية لمنتجات الحلويات المصنعة في ولاية قالمة. هذه الأخيرة تعتبر بيئة مواتية إلى حد كبير لنمو العديد من الجراثيم، كما أنها سبب شائع جدًا لحوادث التسمم الغذائي. كشفت التحليلات الميكروبيولوجية التي تم إجراؤها على ثلاثة عشر عينة مأخوذة عشوائيًا من وسط الولاية، أن 54% من المنتجات التي تم تحليلها ذات جودة غير مرضية بسبب وجود (FMAT) La flore mésophile aérobie total , les coliformes بنوعيتها موجودة في 92% و 69% من العينات، مما يجعلها غير قابلة للاستهلاك، تم اكتشاف أكياس *Clostridium sulfito-réductrice* في 15% من المنتجات و 62% ملوثة بشدة من طرف *staphylococcus et streptococcus* من جهة أخرى *salmonella* غائبًا في 84% من العينات حيث كانت النتيجة مرضية. في المقابل، بالمقارنة مع الفطريات.

الكلمات المفتاحية: الجودة الميكروبيولوجية، التحليلات الميكروبيولوجية، منتجات الحلويات

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
<i>Chapitre I: Synthèse bibliographique</i>	
I. Historique de la pâtisserie	4
II. Définition de la pâtisserie	4
III. Composition des produits pâtisseries	5
IV. Classification des pâtisseries.....	5
IV.1. Pâtisserie artisanale	5
IV.2. Pâtisserie industrielle	5
V. La Qualité et l'hygiène dans le domaine de la pâtisserie	6
V.1. Risque sanitaire en pâtisserie	6
V.1.1. Risques microbiens.....	6
V.1.2. Absence de substances étrangères	6
V.2. Condition d'hygiène applicable dans le secteur de la pâtisserie	7
V.1.1. La qualité de la matière première	7
V.1.2. Le personnel	8
V.1.3. Les locaux.....	8
V.1.4. Les appareils.....	8
V.1.5. La conservation	8
VI. La détérioration des produits pâtisseries.....	9
VII. Altération microbiologique de la qualité des produits pâtisseries	9
VII.1. Microorganismes et altération des aliments	9
VII.2. Les agents responsables à la contamination des produits pâtisseries	9
VII.2.1. La flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	10
VII.2.2. Les coliformes	10

VII.2.3. Les streptocoques.....	11
VII.2.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	11
VII.2.5. Clostridium sulfito-réductrices	12
VII.2.6. <i>Salmonella</i>	12
VII.2.7. Levures et moisissures	13
VIII. Les maladies transmises par les pâtisseries	14
VIII.1. Les maladies infectieuses d'origine alimentaire	14
VIII.2. Les intoxications alimentaires	14
VIII.3. Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC)	15

Chapitre II: Matériel et méthodes

I. Matériel biologique.....	17
I.1. Matériels utilisés	17
I.2. Milieux de culture et réactifs	17
II. Méthodologie.....	18
II.1. Echantillonnage et prélèvement.....	18
II.2. Germes recherchés.....	19
II.3. Préparation de différentes solutions	19
II.3.1. Préparation de la solution mère	19
II.3.2. Préparation des dilutions décimales	19
III. Analyse bactériologique.....	21
III.1. Recherche de la flore mésophile aérobie totale.....	21
III.2. Recherche de coliformes	21
III.3. Recherche des Streptococcus	23
III.4. Recherche des spores des anaérobies sulfito-réductrices (ASR)	24
III.5. Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> à coagulase positive	25
III.6. Recherche de <i>salmonella</i>	27
III.7. Recherche des levures et de moisissures.....	28
IV. Identification	28
IV.1. Coloration de Gram et examen microscopique.....	28
IV.2. Mise en évidence des tests biochimiques.....	29

Chapitre III: Résultats et discussion

I. Résultats et discussion des analyses microbiologiques	33
I.1. Méthode d'interprétation	33

II. Appréciation globale de la qualité microbiologique de la pâtisserie.....	34
II.1. Flore Mésophile Aérobie Totale.....	34
II.2. Coliformes totaux	36
II.3. Coliformes fécaux.....	36
II.4. Streptocoques fécaux.....	37
II.5. Clostridium sulfito-réductrice.....	39
II.6. <i>Staphylococcus aureus</i>	40
II.7. <i>Salmonella</i>	42
II.8. Levure et moisissure.....	45
III. Résultats du dénombrement des microorganismes	47
Conclusion.....	49
Références bibliographiques	50
Annexes.....	50

Liste des figures

Figure 1: Exemple de produits pâtisseries	5
Figure 2: Principales interactions entre aliments, microorganismes et consommateur	15
Figure 3: La préparation de la série des dilutions.	20
Figure 4: Recherche la flore mésophile totale.....	21
Figure 5: Recherche des coliformes thermo-tolérants.	22
Figure 6: Recherche des <i>Streptococcus</i>	24
Figure 7: Recherche des spores des anaérobies sulfito-réductrices (ASR).....	25
Figure 8: Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> à coagulase positive.....	26
Figure 9: Recherche de <i>Salmonella</i>	27
Figure 10: Résultats de recherche de la flore aérobie mésophile.....	34
Figure 11: Le nombre des germes totaux présents dans les échantillons des pâtisseries.....	35
Figure 12: Le nombre des coliformes totaux présents dans les échantillons des pâtisseries. .	36
Figure 13: Le nombre des coliformes fécaux présenté dans les échantillons des pâtisseries. .	37
Figure 14: Résultats de recherche des coliformes fécaux.	37
Figure 15: Le nombre de streptocoques fécaux présents dans les échantillons des pâtisseries.	38
Figure 16: Résultats de recherche des Streptocoques fécaux.....	38
Figure 17: Le nombre des spores présents dans les échantillons des pâtisseries.....	39
Figure 18: Résultats de recherche des spores de <i>Clostridium</i> sulfito réducteur.	39
Figure 19 : Le nombre des staphylocoques présents dans les échantillons des pâtisseries.....	40
Figure 20: Observation microscopique de frotti bactérien après coloration de Gram	41
Figure 21: Résultats de test catalase de la souche sur milieu Chapman.	41
Figure 22: Résultats de test de coagulation de la souche bactérienne sur le milieu de Chapman.	42
Figure 23: Galerie API 20 Staph.....	42
Figure 24: Observation macroscopique des salmonelles sur le milieu Hektoen.....	43
Figure 25: Observation microscopique d'une souche isolée de gélose Hektoen	44
Figure 26: Résultat du test oxydase.	44
Figure 27: Résultat du test TSI.....	45
Figure 28: Galerie API 20 E (souche 5).....	45
Figure 29: Le nombre des levures et moisissures présents dans les échantillons des pâtisseries.	46

Figure 30: Observation macroscopique des levures et moisissures dans la gélose Sabouraud.

.....46

Liste des tableaux

Tableau 1: Microorganismes responsables de contamination, causes et actions correctives .	13
Tableau 2: Les types des produits pâtisseries analysés.	18
Tableau 3: La présence des salmonelles dans les échantillons étudiés.....	42
Tableau 4: Le dénombrement des germes présents dans les différents échantillons.....	47

Liste des abréviations

ASR : Anaérobies sulfito-réducteurs.

A_w : Activité de l'eau

BLBVB : Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillan

CF : coliformes fécaux.

CT : coliformes totaux.

Ech : Echantillon.

EPS : Eau physiologique stérile

FTAM : Flore Totale Aérobie Mésophile

G : germe.

NPP : Nombre le Plus Probable

PCA : Plate Count Agar.

SM : Solution mère.

TSI : Triple-Sugar-Iron.

UFC : Unité Formant Colonies.

VF : Viande fois



Introduction

Introduction

L'alimentation humaine signifie la consommation consciente de nourriture et de boisson elle est influencée par plusieurs facteurs biologiques, relationnels, psychologiques, sensoriels ou socioculturels. On distingue trois grands groupes d'aliments : les aliments protecteurs de la santé, les aliments de croissance et les aliments énergétiques.

Les produits pâtisseries occupent une place importante dans notre alimentation quotidienne en tant qu'aliments nutritifs et énergétiques riches en glucides, lipides et protéines ils sont souvent vulnérables à la prolifération de divers microorganismes et à la propagation d'agents microbiens, qu'ils soient des bactéries ou des levures et moisissures (**Smith et al., 2004**). L'abondance de ces microorganismes sur toutes les surfaces : le sol, l'eau, l'être humain et notamment les aliments est favorisée par des facteurs intrinsèques et des facteurs extrinsèques liés à l'environnement (**Pajohi-Alamoti, 2016**).

La qualité des produits alimentaire et pâtisseries en particulier, peut être affecté pendant toutes les phases de la manipulation, depuis le producteur jusqu'au consommateur final, comme résultats de l'existence des microorganismes, ce qui rend La détection et la limitation de ces derniers une opération d'une grande importance en industrie agroalimentaire.

Il est primordial de bénéficier d'une alimentation saine et nutritive. Le non-respect des normes d'hygiène (locaux, mains, etc.) et de la chaîne du froid, ainsi que le contrôle peu efficace des produits alimentaires, sont des facteurs responsables des cas d'intoxication alimentaire et de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) (**Rosset et al., 2002**).

La surveillance, le contrôle et la détermination de taux de contamination par les microorganismes lors des procédés de fabrication et dans les produits de consommation finaux notamment les produits pâtisseries s'avèrent donc nécessaire pour garantir une offre d'aliments sains, nutritifs et de haute qualité dans l'intérêt de la santé de la population et des bénéfices économiques.

Lors de cette étude, nous nous sommes interrogés sur la qualité microbiologique de certains échantillons de pâtisseries vendus sur la voie publique au niveau de la ville de Guelma.

Par conséquent, nous nous sommes fixés un objectif majeur :

- Evaluation générale de la qualité microbiologique de 13 produits pâtisseries venus de différents locaux ;

Ce manuscrit s'organise autour de trois parties :

- La première partie constitue un état de l'art de notre sujet d'étude. Elle présente une généralité sur le domaine de la pâtisserie et la qualité microbiologique des produits pâtisseries ;
- La deuxième concerne la description des matériels et de la méthodologie utilisée ;
- La troisième est entièrement consacrée par les résultats expérimentaux obtenus, suivie d'une discussion. Enfin, cette étude est clôturée par une conclusion générale.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I. Historique de la pâtisserie

Il est probable que les origines de la pâtisserie remontent au néolithique où l'homme a créé les premiers "gâteaux" composés de la farine, du lait et du miel, qui ont été desséchés sur des pierres chauffées au soleil avant 7000 ans. Chez les Grecs, le premier nom attribué à un gâteau est Obélias, ce qui signifie offrande.

Au 18^{ème} siècle, la crème chantilly et de la meringue ont été apparues et la pâtisserie devenue une partie essentielle dans le domaine de la royauté.

Le 19^{ème} siècle a été considéré comme un nouveau chapitre dans le monde de la pâtisserie grâce à l'invention d'une pâtisserie esthétique dite « ornementale », faite par des grands pâtissiers comme ANTONIN CAREME qui a été parmi les premiers reconnus pour la maîtrise de cet art et le premier à porter l'appellation d'un chef (**Arnaud, 2019**).

Au 20^{ème} siècle, c'était l'intervention du froid et du chaud qui a ouvert de nouvelles perspectives et contribue à l'amélioration de la qualité et de la productivité. Dans cette époque la pâtisserie a devenu l'art des entremets et des plaisirs individuels et plusieurs pâtissiers contemporains ont été apparus, comme GASTON LENOTRE qui a été reconnu pour son style distinctif, créé l'école Lenôtre, développé de nombreuses affaires et obtenu la légion d'honneur.

Actuellement, les chefs pâtissiers sont devenus d'authentiques célébrités. Ils dépassent les limites de la créativité et marquent le domaine de la pâtisserie comme un art international qui s'adapte avec les nouvelles exigences mondiales en respectant les conditions de la santé publique.

II. Définition de la pâtisserie

La pâtisserie désigne l'ensemble des préparations culinaires sucrées ou salées à base d'une pâte comme support, généralement cuite au four. Elle repose normalement sur la préparation, l'élaboration, la fabrication, le service à la consommation (**Neyrat et al., 2006**).

Le dosage et la méthode de travail jouent un rôle très important dans les différents produits finaux de la pâtisserie, ainsi que la qualité des ingrédients primaires tels que la farine, le lait, les œufs... un bon produit pâtissier implique donc une discipline et une précision majeure. Il est à noter qu'elle est un aliment plaisir qui vient après le nécessaire (**Bellec et al., 2009**).



Figure 1: Exemple de produits pâtisseries (photo personnelle).

III. Composition des produits pâtisseries

Les ingrédients utilisés dans la pâtisserie doivent être choisis avec soin, pour évoluer et créer des produits finaux de qualité supérieure, ils se composent principalement de la farine, de sucre, d'œufs, de graisse ou d'huile (**Wilderjans et al., 2013**). Certains produits pâtisseries peuvent aussi contenir d'autres ingrédients tels que la crème, le coca et ses produits, le café, la gelée, les fruits frais et d'autres poudres de noix de coco et grains utilisés dans leur production (**Asadi et al., 2015**).

IV. Classification des pâtisseries

IV.1. Pâtisserie artisanale

Il s'agit de la transformation des matières premières, qu'elles soient végétales, animales ou minérales ; elle est donc une fabrication à partir des ingrédients de base, une fabrication non industrielle et une fabrication effectuée sur le lieu de vente au consommateur final par un artisan qualifié qui manipule des produits primaires de qualité. Les volumes de production artisanale sont limités, mais ils sont visuellement appétissants et intrinsèquement bon, ils illustrent parfaitement le propos qui dit que la qualité a un prix (**Kiger et Kiger, 1968**).

IV.2. Pâtisserie industrielle

Une pâtisserie industrielle concerne les produits pâtisseries faits en grande quantité dans une usine sur une chaîne de production. Ils ne sont pas forcément parfaits mais ils sont souvent pratiques, faciles à manipuler et moins chers que les pâtisseries artisanales. Les ingrédients

utilisés sont généralement des produits standardisés, afin de garantir une production homogène et une durée de conservation prolongée.

La catégorisation de toutes les variétés de pâtisseries commerciales est pratiquement impossible.

Toutefois, en fonction de la consistance de la pâte, il est possible de trouver des produits moussés (comme le gâteau des anges et le gâteau éponge), des produits à pâte liquide (comme les pâtisseries individuelles), des produits à pâte semi-fermée (comme les tartes et tartelettes, les gâteaux aux fruits) et des produits à pâte ferme tels que les feuilletés (**Boudreau et Ménard, 1992**).

V. La Qualité et l'hygiène dans le domaine de la pâtisserie

V.1. Risque sanitaire en pâtisserie

V.1.1. Risques microbiens

La mauvaise qualité hygiénique des produits pâtisseries résulte généralement de la présence d'agents microbiologiques pathogènes (bactéries, virus, moisissures) qui peuvent représenter un danger pour la santé humaine à travers leurs toxines et leurs produits de métabolisme. Les pâtisseries à base de crème chantilly, crème pâtissière, crème au beurre et crème ganache, ainsi que pour les glaces, sont souvent les plus exposées à ces risques microbiens, elles présentent un environnement propice à la croissance de différentes bactéries.

En revanche, il est possible que les tartes et les mousses aux fruits soient contaminés par les levures, les moisissures et la flore lactique. Malgré leur impact visuel et gustatif sur les aliments, ces micro-organismes ne sont généralement pas responsables de maladies graves chez les individus. Cependant, les produits peu riches en eau comme les biscuits, les meringues et les petits fours sucrés ou salés présentent un faible risque microbien. [1]

V.1.2. Absence de substances étrangères

Il est important de s'assurer que les matières premières et les produits livrés secondaires ne contiennent pas de substances étrangères ou des résidus lors du stockage, fabrication, manipulation et emballage. Les dangers sanitaires ont été classés en trois catégories : contamination, expansion et survie.

- **Contamination** : elle est répartie en contamination initiale qui concerne la présence de microorganismes dans les matières premières et les produits livrés, et une contamination secondaire s'agit de l'introduction de micro-organismes lors du stockage, de la fabrication et des manipulations.
- **Multiplication** : la rupture de la chaîne du froid et le refroidissement inefficace représentent un grand risque pour la qualité générale des produits pâtisseries car ils contribuent directement à l'accroissement du nombre de micro-organismes présents dans les produits.
- **Survie** : l'assainissement d'un produit pâtisseries est conditionné par l'équilibre entre le temps et la température lors de la cuisson. La survie des microorganismes et la persistance des corps étrangers dans le produit final sont souvent causées par une cuisson inadéquate, c'est-à-dire si les critères du couple temps/température ne sont pas respectés. [1]

V.2. Condition d'hygiène applicable dans le secteur de la pâtisserie

La qualité d'une pâtisserie est liée à la présentation, l'odeur et le goût. Ces éléments comprennent la qualité nutritive du produit et les soins à apporter en matière d'hygiène lors de sa préparation, ainsi que les mesures de précaution visant à réduire et/ou prévenir les contaminations. Certains aliments ont une protection mécanique naturelle, lorsque cette protection n'est pas présente, on recourt généralement à une enveloppe protectrice artificielle comme les plastiques alimentaires ou l'aluminium.

La qualité hygiénique des produits pâtisseries peut être affectée par plusieurs éléments, tels que :

V.1.1. La qualité de la matière première

La qualité de la matière première a un grand impact sur l'état du produit final, il est donc essentiel de surveiller attentivement de la production, la préparation, le transport jusqu'au stockage, pour éviter toutes types d'altérations causées par les insectes et l'eau contaminée, ou le matériel, les équipements et les locaux non désinfectés correctement (**Haifi, 1992**).

V.1.2. Le personnel

Les pâtisseries jouent un rôle crucial dans l'hygiène de cette entreprise, et dans la qualité microbiologique du produit fini. Cependant, ils peuvent indirectement favoriser la propagation des microorganismes en commettant des erreurs de manipulation et de nettoyage à travers le transfert des germes par le biais de contacts manuels, de vêtements et de chaussures, et de mouvements d'air. Il est donc essentiel que le pâtissier soit vêtu de manière appropriée, se laver les mains avec du savon antiseptique et de l'eau avant de commencer la préparation des gâteaux, éviter les interactions avec la peau en utilisant des gants à usage unique et tenir son matériel propre en évitant les gestes parasites.

En effet, L'uniforme du chef sert à plusieurs fins, il garantit aux clients que le lieu de travail est propre, et les conditions d'hygiène sont prises en considération (**Ndiyae, 1992**).

V.1.3. Les locaux

Les dimensions des espaces de travail et leurs annexes sont conditionnées par le nombre de personnel nécessaire, le matériel employé et la nature de leur utilisation, ils ne doivent pas interagir directement avec les vestiaires et les sanitaires ni avec les animaux domestiques.

Le nettoyage et la désinfection immédiats des locaux sont une opération importante pour limiter les contaminations et la présence des résidus alimentaires, en utilisant les produits et les outils correctes. L'aménagement de ces espaces consiste à établir une distinction entre les parties de réception, de stockage et celles de préparation et de conditionnement du produit fini (**Haifi, 1992**).

V.1.4. Les appareils

Les équipements et le matériel utilisés dans le domaine de la pâtisserie doivent respecter certains critères de forme appropriée, d'aspect lisse non rigoureux et de matière de fabrication solide et résistante, afin d'éviter la formation des biofilms bactériens et la prolifération des microorganismes en général et le risque de corrosion, et de résister aux opérations répétées de nettoyage et de désinfection (**Rocheffrette, 1974**).

V.1.5. La conservation

Elle concerne la conservation de la qualité nutritionnelle et organoleptique des produits pâtisseries de la production à la consommation dans la chaîne de froid ou la chaîne frigorifique,

à travers une succession d'étapes domestiques et logistiques qui permettent la réfrigération de ces produits à une température basse spécifique, fixée par une réglementation stricte.

La rupture de la chaîne de froid et la hausse de la température réduisent la durée de vie de l'aliment et augmentent les possibilités de la croissance des germes strictement pathogènes responsables des toxi-infections et certaines maladies graves telles que la listériose et la salmonellose, en particulier chez les personnes immunodéprimées (**Loncin, 1976**).

VI. La détérioration des produits pâtisseries

La durée de vie d'un produit pâtisseries est liée à des spécifications en termes de sécurité et de salubrité, elle concerne donc l'absence totale de tous signes de détérioration sensorielle dans les conditions prévues de stockage et conservation jusqu'à la consommation (**Gerssifi, 1998**).

Diverses formes d'altération peuvent être observées au niveau des produits détériorés ; les odeurs désagréables et putrides résultent généralement de la dégradation chimique des lipides, aussi les changements physiques observables dans la texture et l'aspect du produit sont dus à la diminution ou l'augmentation de l'humidité, dans ce cas la présence d'agents microbiens va limiter la conservation du produit pâtisseries et donc leur durée de vie (**Smith et al., 2004**).

VII. Altération microbiologique de la qualité des produits pâtisseries

VII.1. Microorganismes et altération des aliments

L'altération des aliments et des produits pâtisseries particulièrement, se manifestent au niveau organoleptique par l'émission de mauvaises odeurs, la modification de l'apparence et le changement de faveur et de texture. Ces opérations sont dues à la décomposition de la matière grasse et les éléments nutritifs par les microorganismes présents dans la matière brute de l'aliment ou proviennent lors de la manipulation ultérieure du produit, à travers le contact avec le matériel, l'eau de lavage non stériles, la peau, les vêtements ou l'air et la poussière (**Ait, 2007**).

VII.2. Les agents responsables de la contamination des produits pâtisseries

Plusieurs facteurs influencent la multiplication des microorganismes présents dans les produits pâtisseries, s'agissent de facteurs intrinsèques liés à l'aliment, comprenant le pH du

produit, ce dernier contrôle le type de micro-organismes dominant; car un ph faible favorise la développement des moisissures, et un ph neutre est parfait pour la dominance bactérienne au cours du processus de putréfaction; l'évolution de germes dépend aussi de la composition de l'aliment et la quantité de l'eau disponible pour les activités biologique .

D'un autre côté, ils existent des facteurs extrinsèques liés à l'environnement de stockage de l'aliment, tels que la température de conservation et l'humidité qui accélère la croissance des bactéries dans le produit alimentaire lorsqu'elle est élevée. Il est à noter que l'augmentation de la température est toujours accompagnée d'une humidité faible.

Les analyses microbiologiques appliquées sur des produits de pâtisseries ont montré que plusieurs microorganismes de diverses espèces sont responsables aux modifications organoleptiques et bactériologiques.

VII.2.1. La flore totale aérobie mésophile (FTAM)

Encore appelée la flore totale ou germes totaux, elle englobe l'ensemble des microorganismes cultivant au présence de l'oxygène, à une température idéale égale à 30°C (**Daube et Ghafir, 2007**). Elle est considérée comme un indicateur technique représentant de la charge microbienne totale d'un aliment, si le nombre de germes dépasse 10^5 microorganismes par gramme, cela indique que les processus de dégradation sont déjà en cours et la détérioration sera généralement visible, cela confirme la présence des problèmes d'hygiène dans les procédés de production (**Salifou et al., 2013**).

VII.2.2. Les Coliformes

- **Coliformes totaux**

Ce groupe englobe différentes espèces appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, se sont des bacilles à Gram négatif aérobie ou anaérobie facultatif, fermentent le lactose en produisant des acides et du CO₂, oxydase négatif et non sporulés. La majorité de genres inclus dans ce groupe, ne sont pas pathogènes sauf certaines souches bactériennes d'*Escherichia coli* et autres espèces bactériennes opportunistes (**Carip et al., 2015**).

Cette flore peut indiquer la qualité microbiologique des aliments, et permet l'appréciation générale de l'état d'hygiène (**Carip, 2008**). Dans certains cas, leur présence dans les produits de consommation indique une contamination fécale suspecte.

- **Coliformes thermo-tolérants**

Les coliformes thermo-tolérants ou les coliformes fécaux, sont connus comme les germes habituels de tube digestif chez l'homme et l'animal, appartenant à la famille des entérobactéries, et caractérisées par la capacité de croissance à une température de 44,5 °C. Leur présence dans l'alimentation désigne certainement une contamination fécale d'origine humaine ou animale (**Theau, 2005**).

Escherichia coli ou colibacille est l'espèce bactérienne la plus associée à ce groupe de germes, elle est décrite comme l'espèce commensale dominante de la flore intestinale aérobie. Cependant, certaines souches sont strictement pathogènes, dont la souche *Escherichia coli* entérohémorragique (O157 : H7) responsable de maladies mortelles. Leur détection rend l'aliment non consommable et indique la possibilité de la présence d'autres microorganismes d'origine digestive (**Carip, 2008**).

VII.2.3. Les Streptocoques

Ils sont des cocci à Gram positif appartenant à la famille des Streptococcaceae, présentant sous forme de cellules sphériques ou ovoïdes de moins de 2 micromètres de diamètre, et connues comme des bactéries exigeantes qui nécessitent habituellement des milieux complexes riches en nombreux facteurs de croissance ; elles peuvent être sous forme de diplocoques, en chaînettes ou tétrades. Elles sont également des anaérobies aéro-tolérantes possèdent la capacité de cultiver dans un milieu oxygéné, dépourvues de catalase, cytochrome et oxydase, et ne réduisent pas le nitrate en nitrite (**Bush et Vazquez-Pertejo, 2023**).

160 espèces de streptocoques et microorganismes apparentés sont inclus dans la famille des Streptococcaceae et rangés dans 20 genres distincts : *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Gemella*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*... Ces bactéries sont présentes dans des habitats divers tels que : les téguments, les muqueuses de l'homme et des animaux où elles vivent à l'état commensal, les denrées alimentaires, et en particulier le lait cru et les fermentations laitières. Elles sont des indicateurs de contaminations fécales, un indice de manipulation non-hygiénique et une cause d'intoxications alimentaires (**Waes, 1973**).

VII.2.4. *Staphylococcus aureus*

Appelée également *Staphylococcus* doré dont la couleur des colonies est fréquemment un jaune orangé, c'est une coque ubiquitaire à coloration de Gram positive, produit des toxines

(entérotoxine, leucocidine et exfoliative hémolysine) et des enzymes à pouvoir invasif, possédant une forte résistance aux agents désinfectants et antiseptiques (**Ballet, 2020**).

Ce genre bactérien peut se développer à la suite d'une infection de la peau, une intoxication alimentaire, un syndrome du choc toxique, une mastite et une endocardite (**Couderc, 2015**).

VII.2.5. *Clostridium* sulfito-réductrices

Elles sont des bactéries anaérobies strictes à Gram positif dont les spores représentent la forme de résistance, possédant des caractéristiques biochimique particulières, notamment la réduction de sulfites du milieu de culture en sulfure d'hydrogène (**Cerf, 1968**).

Les *Clostridium* sont fréquemment rencontrés en hygiène alimentaire, leur présence dans un aliment témoigne d'une contamination fécale ou cutanée. En effet, l'espèce *Clostridium perfringens* peut être la cause d'une forme très sévère d'intoxication alimentaire appelée entérocolite nécrosante, accompagnée de diarrhées sanglantes et des signes d'inflammations aiguës (**Carip et al., 2015**).

VII.2.6. *Salmonella*

Les salmonelles sont des bacilles mésophiles à Gram négatif appartient aux entérobactéries, mobiles péritriches et aéro-anaérobie facultatifs. Elles ont la capacité à se multiplier à une température basse de 5 °C, ce qui implique la pasteurisation et le contrôle efficace de la chaîne de froid. Ainsi, une grande variété de produits alimentaires crus ou peu cuites à base de viande, d'œufs, de lait et de fromage, peut être à l'origine d'une contamination humaine à ce germe. En effet, les salmonelloses causées par le genre *Salmonella* comprennent deux principaux types d'affection : gastro-entérite et fièvres typhoïdes (**Gaüzère, 2023**).

VII.2.7. Levures et moisissures

En général, les levures et les moisissures ne sont pas pathogènes, ils peuvent participer à divers processus de production alimentaire dans le domaine de la boulangerie, les boissons et la maturation et l'affinage des fromages (Valle, 2023). Cependant, leur développement dans les aliments peut affecter la qualité marchande en changeant l'odeur, le goût et la couleur du produit. Certaines moisissures sont capables à élaborer des mycotoxines, cela peut provoquer des intoxications alimentaires si la qualité de toxines diffusée est suffisante (Charouana, 2018).

Tableau 1: Microorganismes responsables de contamination, causes et actions correctives (El Andaloussi, 2013).

Microorganisme	Causes	Actions correctives
Flore aérobie mésophile totale (FMAT)	<ul style="list-style-type: none"> -Insuffisance du plan du nettoyage-désinfection. -Conditions de conservation des aliments (température, durée). -Traitement thermique insuffisant. 	<ul style="list-style-type: none"> -Revoir le plan nettoyage/désinfection -Garantir la maîtrise de la chaîne du froid. -Diminuer la durée de conservation des produits. -Cuisson et refroidissement à adapter et à contrôler.
Coliformes totaux	Idem (FMAT)	Idem (FMAT)
Coliformes fécaux	<ul style="list-style-type: none"> -Hygiène manipulateurs (tenue, mains) -Insuffisance du plan de nettoyage-désinfection 	<ul style="list-style-type: none"> -Rappel des consignes de lavages des mains (sortie toilette, après manipulation contaminant) -Tenue vestimentaire adaptée, propre et complète.
Anaérobies sulfito-réducteurs	<ul style="list-style-type: none"> -Température de conservation 	<ul style="list-style-type: none"> -Refroidissement rapide après cuisson des produits sensibles. -Maintien à +4°C maximum des produits sensibles

<i>Staphylococcus aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Manipulateurs malades (plaies aux mains, bronchite...) -Matière première contaminées (Œufs...) -Porteurs sains -Rupture de la chaine du froid 	<ul style="list-style-type: none"> -Surveillance de l'état de santé et d'hygiène des manipulateurs. -Port de gants et de masques pour les personnes malades. -Hygiène des mains. -Garantir la maîtrise de la chaine de froid.
<i>Salmonella</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Porteurs sains. -Matière première contaminée. -Contamination croisée -Cuisson insuffisante -Température et durée de conservation trop longue (produits à base d'œufs, crèmes...) 	<ul style="list-style-type: none"> -Surveillance de l'état de santé et d'hygiène des manipulateurs -Protection des denrées nues. -Cuisson : température insuffisante. -Température de conservation à +4 °C

VIII. Les maladies transmises par les pâtisseries

VIII.1. Les maladies infectieuses d'origine alimentaire

La présence des cellules microbiennes vivantes dans les aliments consommés est à l'origine des nombreuses infections dangereuses dues à leur multiplication au niveau de tube digestif de consommateur. Elles peuvent être graves voire mortelles, telles que la méningo-encéphalite à *Listeria monocytogenes*, le syndrome hémolytique et urémique causé par *Escherichia coli* producteur de toxine Shiga-like, la brucellose et les infections à *Compylobacter jejuni* (De Valk et al., 2012).

VIII.2. Les intoxications alimentaires

Elles sont souvent le résultat de la consommation des aliments contenant des toxines microbiennes bioactives, ces dernières causent des troubles importants de la digestion accompagnées par des vomissements et des nausées. Ces maladies ne sont en général pas mortelles, mais elles peuvent avoir des graves conséquences sur les personnes affaiblis ayants d'autres problèmes de santé (Dubois-Brissonet et Guillier, 2022).

VIII.3. Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC)

Des maladies fréquentes et parfois graves, résultent de la transmission d'infection à l'homme par les aliments qui contiennent des produits toxiques élaborés au cours de la croissance microbienne. Un foyer de TIAC est défini par l'apparition d'au moins deux cas affectés, et la gravité des cas est estimée à partir d'effectifs de malades hospitalisés qui est 10%, et de taux de mortalité d'environ 0,5 % des malades (Cauteren, 2016).

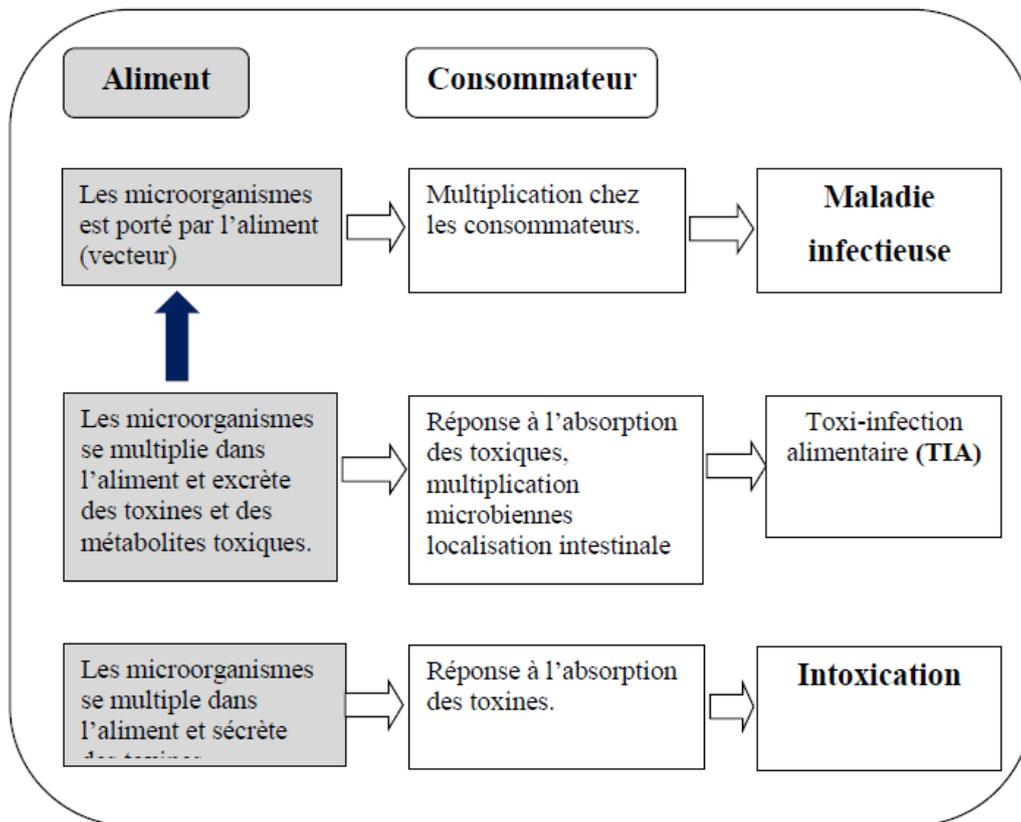


Figure 2: Principales interactions entre aliments, microorganismes et consommateur (Cauteren, 2016).

Chapitre II

Matériel et méthodes

Les travaux expérimentaux de la présente étude ont été réalisés au niveau du laboratoire de la Direction de Santé Public (DSP) – Guelma, sur une période s'étalant du mois de Février au mois d'Avril 2024.

I. Matériel

I.1. Matériels utilisés

- Bec-bunsen.
- Bain marie.
- Balance électronique.
- Broyeur de type stomacher.
- Etuve à différentes températures.
- Pipettes Pasteur.
- Tubes à essai.
- Support tube à essai.
- Boîtes de Pétri.
- Lames et lamelles.
- Microscope optique.

I.2. Milieux de culture et réactifs

- Eau physiologique stérile.
- Eau peptonée tomponée.
- Gélose TSI (Triple Sugar Iron).
- Gélose VF (Viande Foie) + Alun de fer et sulfite de sodium.
- Gélose Sabouraud au gentamycine.
- Milieu Eva Litsky.
- Milieu Rothe.
- Bouillon de Cystine Sélénite.
- Milieu Chapman.
- Milieu Hektoen.
- Milieu PCA (Plate Count Agar).
- Milieu Schubert.
- Milieu BLBVB (bouillon lactosé bilié au vert brillant).

-Plasma de lapin lyophilisé.

-Réactifs de Kovacs.

-Huile de paraffine.

II. Méthodologie

II.1. Echantillonnage et prélèvement

Treize échantillons de pâtisseries ont été choisis pour la présente étude, provenant de différentes pâtisseries du centre-ville de la wilaya de Guelma, prélevés dans la période entre le 22 Février et le 21 Mars (Tableau 2).

Tableau 2: Les types des produits pâtisseries analysés.

Numéro de l'échantillon	Type de pâtisserie
1	Milles feuilles
2	Tartelette aux fraises
3	Castel
4	Pavés cacao
5	Roulet au chocolat
6	Choux rond aux chocolat
7	Gâteaux à la crème
8	Cheese cake
9	Choux rond au citron
10	Castel au chocolat
11	Gâteau aux fraises
12	Gâteau aux citrons
13	Génoise au chocolat

- **Les analyses microbiologiques**

Un ensemble de méthodes incluant de protocoles spécifiques et bien défini comme un moyen d'investigation, consiste à déterminer les taux de contamination par les microorganismes présents dans le produit alimentaire final, lors de procédés de fabrication et conservation, jusqu'à la consommation.

II.2. Germes recherchés

Les analyses microbiologiques effectuées dans cette étude nous permettent de rechercher les germes suivant :

- La flore mésophile aérobie totale (FMAT).
- Les coliformes totaux et fécaux.
- Les *Staphylococcus aureus*.
- Les streptocoques.
- Les microorganismes anaérobies sulfite-réducteurs (ASR).
- Les salmonelles.
- La flore fongique (levures et moisissures).

II.3. Préparation de différentes solutions

II.3.1. Préparation de la solution mère

La prise d'essai s'agit d'un fragment de 25g de produits pâtisseries, porté sur les parties superficielles et profondes, en prenant un peu de tous les composants (généralistes, crèmes, fruits...). Ensuite, il est introduit dans un sachet stérile de type stomacher contenant 225ml de l'eau physiologique stérile, puis broyé et homogénéisé dans un broyeur de type stomacher pendant 2 minutes. La solution résultante est donc la solution mère de dilution 10^{-1} .

II.3.2. Préparation des dilutions décimales

Pour faciliter le démantèlement, des dilutions successives ont été réalisées à partir de la solution mère, en introduisant 1ml de la solution dans un tube à essai contenant 9ml de l'eau peptonée tamponnée. L'opération a été poursuivie jusqu'à l'obtention des dilutions suivantes : 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} .

Après être homogénéisées à l'aide d'un vortex, les solutions résultantes sont prêtes à l'emploi.

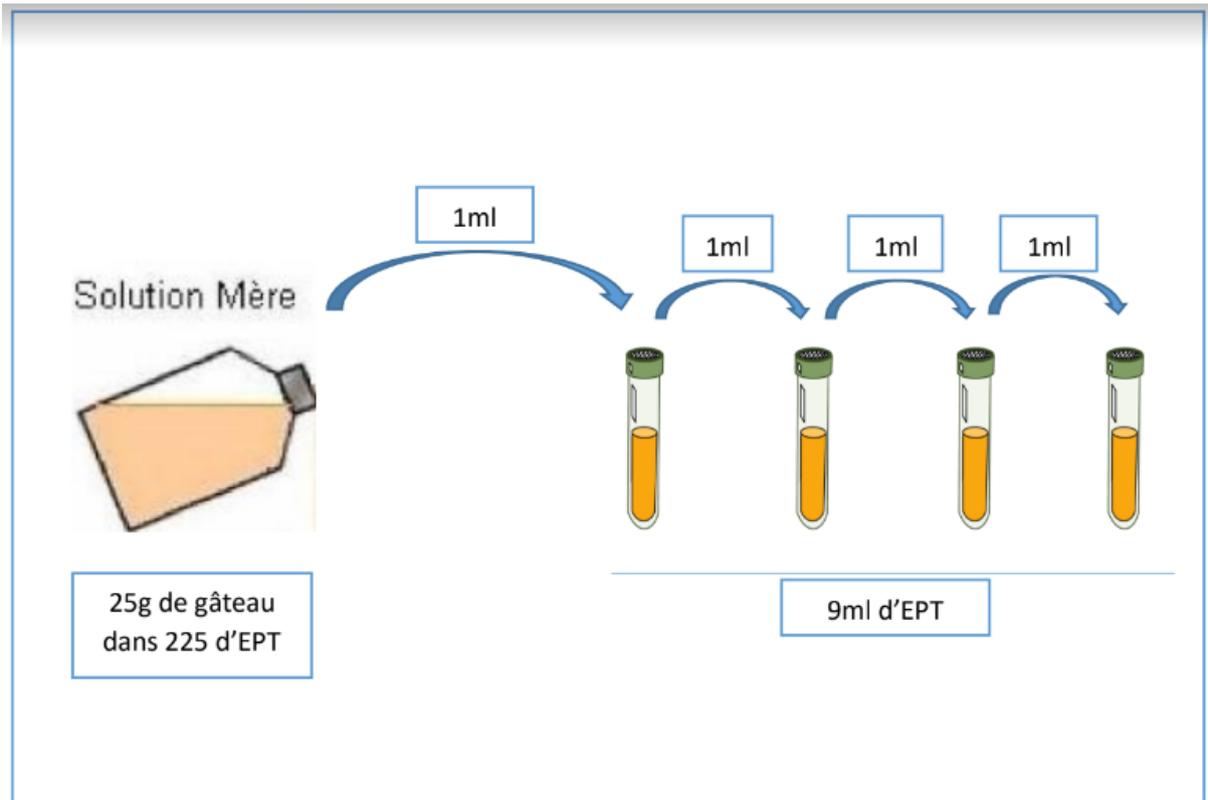


Figure 3: La préparation de la série des dilutions.

III. Analyse bactériologique

III.1. Recherche de la flore mésophile aérobique totale

A l'aide de pipettes pasteur stériles, 1 ml des dilutions décimales récentes a été déposé dans des boîtes de Pétri stériles, contenant de 12 à 15 ml de gélose PCA, et homogénéisés par des mouvements circulaires (**Boudjir et Zehar, 2019**).

Les boîtes seront incubées à 30 °C pendant 72h, dans une étuve.

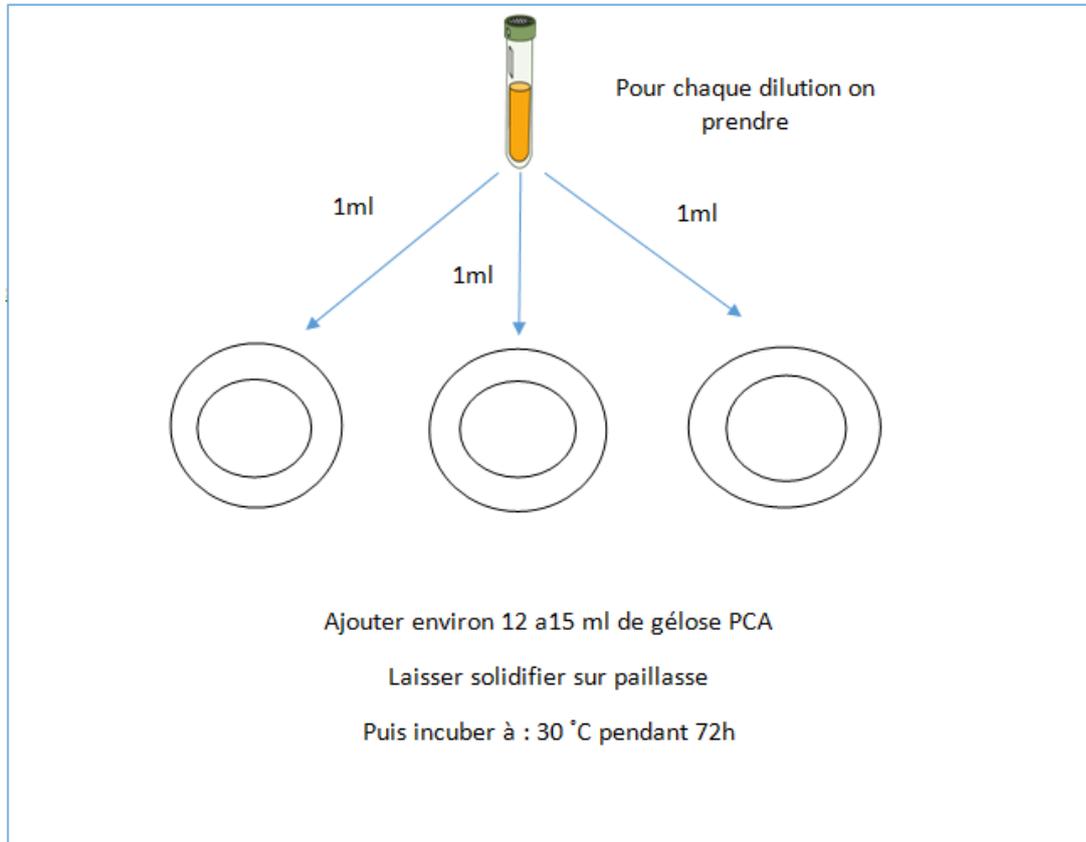


Figure 4: Recherche la flore mésophile totale.

III.2. Recherche de coliformes

Les coliformes appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bactéries Gram négatifs, anaérobies facultatifs vivant notamment dans l'intestin de l'homme et des animaux, ils se caractérisent par leur aptitude à fermenter plus ou moins rapidement le lactose avec production d'acide et de gaz à une température de 37°C pendant 48h. Ils révèlent la probabilité d'une contamination, donc d'une mauvaise qualité hygiénique et même une présomption de la présence des microorganismes pathogènes beaucoup plus dangereux (**Bennacef et Sahed, 2018**).

- **Principe de recherche**

La recherche et le dénombrement des coliformes reposent sur un ensemble des méthodes appelées la colimétrie, ce qui permet de détecter la contamination fécale. Le développement des coliformes totaux acidifie le milieu qui se traduit par un virage de l'indicateur coloré. En outre, une production de gaz apparaît dans les cloches renversées.

- **Mode opératoire**

1. Test de présomption (recherche des coliformes totaux(CT)) :

D'abord, une série de trois tubes contenant le milieu sélectif (BLBVB) doit être préparée. Puis, déposer 1 ml des dilutions décimales récentes (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) dans chacun des 3 tubes ; et noter la présence de gaz éventuellement dans la cloche de Durham.

L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 h.

2. Test de confirmation ou test de Mac Kenzie recherche des coliformes fécaux (CF) :

Pour confirmer la présence des coliformes fécaux, les tubes positifs du test récent feront l'objet d'un repiquage dans un tube de BLBVB muni d'une cloche et un tube d'eau peptonée exempté d'indole.

L'incubation se fait en étuve à 44°C pendant 24 h.

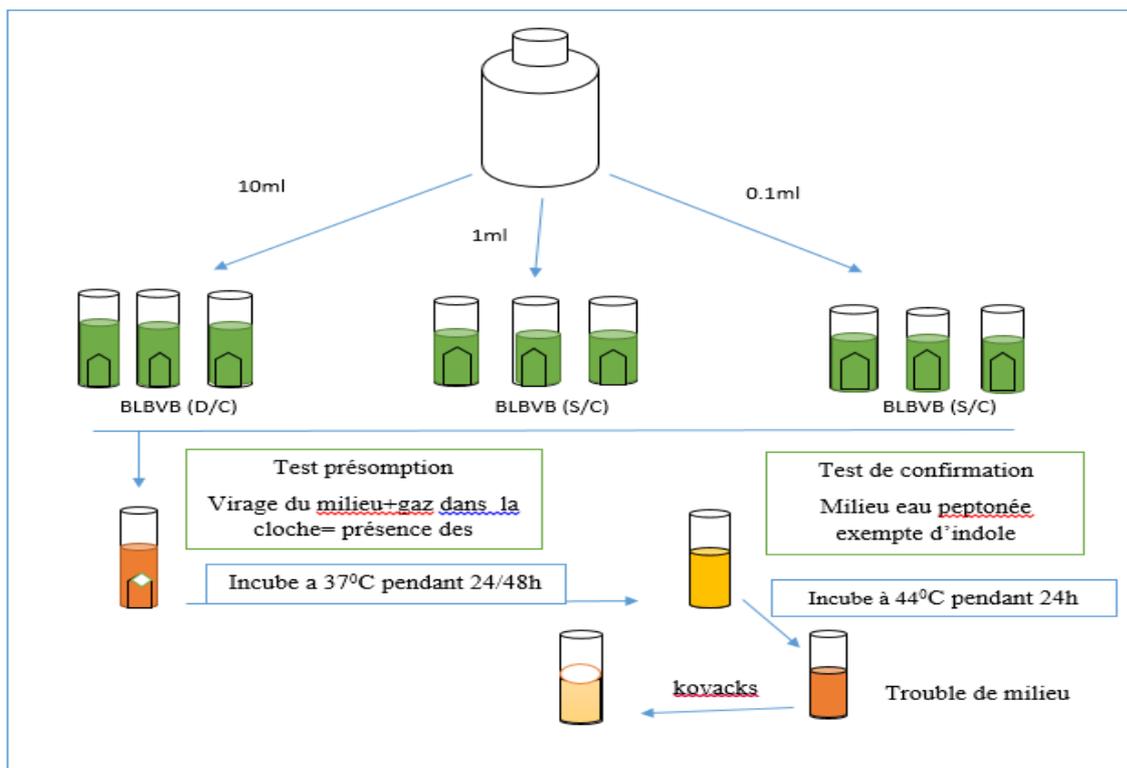


Figure 5: Recherche des coliformes thermo-tolérants.

III.3. Recherche des Streptococcus

Les Streptocoques fécaux sont dénombrés en milieu liquide par la méthode du NPP à l'aide de deux bouillons de culture, milieu de Rothe et le milieu Eva Litsky. Cette méthode fait appeler à deux tests consécutifs test de présomption suivie d'un test de confirmation (**Lebres et Mouffok, 2008**).

• Mode opératoire (streptometrie sur milieu liquide)

1 ère étape : Test de présomption : Réservé à la recherche des streptocoques.

A partir de l'échantillon, porter aseptiquement :

- 3 fois 10 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu Rothe D/C.
- 3 fois 1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu Rothe S/C.
- 3 fois 0.1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu Rothe S/C.
- Bien mélanger le milieu et l'inoculum.
- L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

• Lecture :

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu pendant cette période est présumé contenir un streptocoque fécal. La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP.

2ème étape : Test de confirmation : réservé à la confirmation des streptocoques fécaux dans les tubes positifs du test de présomption.

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des Streptocoque fécaux, éventuellement présents dans le test de présomption, les tubes de Rothe positifs, après l'agitation, prélevée de chacun d'eux quelques gouttes à l'aide d'une pipette Pasteur donc faire l'objet d'un repiquage dans un tube contenant le milieu Eva Litsky, bien mélanger le milieu et l'inoculum et l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

• Lecture :

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien.
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.
- La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP.

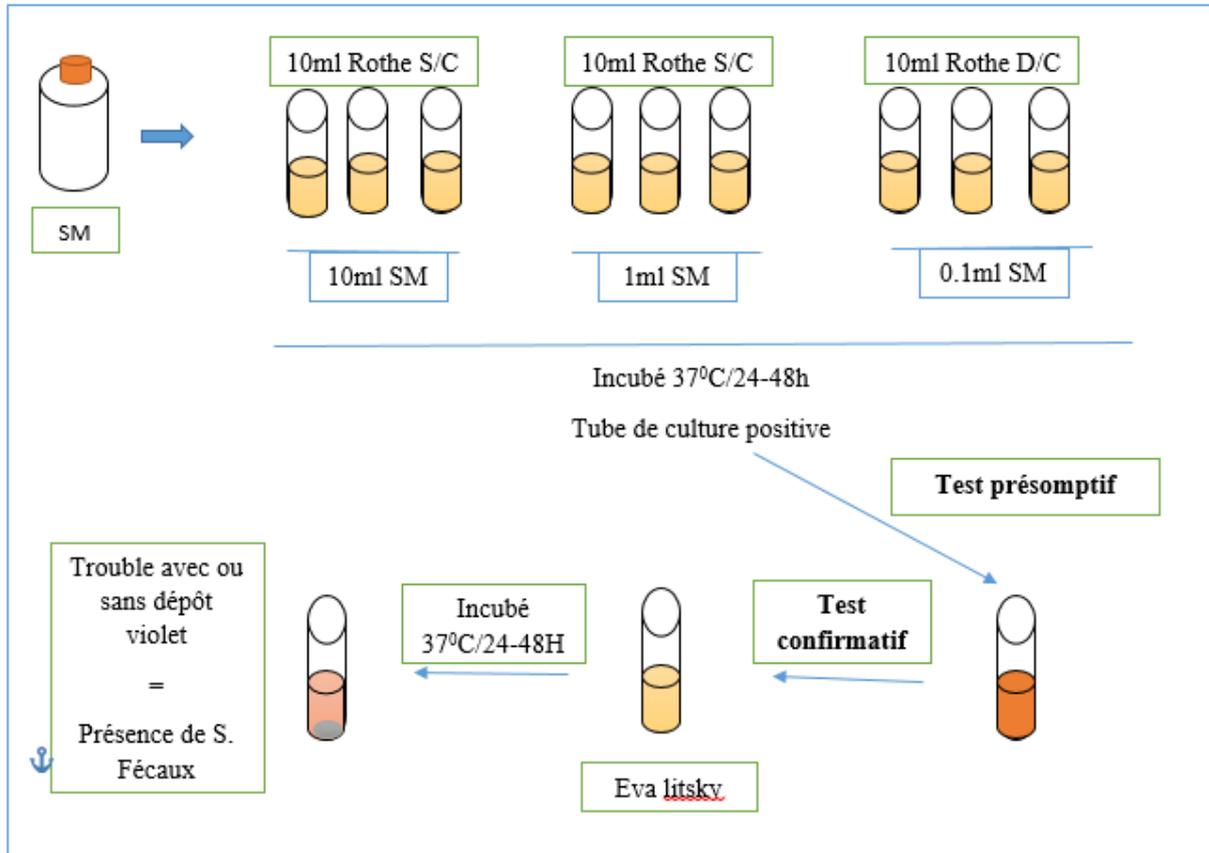


Figure 6: Recherche des *Streptococcus*

III.4. Recherche des spores des anaérobies sulfito-réductrices (ASR)

Les bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR) présentent sous forme de gram positif, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foie (VF) en donnant des colonies typiques réduisant du sulfite de sodium (Na_2SO_3), qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} qui donne FeS (sulfure de fer) de couleur noir. Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne (Labres et al., 2006).

• Mode opératoire

Dans un bain marie, quatre tubes stériles contenant 1ml des dilutions 10^{-2} , 10^{-3} (deux tubes par dilution), ont été placés à 80 °C pendant 10 minutes avant de les refroidir sous l'eau de robinet afin de détruire les formes végétatives.

Ensuite, 15 ml de gélose viande foie a été déposée dans chaque tube, et additionné par 0,2 ml de l'alun de fer et 0,5 ml de sulfite de sodium après refroidissement.

Afin d'assurer les conditions d'anaérobiose, quelques gouttes de l'huiles de paraffine ont été ajoutées après la solidification totale de contenu. Après une incubation de 24h à 46 °C, les

grosses colonies noires, produisant des sulfures à partir désulfites qui ont précipité avec les ions de fer, sont considérées comme étant des clostridies sulfito-réductrices (Hammoudi et al., 2013).

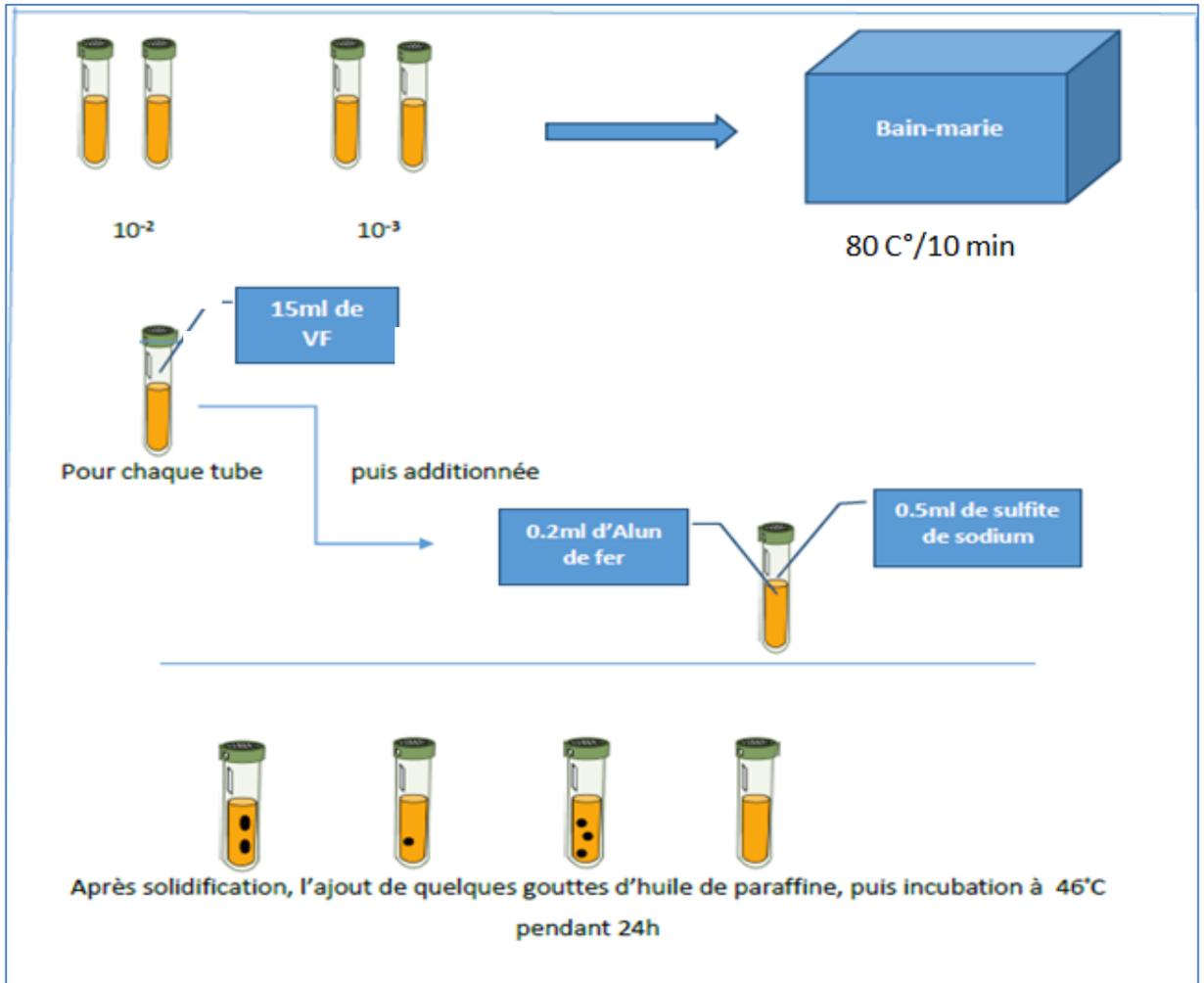


Figure 7: Recherche des spores des anaérobies sulfito-réductrices (ASR)

III.5. Recherche de *Staphylococcus aureus* à coagulase positive

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, très répandus dans la nature (air, eau, sol) et vivent souvent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses des humains et animaux.

- **Mode opératoire**

Cette recherche a été effectuée par la réalisation d'ensemencement sur gélose de Chapman, en faisant des stries à partir de 1ml de chaque dilution 10^{-2} , 10^{-3} . L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent jaune doré et sa présence est confirmée par les tests de la catalase et la coagulase.

- **Lecture**

- Les colonies de *Staphylococcus aureus* s'entourent d'un halo jaune dû à l'attaque du mannitol.

- Le milieu de Chapman permet seulement une orientation pour l'identification de L'espèce *Staphylococcus aureus*. Mais il ne s'agit que d'une étape de présomption et d'une confirmation par des tests spécifiques reste obligatoire (**Joffin et Leyrol, 2001**).

- **Test confirmatif**

- 0,5 ml de suspension bactérienne sont prélever et mis dans un tube à hémolyse, on y ajoute 0,5 ml de plasma de lapin. L'incubation se fait à 37 °C pendant 1/2 h

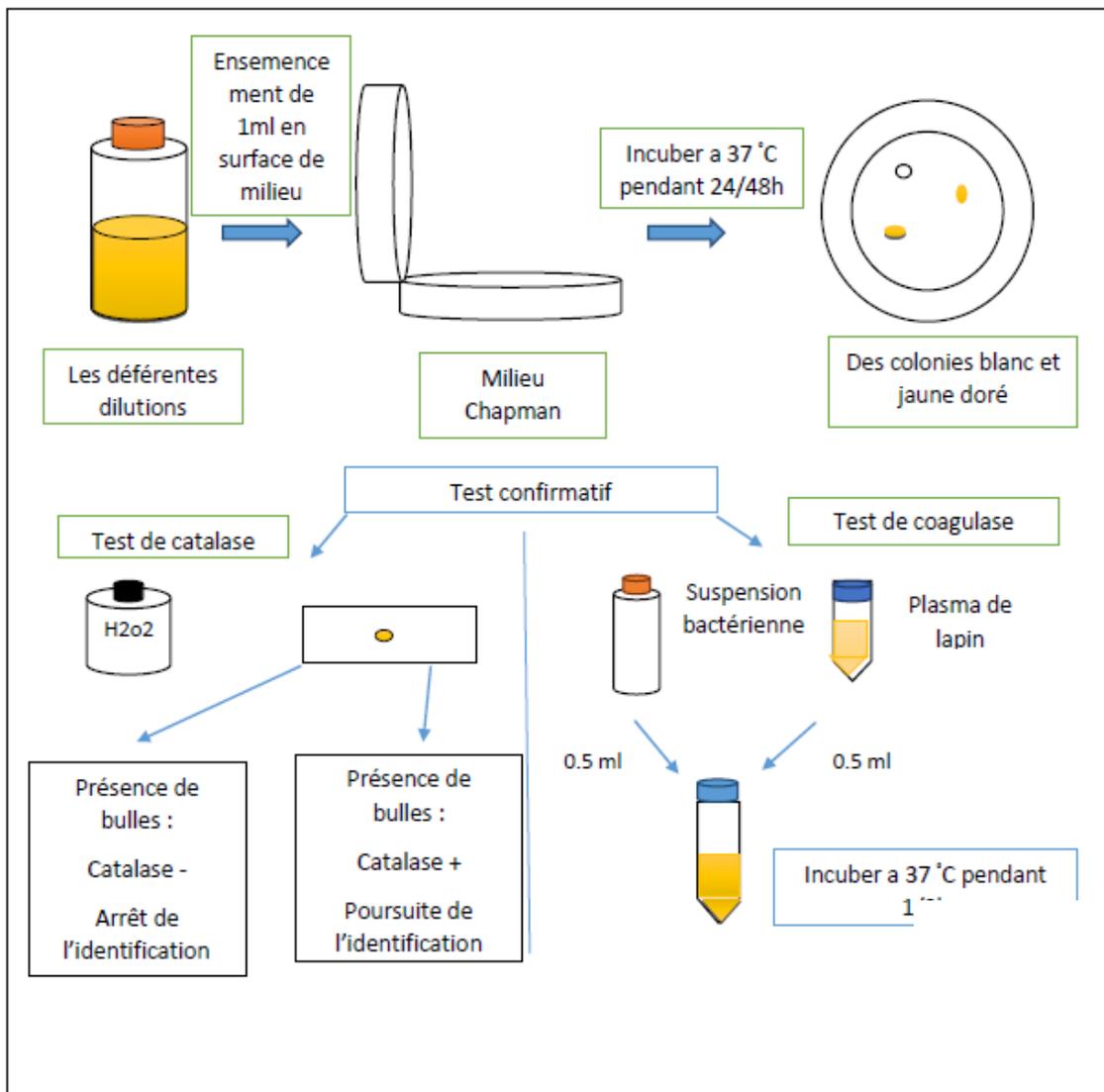


Figure 8: Recherche de *Staphylococcus aureus* à coagulase positive.

III.6. Recherche de *salmonella*

La recherche des salmonelles se fait selon les étapes suivantes :

1. Pré-enrichissement en milieu non-sélectif : cette étape consiste à la revivification des souches à travers la préparation d'une solution mère contient 25g de l'échantillon et 225ml d'eau peptonée tamponnée et incubée à 37 °C pendant 24h.

2. Enrichissement en milieu sélectif : après la revivification des souches, 0,1 ml de la culture de pré-enrichissement a été transféré dans 10 ml de bouillon sélénite cystine (SFB) puis incubé à 44 °C pendant 24h, pour limiter l'activité des germes qui font concurrence avec *Salmonella*.

3. Isolement : à partir du bouillon sélectif, à l'aide d'une anse flambée, des stries ont été appliquées sur de la gélose Hektoen, puis incubé à 37 °C pendant 18 à 24 h.

4. Identification : la dernière étape consiste à en la sélection d'une ou plusieurs colonies caractéristiques en vue de leur purification. L'identité des colonies doit être confirmée en fonction de caractéristiques biochimiques API 20 E (Korsak et al., 2004).

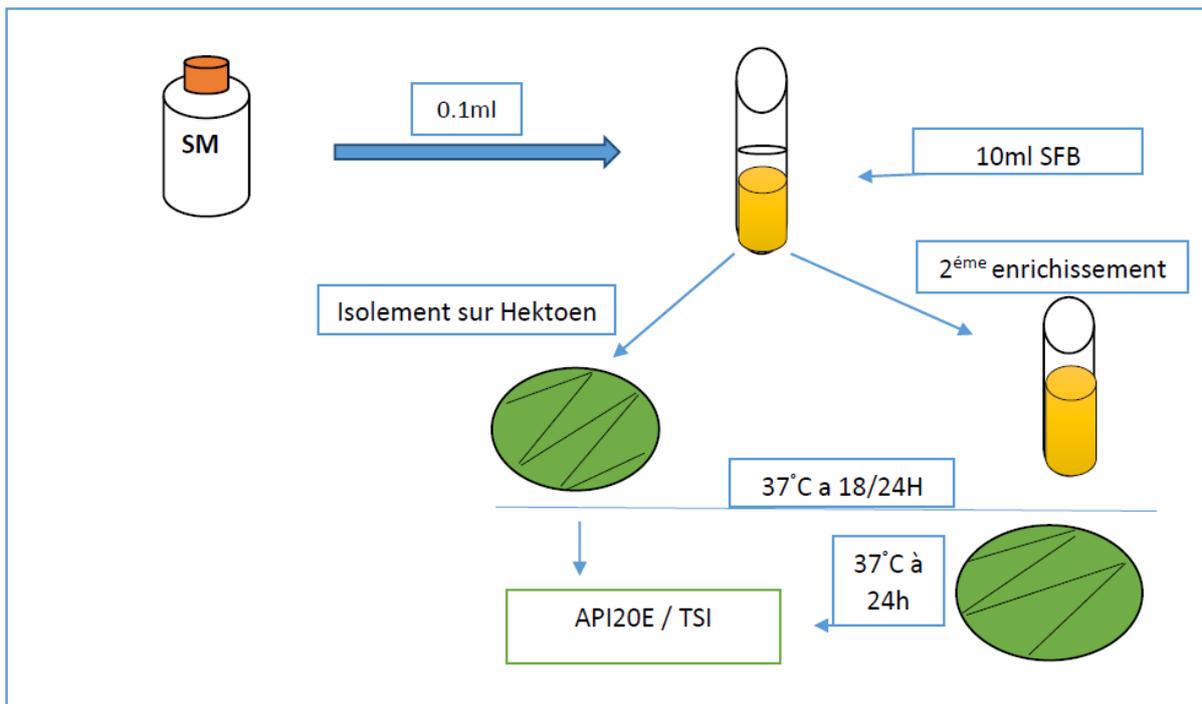


Figure 9: Recherche de *Salmonella*.

III.7. Recherche des levures et de moisissures

La contamination des aliments par les moisissures est actuellement considérée avec beaucoup d'attention en raison des mycotoxines que ces microorganismes soient capables de synthétiser.

Les moisissures sont très largement répandues dans la nature (air, sol...) et elles peuvent très facilement contaminer les aliments en cours de fabrication. Les levures acidophiles, psychrotrophes peuvent induire des altérations profondes dans les aliments (structure, propriétés organoleptiques etc.). La plupart d'entre elles ne sont pas pathogènes (**Baumgart, 1994**).

• Mode opératoire

Des aliquotes de 0,1 ml de et de chaque dilution ont étéensemencées en surface sur la gélose Sabouraud au Gentamycine initialement préparée et coulée dans les boîtes de pétrie. Des colonies blanches ou colorées, lisses et crémeuses de levures et des moisissures sous forme poudreuse ont été apparu après 5 jours d'incubation à 25°C (**Degnon et al., 2013**).

• Observation microscopique de levures

Une seule colonie de levure a été mélangée dans une gouttelette d'eau distillée stérile sur une lame de verre et étalée jusqu'à ce que le frottis s'élève. Le frottis a ensuite été coloré à l'aide d'un colorant bleu de méthylène dilué, séché à l'air et observé au microscope optique à un grossissement de 100. L'observation microscopique des moisissures est réalisée à l'aide de scotch-test (**Karki et al., 2017**).

IV. Identification

Cette partie contient tous les examens microscopiques et les tests biochimiques requis pour l'identification dans les recherches récentes.

IV.1. Coloration de Gram et examen microscopique

Cette coloration permet d'observer les éventuelles bactéries présentes et les distinguer en deux grandes catégories connues sous le nom de Gram positif et Gram négatif. Elle nous offre également la possibilité de découvrir leur morphologie, leur affinité tinctoriale leur regroupement, ainsi que leur structure et mode de concentration.

Elle est une coloration différentielle, se fait selon les étapes suivantes :

• Préparation du frottis bactérien : une colonie bactérienne est prélevée à partir de chaque milieu d'isolement et étalée sur une goutte d'eau physiologique, puis déposée sur la lame

et laissée sécher à l'air libre ; finalement, la fixation des cellules bactériennes se fait par un simple passage sur la flamme de bec Bunsen.

- **Coloration en violet de Gentiane** : la couleur violette consiste à colorer chaque frotti fixé à la chaleur pendant une minute, puis à le laver rapidement avec de l'eau courante.

- **Mordantage** : effectuer une minute de traitement avec la solution de Lugol et ensuite laver à l'eau.

- **Décoloration** : se fait en utilisant de l'alcool. Elle s'agit d'une étape essentielle où le solvant est appliqué sur le frottis pendant une à trois secondes, puis il est immédiatement lavé à l'eau courante. A ce stade, les cellules Gram négatives seront incolores, tandis que les cellules Gram positives restent violettes.

- **Recoloration** : le frottis est soumis à une brève coloration à la fuchsine pendant trente secondes afin de recolorer les cellules Gram négatives présentes. Ensuite, il est rincé et séché entre deux feuilles de papier buvard propres.

- **Examen de frottis** : à l'immersion, sous microscope optique, à l'objectif $\times 100$.

- **Lecture** : les bactéries Gram positif sont bien colorées en violet alors que les bactéries Gram négatif sont bien colorées en rose.

IV.2. Mise en évidence des tests biochimiques

- **Test catalase** :

Un peu de colonie suspecte a été pris et émulsionnée avec une goutte d'eau oxygénée sur une lame porte objet. La présence de la catalase est signalée par la formation de bulles de gaz.

- **Milieu Triple Sugar Iron (TSI)** :

Ce milieu est utilisé beaucoup plus pour la caractérisation biochimique des entérobactéries, il permet de mettre en évidence la dégradation du glucose, du lactose, du saccharose, la production potentielle de sulfure d'hydrogène (H₂S) et de gaz (CO₂).

- **Principe** :

Le milieu estensemencé par des stries à la surface tout au long de la pente, puis par une piqûre centrale au niveau du culot. L'incubation se fait à une température de 37°C pendant 24 heures.

• **Lecture :**

Lorsque les bactéries utilisent du glucose, le culot prend une teinte jaune, tandis que si elles utilisent du saccharose et du lactose, c'est la pente qui prend une teinte jaune. La formation de bulles de gaz ou le soulèvement de la gélose sont des signes de la production de gaz, tandis que la production de H₂S se manifeste par une couleur noirâtre du milieu.

• **Test oxydase :**

Ce test révèle la présence du cytochrome oxydase, une enzyme spécifique d'un métabolisme respiratoire aérobie lié à la réduction de l'oxygène moléculaire. Dans cette étude, nous avons utilisé un disque oxydase qui contient de l'oxalate de diméthyle puruphenylene diamine. Dans son état réduit, ce disque est blanc tandis qu'il est rouge dans son état oxydé.

• **Principe :**

Ce test consiste à placer un disque oxydase rempli d'eau physiologique sur une lame, puis à y ajouter la colonie de bactéries à étudier.

• **Lecture :**

La présence d'une cytochrome-oxydase se traduit, en 20 à 60 secondes, par l'apparition d'une coloration rouge virant rapidement au violet très foncé. Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase, et donc le test est négatif (**Salmi et Sayah, 2019**).

• **Galleries d'API 20 E :**

Le système de galerie API 20 E permet d'identifier les germes appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et d'autres bacilles à Gram -, en utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, 8 tests conventionnels et 12 tests d'assimilation.

• **Principe :**

Cette galerie s'agit d'une collection de tests multiples, composée de 20 cupules contenant un milieu de culture spécifique déshydraté, qui permet d'identifier des caractères métaboliques et biochimiques. Il offre une étude plus précise car l'identification est jugée acceptable à un degré de probabilité de 80% et à une signification statistique d'autant plus importante que l'on se rapproche des 100%.

• **Mode opératoire :**

La procédure est réalisée selon les étapes suivantes :

- Regrouper le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles afin de créer une atmosphère humide.
- Remettre la suspension bactérienne dans les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL.
- Seulement les tubes et non les cupules des autres tests doivent être remplis.
- Insérer de l'huile de paraffine dans les cupules des tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S afin de créer une anaérobiose.
- Fermer la boîte d'incubation, programmer et maintenir à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures.

• **Lecture :**

Inscrire toutes les réactions spontanées sur la fiche de résultats. En cas de glucose positif et/ou de tests positifs de 3 ou plus : indiquer les tests nécessitant l'ajout de réactifs.

- La lecture du test VP est effectuée 10 minutes après l'ajout d'une goutte de réactifs VP1 et VP2.
- La lecture du test TDA est effectuée immédiatement après l'ajout du réactif TD
- La lecture du test IND est effectuée deux minutes après l'ajout d'une goutte de réactif de Kovacs.
- L'absence d'anneau rouge témoigne d'une réaction négative.

Les résultats de chaque caractère doivent être traduits par + ou - dans la fiche de lecture API 20E, puis réunis en un profil numérique de 07 chiffres qui sera ensuite identifié à l'aide du catalogue API20E.

La galerie Staph API 20 concerne seulement les tubes qui ont été remplis par la souche bactérienne, avec l'ajout d'huile de paraffine pour les tests ADH, et URE.

Chapitre III

Résultats et discussion

I. Résultats et discussion des analyses microbiologiques

I.1. Méthode d'interprétation

Les normes sont des spécifications microbiologiques adoptées par la législation qui s'adressent au produit fini et fixent les limites acceptables de présence de microorganismes donnés dans des produits bien définis. En effet, la sécurité des consommateurs et la durée de conservation des denrées alimentaires, sont étroitement liées à leur flore microbienne. Ainsi ces normes jouent un rôle très important lors des échanges commerciaux de ces produits entre pays.

Il existe actuellement de nombreux organismes nationaux ou internationaux (OMS, FAO, JORA...) qui se préoccupent de l'établissement de critères de qualité microbiologique de nos aliments. En effet, les résultats et l'interprétation des analyses microbiologiques des gâteaux pâtisseries exprimés en **UFC/g** (unité formant colonie/gramme) est basée sur une simple comparaison entre les valeurs obtenues avec les normes algériennes définis par l'arrêté ministériel du 27 Mai 1998 et publié sur le Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire n°35.

Germes	FMAT/g	CT/g	CF/g	Staph/g	ASR/g	Salmonelles /25g
M	3.10^5	10^2	10	10^2	10	Absence

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

Pour les salmonelles :

Les résultats sont interprétés à partir du plan à 2 classes :

- Absence = qualité satisfaisante.
- Présence = qualité non satisfaisante.

Concernant les résultats de dénombrement de levures et de moisissures, ils sont interprétés en se basant sur les normes AFNOR (NF V 08-059) (Voir annexe).

Nous avons adopté la non-conformité comme un indicateur de qualité des aliments. Un aliment qui ne répond pas aux normes recommandées est considéré non-conforme et par conséquent de mauvaise qualité hygiénique.

II. Appréciation globale de la qualité microbiologique de la pâtisserie

II.1. Flore Mésophile Aérobie Totale :

La flore mésophile aérobie totale (FMAT) est le premier indicateur de la qualité d'aliments, sa présence en grand nombre indique l'altération du produit.

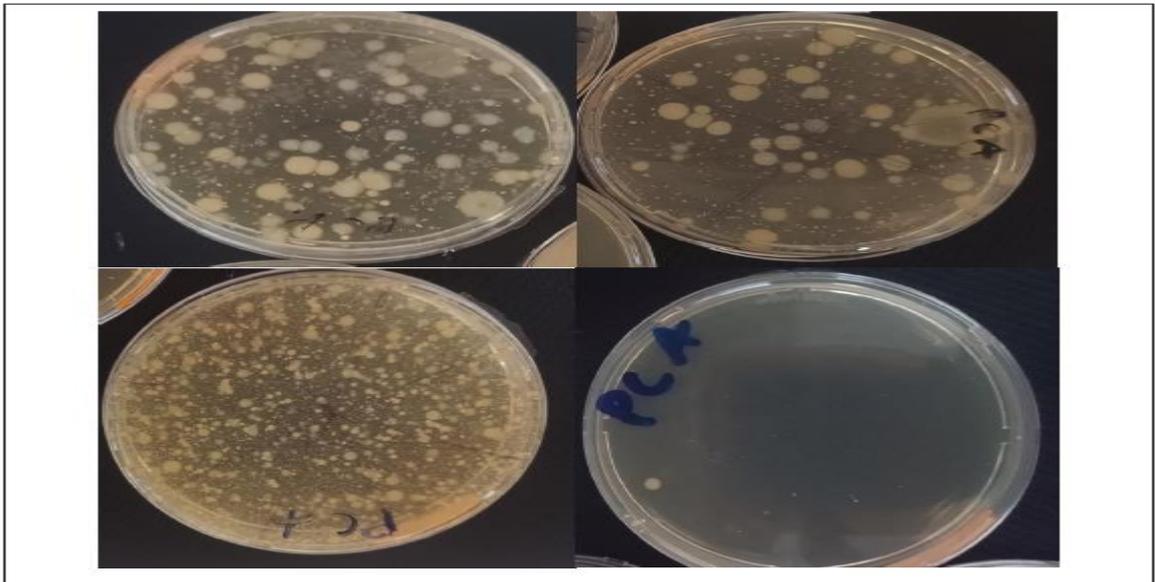


Figure 10: Résultats de recherche de la flore aérobie mésophile.

Nous avons obtenu une gamme de colonies de tailles variables (petites, moyennes) de couleurs différentes (blanches, transparentes), et de forme circulaire ou lenticulaire (figure 10). Nous avons pris en considération que les boîtes présentant un nombre de colonies variant entre 30 et 300. Les résultats ont été notés sur la figure (11).

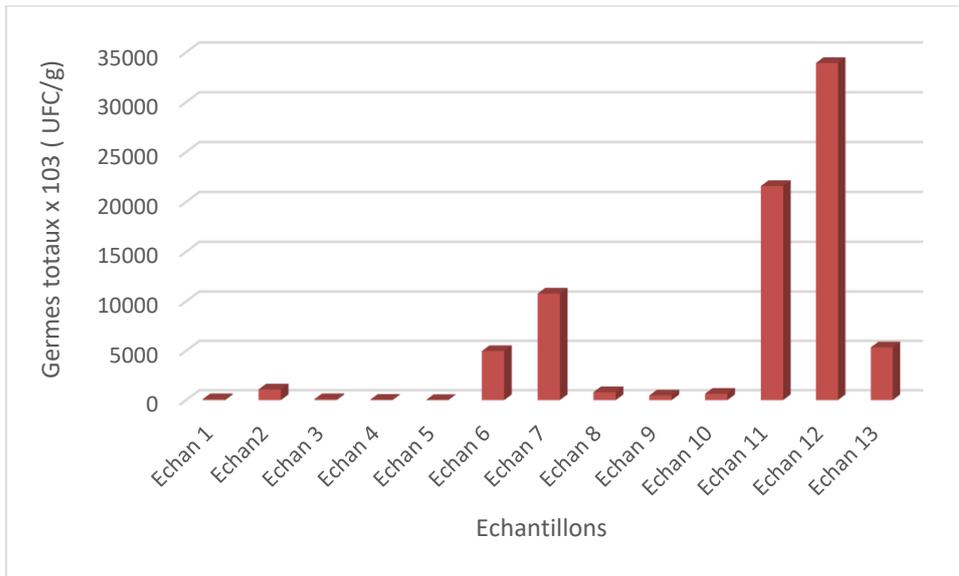


Figure 11: Le nombre des germes totaux présents dans les échantillons des pâtisseries.

Les résultats montrent que la concentration de la flore mésophile aérobie totale dans les différents types des échantillons est très variable, entre un minimum de 650 UFC/g pour l'échantillon (10), et un maximum de 33935×10^3 UFC/g enregistré pour l'échantillon (12).

En effet, vis-à-vis aux normes algériennes des gâteaux qui exigent une valeur de 30000 UFC/g au-dessous de laquelle la qualité du produit est considérée comme satisfaisante et une valeur entre 30000 et 300000 UFC/g la qualité du produit est considérée comme acceptable, les échantillons (2, 6, 7, 8, 9, 11, 12,13) sont insatisfaisants et les échantillons (1,3et 4) sont acceptable à l'exception de l'échantillon (5 et 10) qui sont seulement satisfaisants.

La qualité acceptable et/ ou satisfaisante des produits étudiés reflète, éventuellement, le respect des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication (BPH). Ce germe peut donner une indication sur l'état de décomposition du produit et constitue de ce fait un indice de la qualité sanitaire (**Anihouvi et al., 2006**). La présence constante de ce germe est liée sans doute à l'environnement, dont la chaleur et l'exposition à l'air libre sont deux facteurs favorables pour la multiplication de ce germe sur des pâtisseries. De plus, la conservation plus ou moins longue, toujours à température ambiante est favorable à la multiplication de ces microorganismes, ou bien lié au traitement thermique insuffisant. Une charge en FMAT élevée n'est pas principalement un problème de santé publique, cependant, il peut réveiller des incertitudes quant à la stabilité de l'aliment et indiquer qu'il y a un manque général d'hygiène (**Gillespie et al., 2000**).

II.2. Coliformes totaux

Les coliformes constituent avec les Streptocoques fécaux le groupe de bactéries le plus fréquemment utilisé pour l'examen bactériologique des gâteaux. Habituellement, la présence de coliformes totaux et des coliformes fécaux dans les aliments indique une contamination fécale qui provient d'une mauvaise pratique hygiénique pendant la préparation (Nkere et al., 2011).

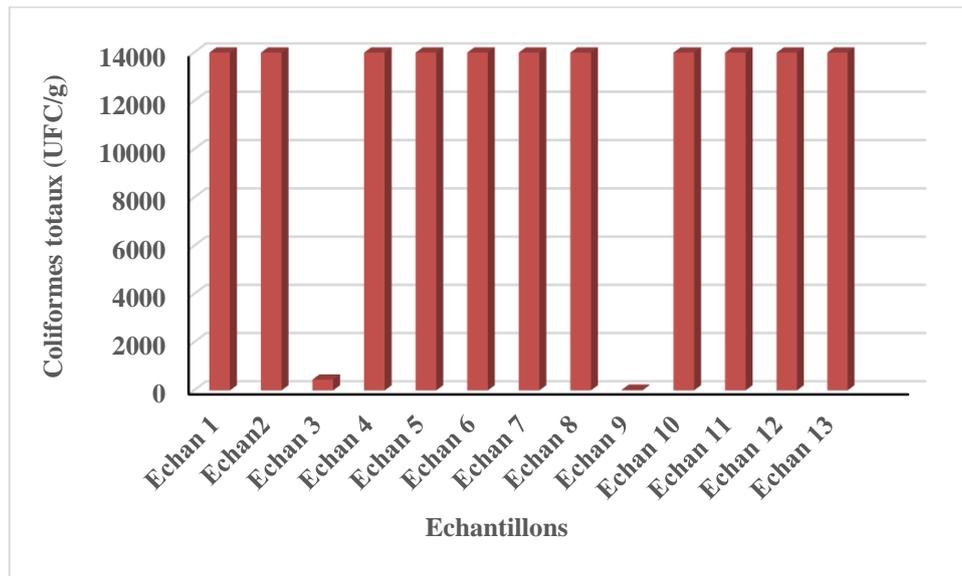


Figure 12: Le nombre des coliformes totaux présents dans les échantillons des pâtisseries.

L'examen d'histogramme illustré dans la figure (12) montre une charge importante des coliformes totaux égale à 14000 UFC/g dans tous les échantillons, sauf l'échantillon (3) avec une valeur de 450 UFC/g, et l'échantillon (9) avec une valeur égale à 30 UFC/g.

En effet, Les coliformes totaux présents ont dépassé la valeur maximale admissible stipulée par la réglementation algérienne des gâteaux qui exigent un nombre qui ne dépasse pas 10^2 de ce type des germes dans 1g de l'aliment. Sa présence pourrait donc témoigner des mauvaises pratiques de préparation, de souillures d'origine fécale par des mains sales et du non-respect des bonnes pratiques d'hygiène lors de la préparation et/ou de distribution.

II.3. Coliformes fécaux

Les résultats obtenus indiquent une absence totale des coliformes fécaux pour l'ensemble des échantillons (1, 3, 7, et 9). Une satisfaction totale vis-à-vis des coliformes fécaux, indique l'absence d'une contamination fécale récente, et donc le respect des bonnes pratiques des règles d'hygiène notamment. Une bonne hygiène corporelle du personnel et une bonne utilisation des sanitaires.

Cependant, on remarque la présence de ces germes dans le reste des échantillons indiquant une qualité non satisfaisante des pâtisseries selon les normes algériennes. La présence de ces germes reflète l'insuffisance du plan du nettoyage-désinfection, des conditions de conservation des aliments (température, durée), traitement thermique insuffisant, et d'hygiène manipulateurs (tenu, mains).

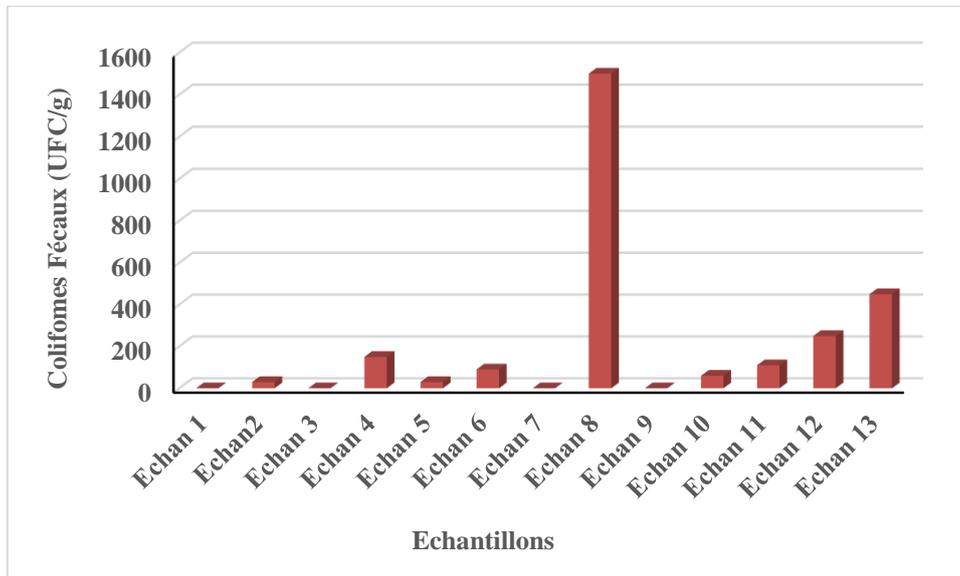


Figure 13: Le nombre des coliformes fécaux présenté dans les échantillons des pâtisseries.

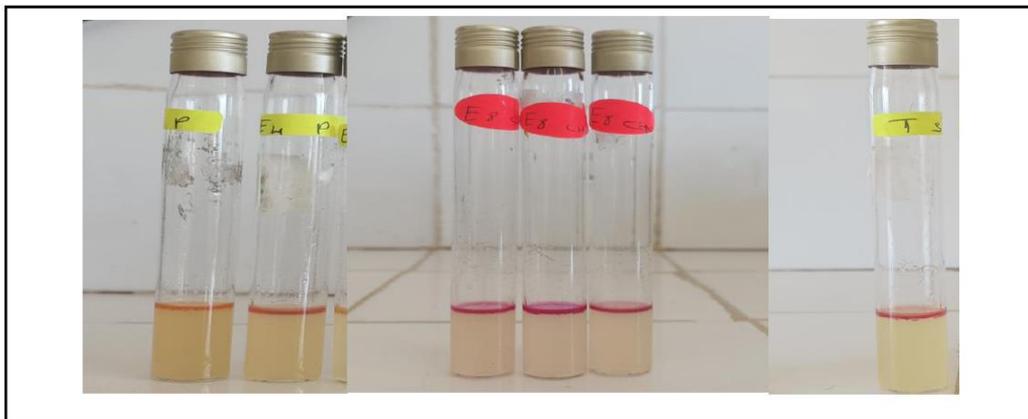


Figure 14: Résultats de recherche des coliformes fécaux.

II.4. Streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud, qui représentent un bon indice de contamination fécale, et de manipulations non hygiéniques (Hannachi et al.,2023)

Nous avons remarqué la présence d'un trouble dans les tubes Rothe ensemencés dans le test présomptif. Les tubes positifs ont fait donc l'objet d'un repiquage sur milieu Eva Litsky pour réaliser un test de confirmation. Les résultats obtenus pour les variations des Streptocoques fécaux dans les différents produits étudiés sont montrés sur la figure suivante.

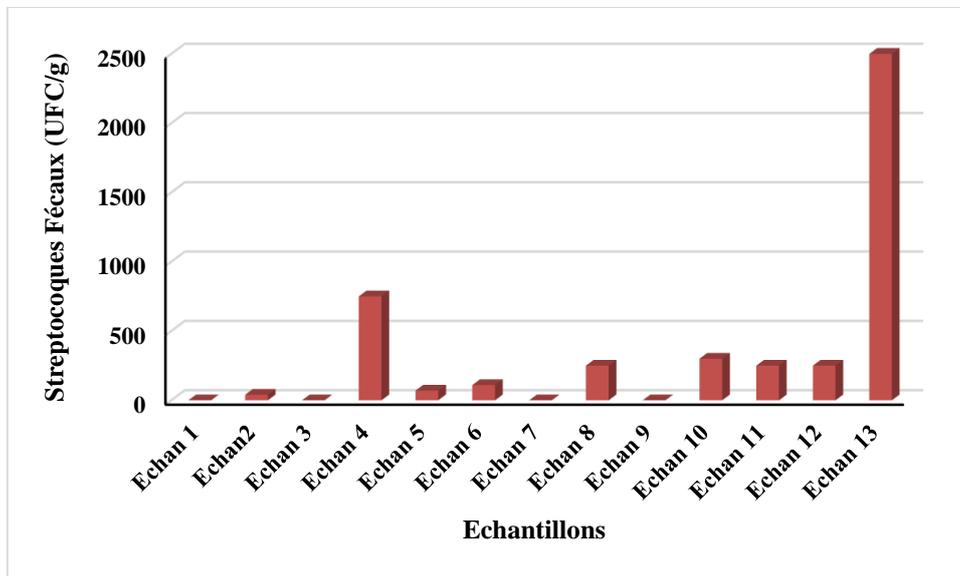


Figure 15: Le nombre de streptocoques fécaux présents dans les échantillons des pâtisseries.

L'examen d'histogramme illustré dans la figure montre l'absence totale des streptocoques fécaux pour les échantillons (1, 3, 7, et 9), ces valeurs sont satisfaisantes vis-à-vis les normes algériennes. En revanche, on note la présence de ces germes dans l'échantillon (13), avec une charge maximale de 2500 UFC/g, ce qui indique une qualité inacceptable par rapport aux normes qui exigent une absence totale de ce type des germes dans les aliments.



Figure 16: Résultats de recherche des Streptocoques fécaux.

II.5. *Clostridium sulfito-réductrice*

Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne (Labres, 2006).

Les résultats obtenus indiquent une absence totale des spores des ASR dans tous les échantillons étudiés qui signifie une qualité de produit satisfaisante, sauf dans les échantillons (9 et 13) présentant une qualité inacceptable, ou la présence des spores a été marquée. Cela peut être une indication d'une contamination ancienne, mais leur absence pourrait s'expliquer par l'efficacité du nettoyage-désinfection et une cuisson suffisante des denrées.

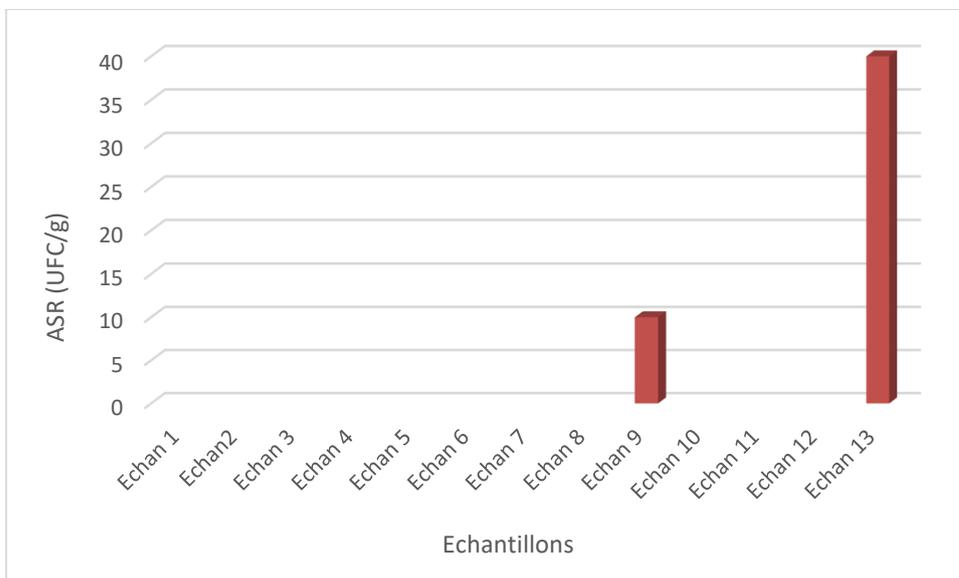


Figure 17: Le nombre des spores présents dans les échantillons des pâtisseries.



Figure 18: Résultats de recherche des spores de *Clostridium sulfite réducteur*.

II.6. *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques constituent un risque réel pour la santé publique dans les produits transformés, car ils peuvent produire dans certaines conditions des entéro-toxines thermostables résistantes aux traitements thermiques. Ils sont également responsables d'infections rhinopharyngées et cutanées qui sont de loin prédominantes par rapport aux infections gastro-intestinales (Abdelhamid *et al.*, 2022).

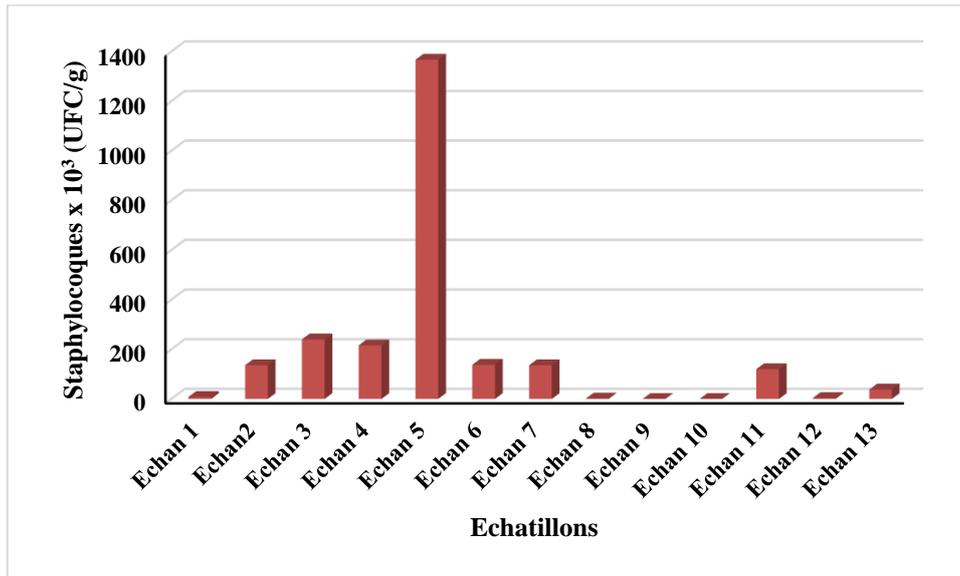


Figure 19 : Le nombre des staphylocoques présents dans les échantillons des pâtisseries.

L'examen d'histogramme illustré dans la figure (19), montre l'absence totale de ces germes dans les échantillons (1, 8, 9, 10, et 12), ces résultats présentent une qualité satisfaisante vis-à-vis les normes préconise par la réglementation algérienne. Au niveau des échantillons (2, 3, 4,5, 6, 7, et 11) le nombre de staphylocoque dépasse 100 UFC/g de produits pâtisserie. Cependant, pour l'échantillon (13), la concentration atteindre 590 UFC/g, ce qui traduit une qualité insatisfaisante, ce résultat est comparable à celui obtenu par (Sami *et al.* 2013).

En effet, les principales sources de cette contamination peuvent être les boutons purulents des mains ou du visage des travailleurs et la mauvaise manipulation des produits de pâtisserie par le personnel.

Une étude approfondie via une identification microscopique, et des tests biochimiques pour déterminer s'il s'agit des *staphylococcus aureus* ou pas.

L'observation microscopique a prouvé l'existence des coques en amas sous forme de grappe de raisin, en couleur violet, ça veut dire Gram positif. Ils sont immobiles, comme représentée dans la figure suivante.

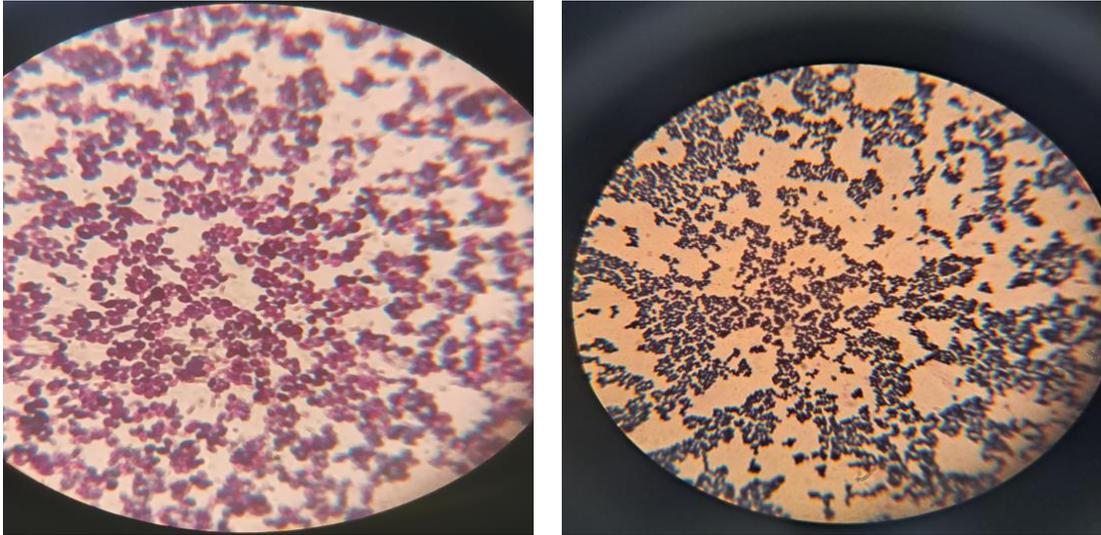


Figure 20: Observation microscopique de frotti bactérien après coloration de Gram (ObjectifX100).

Le test de catalase a révélé l'apparition des bulles de gaz, ce qui traduit par la décomposition de l'eau oxygénée par la souche, grâce à la présence de l'enzyme de catalase. Donc notre souche a un catalase positive.



Figure 21: Résultats de test catalase de la souche sur milieu Chapman.

Ensuite nous avons fait le test de coagulasse, après l'incubation de la souche de, ensemencée sur le milieu de Chapman, une coagulation a été notée au niveau de tube, ce qui indique un résultat positif.

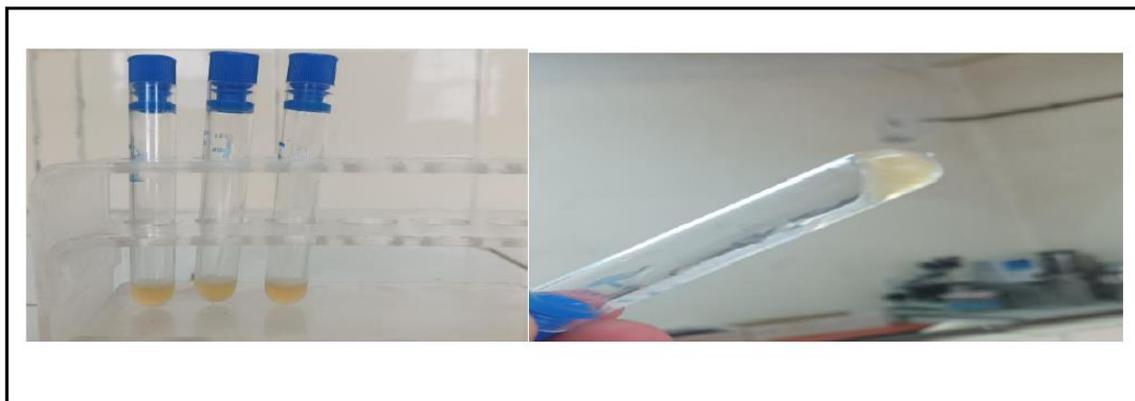


Figure 22: Résultats de test de coagulation de la souche bactérienne sur le milieu de Chapman.

Après on fait la galerie API 20 Staph, pour confirmer nos résultats. A partir du catalogue analytique, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *staphylococcus aureus*



Figure 23: Galerie API 20 Staph.

A : avant l'incubation. **B/C :** après l'incubation (B : 10h /C : 24h).

II.7. *Salmonella*

Tableau 3: La présence des salmonelles dans les échantillons étudiés.

Echantillons	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<i>Salmonella</i> / 25g	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-

Les salmonelles sont des bactéries pathogènes responsables à des fièvres typhoïdes et paratyphoïde et de gastroentérites qui constituent un problème très important en santé publique dans le monde (**Virlogeux-Payant et al., 2012**). Ces germes sont portés par l'homme et l'animal, ils sont impliqués habituellement dans les infections alimentaires (**Baumont et al., 2004**).

Aucune salmonelle n'a été trouvée dans le reste des échantillons analysés, celui est en concordance avec les résultats obtenus par **Soltan Dalal et al. (2010)** et **Pajohi-Alamoti et al. (2016)** qui ont signalé des taux de contamination de 0% dans les pâtisseries fourrées à la crème dans les villes d'Ispahan, de Téhéran et de Hamedan (Iran). Ces résultats répondent à normes algériennes qui exigent une absence totale de cette bactérie dans 25 g de l'aliment, ce qui reflète une bonne qualité sanitaire du produit, à cause du bon traitement pendant tout le processus de transformation.

Tandis que, les résultats de la recherche des salmonelles dans les échantillons (5, et 9) analysés sont positifs, leur présence peut être due à la présence de ce germe dans les matières premières (lait- œuf-crème...), la cuisson insuffisante ou la température et la durée de conservation trop longue.

Pour confirmer la présence de ces germes pathogènes, on a fait des examens macroscopiques, microscopique, et des tests biochimiques.

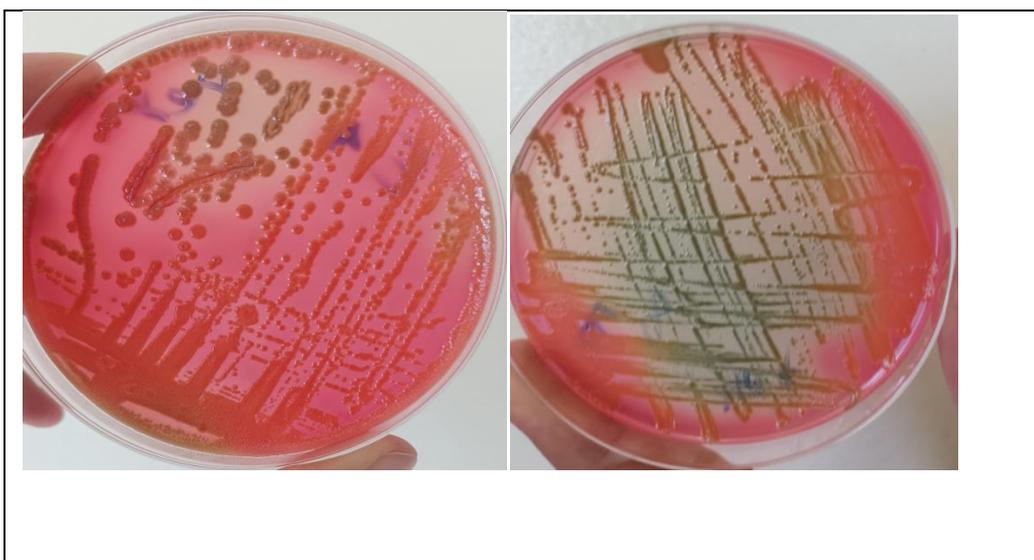


Figure 24: Observation macroscopique des salmonelles sur le milieu Hektoen.

La formation de colonies incolores avec ou sans centre noir, est un signe de la probabilité de la présence des salmonelles.

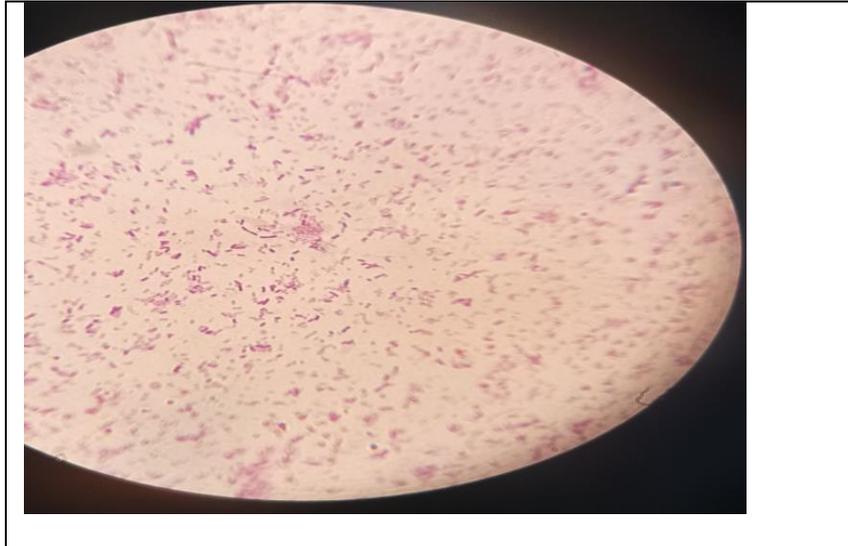


Figure 25: Observation microscopique d'une souche isolée de gélose Hektoen avec un grossissement $\times 100$.

Selon les résultats de l'observation microscopique après coloration de Gram, la présence des bacilles à Gram négatif a été marquée, ce qui peut être traduits par l'existence des salmonelles.



Figure 26: Résultat du test oxydase.

Changement a été noté pour le test de catalase, et la coloration violette a été apparue sur le disque, ce qui veut dire que le résultat du test est positif.

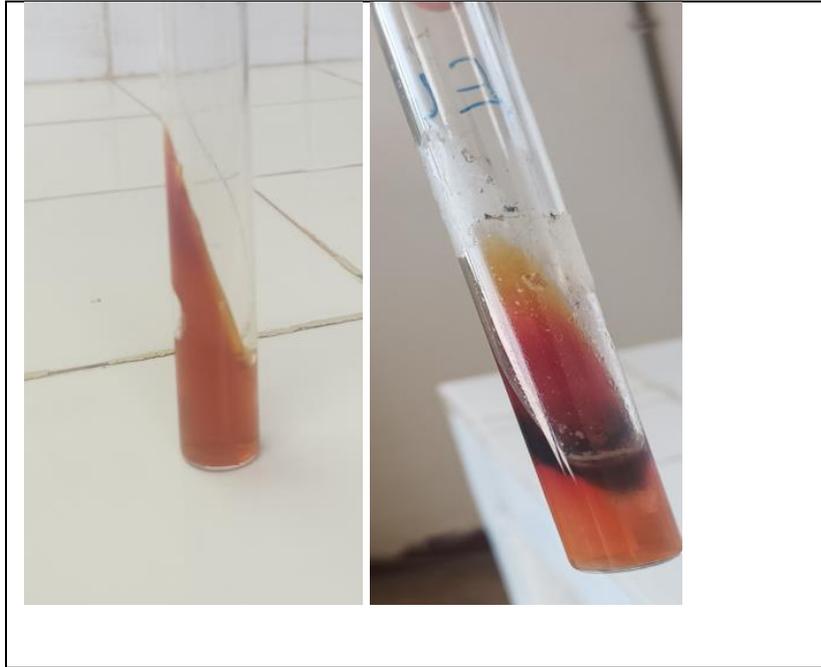


Figure 27: Résultat du test TSI.

Un virage de couleur du culot et de la pente vers le jaune a été observé, avec l'apparition d'un noircissement et des bulles qui causent un soulèvement de gélose. Tous ces signes indiquent que la souche bactérienne étudiée est Glu +, Sach +, Lac +, H₂S +, Gaz +.



Figure 28: Galerie API 20 E (souche 5).

Le code trouvé à partir du catalogue de la bactérie est 7704773, celui correspond à l'espèce *Salmonella Arizona*.

II.8. Levure et moisissure

Les levures et les moisissures constituent une bonne flore indicatrice de la qualité générale des produits alimentaires. Ils sont des germes d'altérations causant des pertes de qualité organoleptique (Guiraud, 2003). Certaines moisissures peuvent produire des toxines via leur

métabolisme secondaire, appelées « mycotoxines ». D'après le rapport de l'Afssa sur les mycotoxines [2], plus de 300 métabolites secondaires de ce type, potentiellement présents sur des aliments, ont été identifiés mais seule une trentaine d'entre eux ont une toxicité préoccupante.

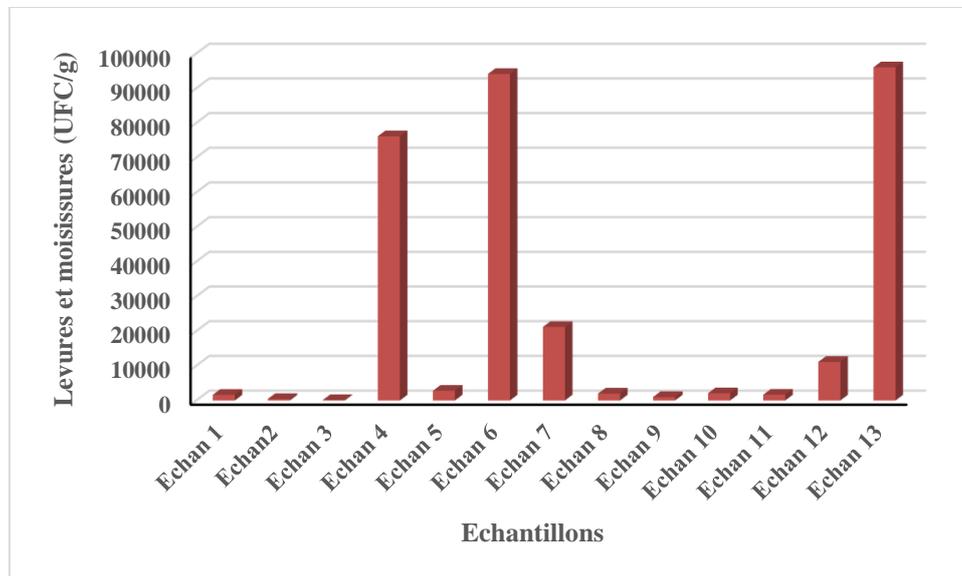


Figure 29: Le nombre des levures et moisissures présents dans les échantillons des pâtisseries.

Les résultats montrent que la concentration des levures et moisissures est très variable dans les différents types des gâteaux pâtisseries étudiés, entre un minimum de 120 UFC/g pour l'échantillon (3), et un maximum de 96040 UFC/g enregistré pour l'échantillon (13). Cette présence de la microflore renseigne sur les mauvaises conditions d'hygiène du matériel, et de la qualité de la matière première utilisée lors de la fabrication et surtout l'hygiène du personnel.

➤ **Caractères macroscopiques**



Figure 30: Observation macroscopique des levures et moisissures dans la gélose Sabouraud.

III. Résultats du dénombrement des microorganismes

Le dénombrement des germes identifiés au niveau des échantillons a permis de faire le tableau suivant :

Tableau 4: Le dénombrement des germes présents dans les différents échantillons.

Echantillons	Germes	FMAT (ufc/g)	CT (ufc/g)	CF (ufc/g)	ST (ufc/g)	SF (ufc/g)	<i>S aureus</i> (ufc/g)	ASR (spore/ 20ml)	<i>Salmonella</i> (25/g)	Levures et moisissures (ufc/g)
1		100x10 ³	14x10 ³	-	2.5x10 ³	-	8x10 ³	00	-	1640
2		1080x10 ³	14x10 ³	0.03x10 ³	2.5x10 ³	0.04x10 ³	136x10 ³	00	-	440
3		102x10 ³	0.45x10 ³	-	0.45x10 ³	-	240	00	-	120
4		38x10 ³	14x10 ³	0.15x10 ³	14x10 ³	0.75x10 ³	216x10 ³	00	-	76160
5		16x10 ³	14x10 ³	0.03x10 ³	2.5x10 ³	0.07x10 ³	1367x10 ³	00	+	2,8x10 ³
6		4976x10 ³	14x10 ³	0.09x10 ³	2.5x10 ³	0.11x10 ³	138x10 ³	00	-	94120
7		10802x10 ³	14x10 ³	-	14x10 ³	-	136x10 ³	00	-	21200
8		800x10 ³	14x10 ³	1.5x10 ³	14x10 ³	0.25x10 ³	2x10 ³	00	-	2x10 ³
9		473x10 ³	0.03x10 ³	-	-	-	-	10	+	1000
10		650	14x10 ³	0.06x10 ³	14x10 ³	0.3x10 ³	-	00	-	1900
11		21592x10 ³	14x10 ³	0.11x10 ³	2.5x10 ³	0.25x10 ³	120x10 ³	00	-	1660
12		33935x10 ³	14x10 ³	0.25x10 ³	14x10 ³	0.25x10 ³	4x10 ³	00	-	11120
13		5346x10 ³	14x10 ³	0.45x10 ³	2.5x10 ³	2.5x10 ³	38x10 ³	40	-	96040



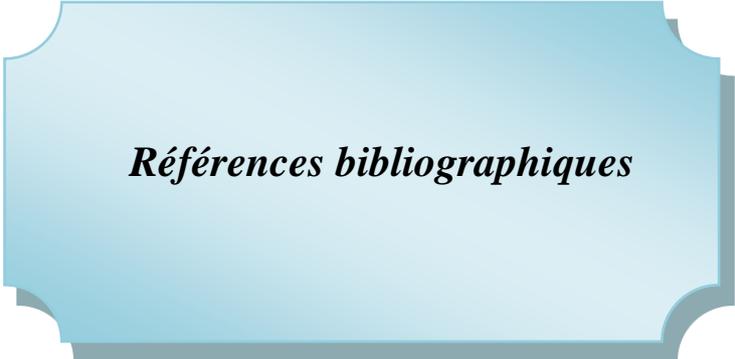
Conclusion

Conclusion

La présente étude réalisée sur treize échantillons de produits pâtisseries, provenant de différentes pâtisseries de la wilaya de Guelma, permet la mise en évidence :

- Sept types différents de germes présentant des charges variables.
- La charge de coliformes était particulièrement élevée dans la majorité des échantillons, dépassant la limite maximale autorisée stipulée par la réglementation algérienne.
- Les analyses microbiologiques ont révélé la présence de streptocoques dans 69 % des échantillons, indiquant une qualité inacceptable par rapport aux normes exigeant l'absence de ce germe dans les aliments.
- Les spores des *Clostridium* sulfite-réductrice ont été détectés aux niveaux des échantillons 9 et 13 (Choux rond au citron et Génoise au chocolat) uniquement, cela peut être traduits généralement par une contamination ancienne du produit.
- 62 % des échantillons analysés étaient contaminés par *S. aureus*, signalant une qualité insatisfaisante des produits concernés. La cause probable de cette contamination est une manipulation incorrecte par le personnel.
- Concernant les salmonelles, la qualité microbiologique des pâtisseries était généralement satisfaisante pour la majorité des types de produits, ce qui reflète une bonne qualité sanitaire et un bon traitement pendant les processus de transformation.
- Cependant, la charge des levures et moisissures atteint un seuil très élevé, ce qui renseigne sur les mauvaises conditions de la fabrication et l'hygiène du personnel, et donc une altération de la qualité organoleptique des produits.

Sur la base de cette étude, le taux de contamination dans les produits pâtisseries fabriqués à la wilaya de Guelma est considéré comme élevé et certains types sont impropres à la consommation publique. En effet, la qualité hygiénique de ces aliments peut être amélioré à travers un renforcement des mesures prises pour éduquer et former le personnel en sécurité alimentaire et une adoption de certaines pratiques concernant le matériel, les instruments et le respect des protocoles de la chaîne de froid.



Références bibliographiques

A

Abdelhamid S., Zouita M., Gomri M.A., (2022). Estimation de la présence des bactéries mésophiles et thermophiles formant-endospores dans 03 types de laits en poudre Algerian Journal of Nutrition and Food Sciences (AJNFS) – Open Access – ISSN : 2773-4366 Volume 02, Issue 02, 2022 : 1-8.

Ait Abdelouahab N. (2007). Microbiologie Alimentaire. 3rd Edition. Office des publications universitaires, Alger, pp. 12-24.

Anihouvi V. B., Ayernor G. S., Hounhouigan.J.d. Sakyi-dawson E. (2006). Quality.

Arnaud C. (2019). La pâtisserie française (1870-1914): une révolution gastronomique. Thèse de doctorat en sciences de l'information et de la communication. Université Paris-Saclay, France.

Asadi S., Maram Z. R., Kooshk. F. (2015). Evaluation of microbial contamination of pastry cream in Arak city of Iran. Journal of Food Safety and Hygiene 1(1) :26-29.

El Andaloussi.B.M.A. (2013).Qualité microbiologique des produits pâtisseries commercialisés à Fes, Mémoire de Licence, Faculty des Sciences ET Techniques FES-SAISS

B

Ballet M. (2020). Impact de l'ajout d'antibiotiques dans les ciments orthopédiques sur la prévention de la formation de biofilm au cours d'infection sur prothèse articulaire à Staphylococcus aureus. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Claude Bernard Lyon 1, France. 32p.

Baumgart W. (1994). La biosécurité au laboratoire de microbiologie. Manual of clinical microbiology.

Baumont S., Camard J. P., Lefranc A., & Franconie A., (2004). Réutilisation des eaux usées : risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France. Rapport ORS, 220.

Bellec J. F., Chaing V., Drzewiecki E., Dugast A., Marcelino. V. (2009). La qualité dans la filière de la pâtisserie, [Web log post]. Retrieved January 10, 2014.

Bennacef A., Sahed F. (2018). Evaluation des qualités physicochimiques et microbiologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé produit par la laiterie Medjana wilaya de Bordj Bou

Arreridj. Mémoire de Master en microbiologie appliquée, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A, Algérie.

Boudjir I et Zehar S, 2019. Evaluation de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de brebis. Mémoire de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi-Bordj Bou Arreridj. P 33.

Boudreau A. & Ménard G. (1992). Le blé : éléments fondamentaux et transformation. Presses Université Laval, Québec. 443p.

Bush L.M., Vazquez-Pertejo M.T. (2023). Infections streptococciques. Le manuel MSD version pour professionnels de la santé.

C

Carip (2008). Microbiologie Hygiène bases microbiologiques de la diététique, Edition Tec\$ doc et médicales internationales, Londres-Paris-New-York, PP : 58, 59, 69, 70, 79, 85,86, 103, 240, 241.

Carip C., Salavert M. H., Tandeau A. (2015). Microbiologie, hygiène et droit alimentaire. 2^{ème} édition. Lavoisier TEC & DOC, Paris. 475p.

Cauteren D.V. (2016). Estimation de la morbidité des infections d'origine alimentaire en France. Thèse de doctorat en Santé publique et épidémiologie, Université de Paris Saclay. 11p.

Cerf O. (1968). La numération des spores de Clostridium et son application au lait at aux produits laitiers. Le lait. 48 (475): 276. champ à partir des céréales de Constantine (Blé dur, blé tendre et orge) et évaluation de l'effet antagoniste des extraits des racines d'une plante endémique. Mémoire de master en sciences de la nature et de la vie, Université de Frères Mentouri Constantine, Algérie. 9-11p.

Charouana N., Brel R. (2018). Isolement, purification et identification des moisissures du

Couderc C. (2015). Impact des antibiotiques sur l'histoire naturelle de la colonisation nasale par Staphylococcus aureus. Thèse de doctorat en santé publique, Université Pierre et Marie Curie, France. 19p.

D

De Valk H., Jordan Da-Silva N., King L., Delmas G., Goulet V., Vaillant V. (2012). Les infections d'origine alimentaire en France. Bull. Acad. Natle Méd. 8 (169): 1646.

Degnon R. (2013). Évaluation de la qualité microbiologique du chinchard (*Trachurus trachurus*) au cours du processus de fumage traditionnel. Journal of Applied Biosciences. 67(5210).

Dubois-Brissonet F., Guillier L. (2022). Les maladies microbiennes d'origine alimentaire. Cahier de nutrition et de diététique. 5 (1) : 30-38.

G

El-Gerssifi M. (1998). Les Défauts des Produits de Pâtisserie et Biscuiterie au Cours du Stockage. La Prévention par la Formulation. Industries alimentaires et agricoles 78 : 82-88.

Gaüzère B.A. (2023). Les salmonelles. Médecine tropicale. 1-6.

Gillespie I., Little C A., Mitchell R., (2000). Microbiological examination of cold ready-to eat sliced meats from catering establishments in the United Kingdom. Journal of Applied Microbiology 88, 467- 474.

Guiraud J. (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. Pp : 136-139.

H

Haifi M, (1992). Le contrôle de la qualité alimentaire dans la législation Algérienne, Université de Constantine institue de biologie.

Hammoudi A., Bousmaha F., Aggad H., Saegerman C. (2013). Évaluation de la contamination bactérienne superficielle des carcasses bovines dans un abattoir algérien. Journal of Animal & Plant Sciences 19(2): 2901-2907.

Hannachi Chaima, Y. N. A. A. (2023). Etude de la qualité microbiologique des aliments prêts à consommer : Cas des produits d'origine animale et végétale.

J

Joffin J., leyrol G. (2001). Microbiologie technique 1: dictionnaire des techniques 3 ème édition CRDP d'Aquitaine. 320.

L

Labres E. et Mouffok F, (2008). Cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux et des boissons. Manuel des travaux pratique des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. 53 p.

Labres E., Azizi D., Boudjellab B., (2006). Cours d'Hygiène et de Microbiologie des Eaux : Microbiologie des eaux et des boissons, Institut Pasteur d'Algérie. Documentation interne.

Loncin M. (1976). Génie industriel alimentaire, Masson 211, PP : 218, 219.

N

Ndiaye A. (1992). Étude de l'hygiène de la restauration collective au centre régional des œuvres universitaires de saint Louis Crous. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire, université Cheikh Anta Diop de Dakar.

Neyrat p., Georges P., Christophe Q., Michel M. (2006). Les pâtisseries – le petit Larousse de la cuisine 1800recettes, Edition 2005, Paris, pages : 963.

Nkere C. K., Ibe, N. I., & Iroegbu, C. U. (2011). Bacteriological quality of foods and water sold by vendors and in restaurants in Nsukka, Enugu State, Nigeria: a comparative study of three microbiological methods. *Journal of health, population, and nutrition*, 29(6), 560.

P

Pajohi-Alamotia M., Rezaei A., Mahmoudi R. (2016). Microbial contamination of pastry cream : evidence from Hamedan, Iran. *Archives of hygiène sciences* 5(3) : 207- 213.

Q

Karki T. B., Timilsina P. M., Yadav A., Pandey G. R., Joshi Y., Bhujel S., Neupane K. (2017). Selection and Characterization of Potential Baker's Yeast from Indigenous Resources of Nepal. *Biotechnology research international*.

Kiger J. L. & Kiger J. G. (1968). Techniques modernes de la biscuiterie, pâtisserie-boulangerie industrielles et artisanales et des produits de régime : par JL Kiger, JG Kiger, Dunod.

Korsak N., Clinquart A., Daube G. (2004). Salmonella spp. Dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique. Ann. Méd. Vét 148 :174-193.

R

Rochefrette M. (1974). Règles techniques de la commercialisation des produits alimentaires, édition Eyrolles, PP : 114.

Rosset P., Beaufort A., Cornu M., Poumeyrol G. (2002). La chaîne du froid en agroalimentaire. Cahiers de Nutrition ET de Diététique.37 (2): 8.

S

Salifou A., Mensah, G., Dahouda M., Boko K., Houaga I., Farougou S. (2013). Evaluation de la qualité technologique et organoleptique de la viande de bovins de races Borgou, Lagunaire et Zébu Peulh, élevés sur des pâturages naturels. Journal of Applied Biosciences. 63: 4736–4753.

Salmi S., Sayah M. (2019). Etude de la contamination bactérienne de l'environnement hospitalier (Hôpital de Sidi Okba -Biskra-). Mémoire de Master, Université de Biskra, Algérie.

Sami M., Nasri A., Bagheri M., Sharifi H. (2013). Microbiological and chemical qualities of cream-filled pastries sold in Kerman city confectioneries, southeast of Iran. Eurasian J Vet Sci 29(3):138-42.

Smith J. P., Daifas D. P., El-khoury W., Koukoutsis J., El-khoury A. (2004). Shelf Life and Safety Concerns of Bakery Products—A Review, Critical Reviews in Food Science and Nutrition 44(1) : 19-55.

Soltan Dalal M., Fazelifard P., Tabatabai Befroee A., Rashidi S., Zarrin M. (2010). Determination of microbial contamination of fresh pastries supplies units in southern Tehran. Scientific journal of microbial biotechnology 2: 7-11.

T

Theau A, (2005). Flore totale aérobie mésophile, Le laboratoire partenaire de votre qualité.

V

Valle M. (2023). Effets des conditions de stockage et de formulation des produits laitiers sur la physiologie des moisissures d'intérêt technologique ou d'altération. Thèse de doctorat en Microbiologie et Parasitologie, Université de Bretagne occidentale, Bretagne. 21p.

Virlogeux-Payant A.C., Lalmanach C., Beaumont H. Hirt P., (2012). Velge Salmonella, de la plante au tube digestif : Des recherches pour élaborer des stratégies de lutte Innovations Agronomiques 24 (2012), 35-48.

W

Waes G. (1973). Les streptocoques D dans le lait cru réfrigéré. La détermination des streptocoques dans le système actuel et futur de détermination de la qualité. 53 (530) : 636.

Wilderjans E., Luyts A., Brijs K., Delcour, J. A. (2013). Ingredient functionality in batter type cake making. Trends in food science & technology 30(1) : 6-15.

Site web

[1] : https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://www.anses.fr/fr/system/files/MCDA2009sa0270.pdf&ved=2ahUKEwjpvsvuYgM6GAxXcfqQEHWsfBzsQFnoECBkQAQ&usg=AOvVaw2_AmWza2nAwPmdUDSw0Gdq

à consulté le 15/05/2024

[2] <https://www.anses.fr/fr/system/files/MCDA2009sa0270.pdf>

à consulté le 01/06/2024



Annexes

Annexe 1

1. Les milieux de culture.

- **Gélose TSI (Triple Sugar Iron) :**

- Composition type (g/l)

Peptone de viande	15
Proteose peptone	05
Extrait de viande	03
Extrait de levures	03
Glucose	01
Saccharose	10
Lactose	10
Citrate de fer ammoniacal	0,3
Chlorure de sodium	05
Sodium Thiosulfate	0,3
Rouge de phénol	0 ,05
Agar	18

PH = 7,4 ± 0,1

- **Milieu BLBVB:**

- Composition type (g/l)

Peptone pepsique de viande	10
Bile de bœuf desséchée	20
Lactose	10
Vert brillant	2ml

pH = 7,4

- **Milieu Hektoen**

- Composition type (g/l)

Peptone pepsique de viande	15
Extrait de viande	03
Extrait de levures	03
Lactose	12
Salicine	02
Saccharose	12
Chlorure de sodium	05
Sels biliaries	04
Bleu de Bromothymol	0,064
Fuchsine acide	0,1
Agar	18

pH = 7,4 ± 0,2

- **Gélose VF (viande-foie) :**

- Composition type (g/l)

Base viande foie	30
D glucose	02
Chlorhydrate de cystéine	/
Amidon	/
Agar	08

pH = 7,6 ± 0,2

Annexe 2

1. Galerie biochimique miniaturisé API 20 E.

Tableau 6 : Préparation et inoculation de la galerie miniaturisée API 20 E

(Source: <http://www.biomerieux.com>).

Type de l'API	Caractéristiques	Préparation Galerie/inoculum	Inoculation de la galerie	Lecture	Identification
API 20 E	<ul style="list-style-type: none"> -Comporte 20 tests -Destinée aux entérobactéries et à autre bacilles à Gram négatif. 	<ul style="list-style-type: none"> -Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide; - Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation ; - Faire une suspension bactérienne : cultures jeune dans un tube contenant 5 ml d'eau distillée stérile 	<ul style="list-style-type: none"> -Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne ; - Remplir uniquement les tubes des autres tests ; - Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H2S en remplissant leur cupule 	<ul style="list-style-type: none"> - Lecture directe ou après addition de réactifs : se référant au tableau de lecture spécifique à l'API; - Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1, 2ou4) est indiquée pour chacun. - Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. Un nombre à 7chiffres est obtenu, il sert de code d'identification. 	<ul style="list-style-type: none"> L'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification <i>apiweb</i>TM. Enter manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.

Annexe 3

Tableau 7 : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20 E

(Source:<http://www.biomerieux.com>).

Test	Groupements active	Réactions/Enzymes	Résultats	
ONPG	Ortho-nitro-phényle-B-D-Galactopyranoside	Beta-galactosidase	Negative incolore	Positive jaune
ADH	L-Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge-Orangé
LDC	L-Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge-Orangé
ODC	L-Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge-Orangé
↓ CIT	TriSodium citrate	Utilisation de citrate	Vert	Bleu-vert/orange
↓ H₂S	Thiosulfate de sodium	Production de H ₂ S	Incolore	Noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge-Orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA	
			Jaune	Marron
IND	Tryptophane	Production d'indole	Kovacs	
			Incolore	Rose
↓ VP₁	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP₁+V₂	
			Incolore	Rose/rouge
↓ GE₁	Gélatine (origine bovine)	Gélatinase	Pas de diffusion de pigment noir	Diffusion de pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune/jaune-gris
MAN	D-Mannitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	D-Sorbitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	L-Rhamnose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	D-Saccharose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
MEL	D-Melibiose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune

Réduction des nitrates (GLUtube)	Potassium nitrate	Production de NO ₂	NIT1+NIT2,2-3min	
			Jaune	Rouge
		Réduction au N ₂	Zn / 5min	
			Orange-rouge	jaune
OF-O	Glucose	Oxydation du glucose	vert	jaune
OF-F	Glucose	Fermentation du Glucose sous l'huile	vert	jaune

Annexe 4

2. Table de Mac Grady.

Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	222	3.5
001	0.3	223	4.0
010	0.3	230	3.0
011	0.6	231	3.5
020	0.6	232	4.0
100	0.4	300	2.5
101	0.7	301	4.0
102	1.1	302	6.5
110	0.7	310	4.5
111	1.1	311	7.5
120	1.1	312	11.5
121	1.5	313	16.0
130	1.6	320	9.5
200	0.9	321	15.0
201	1.4	322	20.0
202	2.0	323	30.0
210	1.5	330	25.0
211	2.0	331	45.0
212	3.0	332	110.0
220	2.0	333	140.0
221	3.0		

Tableau 8 : Table de Mac Grady

Annexe 5

3. Les charges microbiennes déclarées par les normes AFNOR dans les produits pâtisseries.

Denrée	Germe	Critère REG EU 2073	Critère MP/MDD LS Réception Distribution (R)	Critère MP/MDD LS à DLC/DLUO Distribution (D)	Actions correctives	Commentaires
2. Pâtisseries cuites	Flore aérobie 30°C		100 000	100 000	1	
	Bacillus cereus		100	100	2	
Tartes aux pommes	Levures Moisissures		1 000	10 000	2	
Gâteaux chocolat	Escherichia coli		10	10	2	
	Staphylocoques coag +		100	100	1	
Flan	Salmonella*		Absence/25g	absence/25g	5	* Critère à privilégier pour les produits contenant des ingrédients à risque
Crêpes fraîches	Listeria monocytogenes	Absence/25g [†]	Absence/25g [†]	100 ^{**}	3	[†] Ou dérogations prévues par le règlement (CE) n°2073/2005 ^{**} Critère valable pour les produits de moins de 5j de durée de conservation résiduelle sinon absence dans 25g ou dérogations prévues par le règlement (CE) n°2073/2005