

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITÉ DE 8 MAI 1945 GUELMA**  
**FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE**  
**LA TERRE ET DE L'UNIVERS**  
**DÉPARTEMENT : ÉCOLOGIE ET GÉNIE DE L'ENVIRONNEMENT**



## **Mémoire de Master**

**Domaine : Science de la Nature et de la vie**

**Filière : Microbiologie-Ecologie**

**Spécialité/Option : Santé, eau et environnement : Microbiologie de l'environnement**

---

---

**Thème : Étude de la qualité microbiologique des surfaces et  
des ustensiles dans les restaurants collectifs**

---

---

**Réalisé par :**

Oudina radhia

Saioudi somia

**Devant le jury composé de :**

Président : M<sup>me</sup> Boussaadia M. I.

(M.A.A. Université de Guelma)

Examinatrice : M<sup>elle</sup> Amri S.

(M.A.B. Université de Guelma)

Encadreur : M<sup>me</sup> Benhalima L.

(M.A.A. Université de Guelma)

**juin 2013**

# Remerciement



*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail malgré toutes les difficultés. Nous exprimons nos profonds remerciements à Madame BOUSSAADIA M. I., d'avoir bien accepté présider ce jury.*

*Nous tenons à remercier Mademoiselle AMRI S., pour avoir exprimé leur entière disponibilité à participer à ce jury et examiner cette mémoire et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Nous voudrions présenter nos remerciements à notre encadreur Madame BENHALIMA L., pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.*

*Nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, surtout : BELHAOUES M., ACHACHRA C., BOUSALWA F., SAILOUDI S.*

*Merci...*

# Dédicace

*Quand il y a la soif d'apprendre, tout vient à point à qui sait attendre, malgré les obstacles qui s'opposent, en dépit des difficultés qui s'interposent, les études sont avant tout, notre unique et seul atout, ils représentent la lumière de notre existence, l'étoile brillante de notre réjouissance*

*Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis, jour et nuit, nous mène vers le bonheur fleuri*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À ma très chère mère Fatiha :*

*Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.*

*Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*À mon très cher père Abdelhamid :*

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

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

*A mon très cher frère khairedine, et son épouse amira :*

*Mon cher frère qui est présent dans tous mes moments d'examens par son soutien moral, c'est mon ange gardien et mon fidèle compagnant dans les moments les plus délicats de cette vie.*

*Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.*

*A mes grands parents maternelles : Mohamed lakhdar, Khadija.*

*A mes grands parents paternelles : Saïd, Rim.*

*A toutes, je souhaite de toute mon âme beaucoup d'années encore, pleines de santé, de bonheur et de prospérité.*

*A celles qui m'ont toujours aidée, écoutée, soutenue et encouragée tout au long de mon parcours ; celles qui ont toujours été présentes pour moi, mes très chères tantes : Souad, Nora,*

*Massika ; et mes très chers oncles : Azzedine, Toufik, Athman.*

*A la mémoire de mon défunt oncle Mohamed el salah, du plus profond de mon cœur, je vous dédie ce travail. Que dieu vous accueille dans son vaste paradis.*

*A tous les autres membres de ma famille*

*A mes chères amies : Amira, Meryem, Somia, Rezika, Hedda, Aida, Sara, Farah, Mabrouka, Naima, Nabila, Karima*

**Radhia**



# Dédicaces

*Je dédie le fruit de ce modeste travail à ma mère Aicha, la plus chère à mon cœur, tu est la source de ma réussite, qui m'a toujours fait prouvé de sacrifices, et qui m'a toujours donné le courage, la volonté, l'espoir et l'aide durant toute ma vie.*

*Je dédie aussi ce travail à mon cher père Laid, qui a été la source nécessaire pour terminer mes études, lui seul qui a resté mon guide dans ma vie et ma pousser devenir ce qui je suis que dieu te protège.*

*A ma chère sœur Nadia, son épouse Amar et leurs petites filles: Zaineb, Abdanour, Amine et Yassine .Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de Bonheur, de santé et de réussite.*

*A ma chère sœur Saida, son épouse et mon cher frère Farouk .Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.*

*A mon très cher frère Abdelhak, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.*

*Je dédie aussi ce travail à l'esprit de mes sœurs: Karima, Noura*

*A toute ma famille*

*A tous mes amis: Houda, Farah, Naima, Radhia, Mabrouka, Hada, Razika, Habiba, Dalila, Samia, Souaad, Halima, Aida, Fatiha, Randa, Nadjwa, Wahida, Mouna, Nabila, Maryem, Sara, Zaineb, Soumaya, Souaad*

*A mon binôme Radia qui j'ai passe d'agréables Moments.*

*A tous mes collègues d'étude.*

*A tous mes enseignants, et a toute la promotion Santé, eau et environnement 2013.*

# Somia

# Sommaire

## Liste des tableaux

<b>N° de tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>N° de page</b>
<b>01</b>	Présentation des points de prélèvement.	<b>24</b>
<b>02</b>	Les caractères de la galerie biochimique classique.	<b>33</b>
<b>03</b>	Résultat du dénombrement de la flore mésophile aérobie totale au niveau des surfaces des deux restaurants	<b>40</b>
<b>04</b>	Résultats de l'aspect macroscopique des colonies obtenues des prélèvements du restaurant (1)	<b>41</b>
<b>05</b>	Résultats de l'aspect macroscopique des colonies obtenues des prélèvements du restaurant (2).	<b>44</b>
<b>06</b>	Résultats de l'examen microscopique des colonies obtenues à partir des prélèvements du restaurant (1).	<b>47</b>
<b>07</b>	Résultats de l'examen microscopique des colonies obtenues à partir des prélèvements du restaurant (2).	<b>48</b>
<b>08</b>	Les caractères biochimiques des espèces identifiées à partir des prélèvements du restaurant (1).	<b>50</b>
<b>09</b>	Les souches identifiées à partir des prélèvements P1 et P 2.	<b>51</b>
<b>10</b>	Résultats des galeries API20E	<b>52</b>
<b>11</b>	Les caractères biochimiques des espèces identifiées à partir des prélèvements des deux restaurants.	<b>53</b>
<b>12</b>	Résultats de l'identification des espèces de <i>Staphylocoques</i> .	<b>53</b>
<b>13</b>	Résultats des Galeries API Staph	<b>53</b>
<b>14</b>	Résultats de l'identification des souches fongiques.	<b>54</b>
<b>15</b>	Résultats de l'identification des souches bactériennes et fongiques.	<b>55</b>

## Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des schémas

Liste des abréviations

Introduction

### **D) Partie bibliographie**

#### **Chapitre I : Les restaurants collectifs et prolifération des microorganismes**

I- Les restaurants collectifs.....	03
1- Définition.....	03
2-Biocontamination dans les restaurants collectifs.....	03
3-Les facteurs favorisant le développement des micro-organismes dans les restaurants collectifs.....	04
II-Problèmes de bioadhésion des microorganismes et formation de biofilms dans les restaurants.....	05
1-Définition d'un biofilm.....	05
2-Structure d'un biofilm.....	05
3-Facteurs favorisant la formation d'un biofilm.....	06
4-Les étapes de formation d'un biofilm.....	06
5-Les effets d'un biofilm.....	07
III-Les principaux micro-organismes présents dans les restaurants.....	08
1-Flore bactérienne.....	08
2-Flore fongique.....	13
3-Flore virale et parasitaire.....	14
<b>Chapitre II : Les risques sanitaires liés aux restaurants collectifs</b>	
I-Introduction.....	15
II-Principales maladies liées aux restaurants collectifs.....	15
1-Maladies d'origine bactérienne.....	15
1.1-les maladies respiratoires.....	15
1.2-les maladies digestives.....	16
1.2.1- Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC).....	16
1.2.2-Intoxinations alimentaires.....	18
1.3-Les maladies cutanées.....	20
2-maladies d'origine virales.....	21

3-Maladies d'origine parasitaires.....	22
III- L'hygiène dans les restaurations collectives.....	22
1-Hygiène des locaux.....	22
2-Hygiène du matériel.....	23
3-Hygiène du personnel.....	23
4-Hygiène des denrées alimentaires.....	23

## II) Partie expérimental

### Chapitre III : Matériel et méthodes

I-Matériel.....	24
II-Méthode.....	24
1-Cadre d'étude.....	24
2-Echantillonnage et techniques de prélèvement.....	24
3-Méthode d'analyse.....	26
3.1-Analyse semi-quantitative.....	26
3.2-Analyse qualitative.....	28
• Flore bactérienne.....	30
✚ Les entérobactéries.....	32
✚ Les <i>Staphylocoques</i> .....	36
✚ Les <i>Pseudomonas</i> .....	38
• Flore fongique.....	39
✚ Levures et champignons.....	39

### Chapitre IV : Résultats et discussion

1-Résultats de l'analyse semi-quantitative.....	40
2-Résultats de l'analyse qualitative.....	40
2.1-Résultats de l'enrichissement.....	40
2.2-Résultats de l'identification des souches bactériennes.....	40
2.3-Résultats de l'identification des levures et des champignons.....	54
Discussion.....	56

Conclusion

Recommandations

Résumé

Références bibliographiques

Annexe

### Liste des figures :

N° de Figure	Titre	N° de Page
01	Formation d'un biofilm.	07
02	Les points analysés dans les deux restaurants.	25
03	Méthode d'enrichissement.	29
04	Test de l'oxydase.	32
05	La galerie API20E.	35
06	catalase positive.	37
07	La galerie API staph.	37
08	La recherche de pyocyanine et pyoverdine	39
09	Résultat de l'enrichissement: présence d'un trouble.	40
10	Aspect macroscopique des colonies obtenues des prélèvements du restaurant (1).	43
11	Aspect macroscopique des colonies obtenues des prélèvements du restaurant (2).	46
12	Observation microscopique après coloration de Gram ( $\times 100$ ).	49
13	L'observation microscopique des colonies poussées sur sabouraud	49
14	Les résultats des caractères biochimiques de certaines souches d'entérobactéries	51
15	Profil biochimique d' <i>Enterobacter cloacae</i>	52
16	Profil biochimique d' <i>Enterobacter sakazakii</i>	52
17	Caractères biochimique des espèces de Staphylocoques.	53
18	Profil biochimique de <i>Staphylococcus xylosus</i> .	54

### Liste des Schémas :

N° de Schéma	Titre	N° de Page
01	Technique de dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.	27
02	Le protocole expérimental de l'analyse microbiologique des surfaces et ustensiles des restaurants.	28

## LISTE DES ABRÉVIATIONS :

**%** : Pourcentage

**°C** : Degré Celsius

**µm** : micromètre

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ADH**: Arginine

**an** : année

**ARN** : Acide ribonucléique

**CAT**: Catalase

**CIT**: Citrate

**Cm** : Centimètre

**CPG**: Complexe pelles et grues

**DDSV** : Direction Départementale des Services Vétérinaires

**E** : *Escherichia*

**EPS** : Exopolysaccharides

**g** : Gramme

**GEL**: Gélatine

**Glu**: Glucose

**GN** : Gélose nutritive

**H** : heure

**H<sub>2</sub>S** : Thiosulfate de sodium

**HACCP** : Hazard Analysis Critical Control Point,(Analyse des dangers et des points critiques pour leur maîtrise)

**IND**: Indole

**J** : jour

**L** : Litre

**Lac**: Lactose

**LDC** : Lysine décarboxylase

**MAN**: Mannitol

**Min** : Minute

**MI** : Millilitre

**MOB**: Mobilité

**N<sub>2</sub>**: Azote

**NLV**: Norwalk virus

**NO<sub>3</sub>** : Nitrate

**NO<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Nitrite

**ODC**: Ornithine

**ONPG**: orthonitrophényl-bêta-D-galactopyranoside

**OX**: Oxydase

**pH** : Potentiel hydrogène

**RM** : rouge de méthyl

**S** : souche

**SS** : Gélose *Salmonella-Shigella*

**Sac**: Saccharose

**SHU** : syndrome hémolytique et urémique

**T** : Température

**TDA** : le tryptophane désaminase

**TIAC** : Toxi-infection alimentaire collective

**TSI** : tri-sugar-iron

**UFC** : Unité formant colonie

**URE**: Uréase

**UV**: Ultraviolet

**VP** : Vosges-Proskauer

**VTEC** : *Escherichia coli* verotoxinogènes

# Introduction

**Introduction :**

La restauration collective est une activité socio-économique en nette expansion au monde, ceci est lié à l'éloignement entre les domiciles et les lieux de travail et à la généralisation progressive de la journée continue [8].

L'environnement des restaurants est de nos jours en expansion plus grande et plus rapide avec l'avènement de la journée continue. Le nombre d'établissement grossit et des quantités plus importantes sont servies [8].

Cependant cette expansion pose davantage l'épineux problème du respect de l'hygiène en restauration collective qui conduit à la contamination croisée des denrées alimentaires par le manipulateur, les ustensiles et les plans de travaux, donc elles sont à l'origine de nombreuses maladies humaines qui peut se transmettre par divers voies : respiratoire, digestive et cutanée[8].

Lorsque les conditions de conservations ou l'hygiène est négligée au moment des préparations, les aliments, bien que source de vie, peuvent engendrer chez les convives des troubles importants ( intoxications ou toxi-infections alimentaires ) dont certains peuvent être mortels, d'où la nécessité d'une application rigoureuse des mesures d'hygiène dont le contrôle sera assuré entre autre par des analyses microbiologiques [38].

En Algérie, les toxi-infections alimentaires collectives sont devenues aujourd'hui un problème de plus en plus préoccupant tant par leur fréquence grandissante que par leur étude.

De ce fait, il est à noter que cette recrudescence des TIAC survient conjointement aux nouvelles conditions d'industrialisation de l'alimentation, touchant la production, l'équipement des locaux, les diverses manipulations, la distribution, les habitudes culinaires [11].

Cette situation nous a incités à proposer notre thème de recherche : «Etude de la qualité microbiologique des surfaces et des ustensiles dans les restaurants collectifs » dont les objectifs sont les suivants:

- Isolement des microorganismes à partir des surfaces et ustensiles de deux restaurants (étude qualitative et semi-quantitative).
- Identification des souches isolées en étudiant le maximum des caractères biochimiques.
- Vérification du niveau d'hygiène dans ces endroits qui peuvent être la cause de la propagation de plusieurs maladies infectieuses.

Nous rapportons dans cette étude deux grandes parties :

La première est attribuée aux données bibliographiques comportant deux chapitres :

L'un est consacré à la prolifération des microorganismes dans les restaurants et leurs rôles dans la formation des biofilms et l'autre à la présentation de principales maladies infectieuses liées aux restaurants et les moyens de maîtrise de leur qualité microbiologique.

La deuxième relate notre travail expérimental, commençant par la présentation du matériel et les méthodes utilisées dans le cadre de ce travail, suivie des résultats obtenus et des discussions engendrées par ces résultats et enfin nous terminerons cette étude par une conclusion.

# Partie bibliographique

# Chapitre I

*Les Restaurants collectifs et  
prolifération des micro-organismes*

**I- Les restaurants collectifs :****1-Définition :**

La restauration collective peut se définir comme étant une activité qui consiste à préparer et vendre des repas ou des plats dans un lieu ouvert au public et prévu pour la consommation [52].

Elles concernent les lieux de travail (restaurants d'entreprise), de formation (restaurants scolaires et universitaires), de loisirs (colonies de vacances), de santé (hôpitaux) [13].

Ainsi les repas sont généralement préparés en grandes quantité et distribués par d'autres personnes dans divers milieux en dehors du cadre familial [52].

**2-Biocontamination dans les restaurants collectifs :**

Les milieux des restaurants favorisent des conditions convenables comme la température et l'humidité élevée qui permettent le développement et la propagation de nombreux microorganismes (les champignons, les virus, les parasites et les bactéries) qui peuvent être présent dans des différents endroits au sens large (sol, eau, locaux, instruments) ou chez la personne qui manipule des denrées alimentaires, Toutefois ces localités deviennent rapidement des réservoirs de microorganismes, donc la contamination des denrées alimentaires peut alors être plus forte [19].

**2.1-Contaminations des machines et des ustensiles :**

Les machines (broyeurs, malaxeurs...etc.) et les ustensiles (couteaux, cuillères, assiettes...etc.) sont des sources importantes de contamination des aliments au cours de leur préparation [7].

Les germes véhiculés par les machines et les ustensiles sont généralement les contaminants divers des aliments. Ces germes se multiplient en présence des débris des aliments qui restent collés aux machines [7].

Donc la majorité des matériels utilisés dans les restaurants collectifs constituent un environnement favorable pour le développement des microorganismes pathogènes qui sont à l'origine de nombreuses contaminations, comme la contamination du *matériel de table* (verres d'eau; plateaux compartimentés contenant les plats de résistance; fourchettes et couteaux) ,et la contamination du *matériel d'entretien* (les balais; les brosses; les racloirs; les éponges; les serpillières, les torchons) [28].

**2.2-Contaminations des comptoirs et des plans de travail :**

Lors de la préparation des aliments ces derniers sont contaminés par les microorganismes provenant des surfaces et des plans de travail, donc le mal pratique d'hygiène se traduira par une augmentation de la contamination biologique avec possibilité de développement de microorganismes pathogènes entraînant un risque de toxi-infections alimentaires [28].

**2.3-Contaminations des sols, murs et plafond :**

Une dégradation de surfaces (sols, murs, plafonds, huisseries ), initialement conformes, peut augmenter le risque de contamination des denrées par implantation de micro-organismes sur des surfaces présentant des brèches, fissures etc. ... ou de bactéries d'altération qui peuvent se développer sur des surfaces devenues difficiles à désinfecter ( fissures entre panneaux, brèches dans les bas de murs, huisseries, revêtements muraux ou plafonds écaillés ) [6].

De même les plafonds aux revêtements écaillés sont source de pollution des denrées par des moisissures variés [6].

**2.4-Contaminations au niveau des mains-d'œuvre :**

Il est important de noter que le personnel (manipulateur) peut être une source importante de contamination des aliments et du matériel. En particulier après chacun des gestes suivants : éplucher des légumes effectuer des manipulations dans le local à poubelles, gratter une blessure, se moucher, aller aux toilettes, se passer les mains dans les cheveux [28].

**3-Les facteurs favorisant le développement des micro-organismes dans les restaurants collectifs:**

Les restaurants sont d'excellents milieux pour la croissance des microorganismes. Cette croissance est contrôlée par des facteurs liés à l'aliment lui-même : les facteurs intrinsèques, et par d'autres liés à l'environnement où l'aliment est préparé et stocké : Les facteurs extrinsèques [61].

**3.1-Les facteurs intrinsèques :**

La composition de l'aliment est un facteur intrinsèque crucial qui influence la croissance microbienne, il comprend :

- Le pH d'un aliment est aussi critique, car un pH faible favorise le développement des levures et des moisissures. Dans la détérioration et la putréfaction des aliments de pH neutre ou alcalin, ce sont les bactéries qui prédominent [61].
- L'activité et disponibilité de l'eau : les microorganismes ont besoins d'eau pour se développer, cette eau est prise dans l'aliment et pour les germes de surfaces dans l'atmosphère. L'eau libre est indispensable à la multiplication des microorganismes, cette exigence varie avec l'espèce [2].

- Le potentiel d'oxydo-réduction : Le pouvoir plus ou moins oxydant ou réducteur d'un milieu joue un rôle très important pour la prolifération des microorganismes.
- La structure physique, les éléments nutritifs disponibles et la présence d'agents antimicrobiens naturels sont aussi des facteurs associés aux aliments [2].

### **3.2-Les facteurs extrinsèques :**

Les facteurs extrinsèques ou environnementaux c'est-à-dire extérieurs à l'aliment tels que :

- La température de conservation :chaque microorganisme à la possibilité de se développer dans une gamme donnée de température caractérisé par une limite inférieure, un optimum et une limite supérieure au-delà de laquelle la mort survient [2].
- L'humidité relative du lieu d'entreposage influe à la fois sur l'activité de l'eau de l'aliment et sur la croissance des microorganismes à la surface de cette aliment [24].
- Les gaz environnants ou atmosphère de conservation : une augmentation de la teneur en anhydride carbonique et une diminution de la teneur en oxygène permettent une meilleure conservation des aliments en retardant le développement de certains microorganismes et plus particulièrement les moisissures [24].

## **II-Problèmes de bioadhésion des microorganismes et formation de biofilms dans les restaurants:**

La plupart des pathogènes opportunistes et des bactéries en général, sont capables de se développer sous forme d'un biofilm dans les restaurants et de résister à un grand nombre d'agressions extérieures. Il est maintenant communément admis que le biofilm est la forme de développement la plus répandue dans l'environnement pour l'ensemble des micro-organismes [23].

### **1-Définition de biofilm :**

Le biofilm est une communauté de microorganismes (bactéries, champignons, autres) fixée à une surface et maintenue par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice [71].

Les restaurants collectifs n'échappent pas au phénomène biofilm et d'une façon générale, tout endroit humide est le siège de développements microbiens multiples [61].

Donc les biofilms peuvent se développer dans les restaurants très facilement car ils fournissent un environnement humide et chaud pour le biofilm à prospérer [71].

Ils se développent sur virtuellement toutes les surfaces ou les plans de travaux (béton, métal, plastique), provoquant ainsi la contamination des aliments [61].

## 2- Structure d'un biofilm :

La structure du biofilm est hétérogène et renforcée par la matrice extra-cellulaire d'exopolymères, constituée essentiellement d'exopolysaccharides (EPS). Cette matrice englobe d'autres molécules de nature organique et inorganique, jouant également un rôle dans la résistance aux stress environnementaux [23].

Au sein du biofilm, les bactéries sont regroupées en microcolonies séparées par des canaux aqueux. Ce réseau de canaux assure le transport du dioxygène et des nutriments ainsi que l'évacuation des déchets. Ainsi, les constituants solubles capables de diffuser à travers la matrice peuvent être utilisés par les bactéries. Ainsi l'état métabolique d'une bactérie à l'intérieur d'un biofilm dépend de sa localisation au sein de la structure [23].

## 3-Facteurs favorisant la formation d'un biofilm :

Les caractéristiques physico-chimiques du milieu environnant, les bactéries et le type de support influencent fortement l'adhésion des bactéries en modifiant les charges ioniques, l'épaisseur de la double couche et l'hydrophobicité du support. Le pH, la température, la présence de certains cations, le type d'écoulement du fluide et la présence de surfactants sont les principaux facteurs qui conditionnent l'adhérence des microorganismes sur les surfaces [43].

## 4-Les étapes de formation d'un biofilm :

La formation d'un biofilm se réalise en plusieurs étapes : (Figure n° 01)

### ▪ Le transfert des bactéries vers le support (surface, canalisation des eaux.etc) :

Les bactéries se déplacent de la phase liquide vers le support solide par diffusion ou par convection liée au flux dynamique de la solution aqueuse ou aux mouvements actifs grâce à des structures telles que des flagelles de certaines espèces bactériennes [73].

▪ **L'adhésion initiale** (non spécifique) des micro-organismes avec une entrée en contact avec la surface. Cette adhésion est réversible. Cette phase est en général de courte durée (5 à 10 heures).

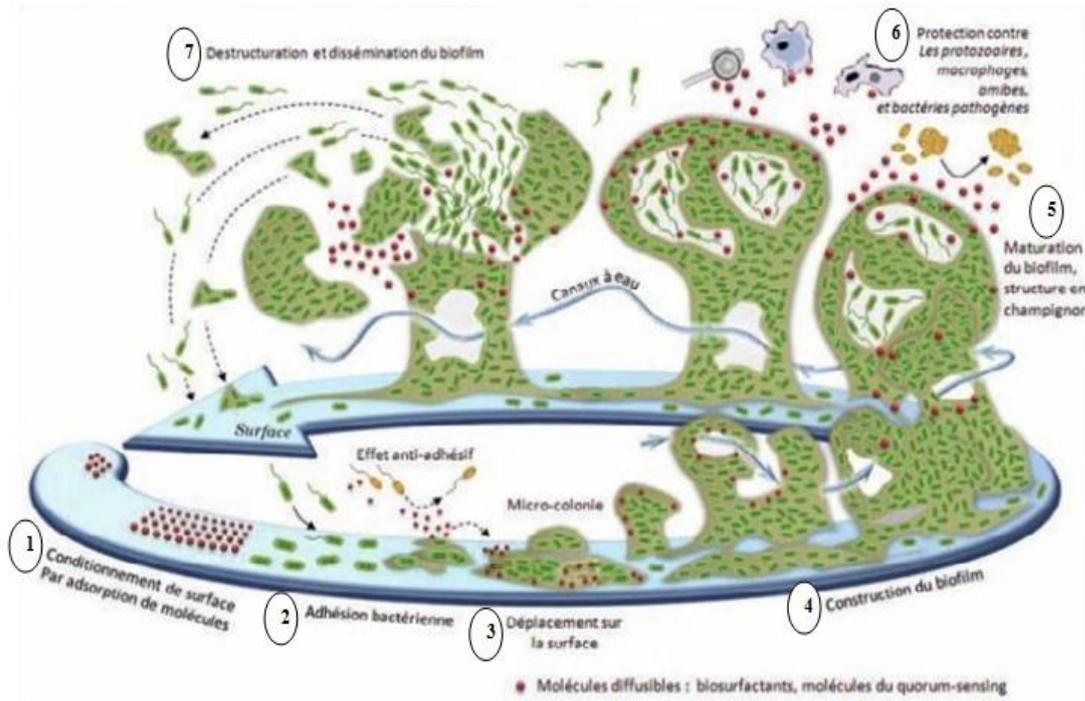
▪ **L'adhésion irréversible** cette phase est plus lente que la précédente avec la formation de colonie à la surface avec des attachements par leurs organelles [73].

### ▪ La colonisation avec deux étapes de maturation :

- Une maturation primaire marquée par une croissance en surface, la formation d'une matrice d'exopolymères sur laquelle se développe une fine monocouche de biofilm (10 µm).

- Une maturation secondaire marquée par une croissance en multicouches donnant un biofilm important (100 µm).

▪ **La dispersion/dissolution** par rupture des liaisons inter-cellulaires et avec la matrice d'exopolymères [73].



**Figure n°01 : Formation d'un biofilm [15]**

### 5-Les effets d'un biofilm :

Les biofilms sont très souvent connus par leurs aspects néfastes. En premier lieu viennent de nombreux problèmes de santé publique liés au développement de biofilms de bactéries opportunistes et/ou pathogènes sur les muqueuses chez l'homme et sur des surfaces inertes directement en contact avec le manipulateur (plan de travail) ou non comme les réseaux d'eau.

Dans l'industrie agroalimentaire, en plus des problèmes sanitaires, les problèmes d'encrassement se posent, par exemple celui des réacteurs et des réseaux d'eau. Des biofilms ont également été mis en cause dans les phénomènes de biocorrosion [23].

Le biofilm constitue une source de contaminations critique et difficile à supprimer. Protégés dans leur matrice organique, les microorganismes deviennent résistants aux procédures standards de nettoyage et de désinfection. Une fraction des microorganismes peut également représenter un risque potentiel pour les consommateurs, et ainsi augmenter la fréquence de symptômes gastro-entériques (diarrhées, vomissement) [23].

### III-Les principaux micro-organismes présents dans les restaurants :

#### 1-Flore bactérienne :

##### 1.1-Coliformes totaux et coliformes fécaux :

➤ Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives, les principaux genres inclus dans le Groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia* généralement la totalité des espèces sont non pathogènes, à l'exception de certaines souches d'*Escherichia coli* (*E. coli*) ainsi que de rares bactéries pathogènes opportunistes [39].

Elles constituent un groupe de bactéries que l'on retrouve fréquemment dans l'environnement, ainsi que dans les intestins des mammifères, dont les êtres humains, on les trouve souvent des surfaces ou du matériel mal nettoyés ce qui peut contaminer les aliments. Elles n'entraînent en général aucune maladie, mais leur présence indique qu'une source d'approvisionnement peut être contaminée [31].

➤ Les coliformes fécaux sont des bactéries trouvées dans les fèces. Ils sont décrits comme anaérobies, Gram négatif, non sporulé, fermentant le lactose à 44°C [31].

La présence de coliformes fécaux est un indicateur fiable de la contamination fécale. La source de contamination des surfaces, plans de travaux, ustensiles ainsi que les aliments pourraient être des excréments d'animaux, eaux usées, les boues, mais également le mal lavage des mains du manipulateur après chaque passage aux toilettes (manque d'hygiène) constitue la principale source d'infection [31].

##### 1.2-Streptocoques du groupe D :

Les Streptocoques du groupe D sont des coccoïdes Gram positive, oxydase positifs, généralement catalase négatifs. Ils sont généralement des anaérobies facultatifs, non mobiles et mésophiles [3].

Ils sont des bactéries lactiques utilisées depuis des siècles dans la transformation des aliments. Cependant, ce sont des marqueurs de contamination fécale (*Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*) également impliqués dans l'apparition de maladies nosocomiales. Ils sont indispensables à l'industrie agro-alimentaire. Employés comme micro-organismes de protection [3].

Ils sont de nature ubiquiste, leur capacité d'adaptation à des environnements inhospitaliers permet de les retrouver dans différentes eaux (usées, douces et de mer), dans le sol, sur les végétaux et dans le tractus gastro-intestinal des animaux à sang chaud (y compris celui de l'homme) [3].

### 1.3-Clostridium sulfitoréducteurs :

Les *Clostridium* sulfitoréducteurs sont des bacilles Gram positif anaérobies stricts capables de sporuler, hôtes normaux de l'intestin, ils peuvent également être d'origine tellurique [12].

Ils se trouvent dans les matières fécales de l'homme et des animaux, ils sont également présent dans le sol, terre, eau, air, Poussières, légumes terreux, épices [1].

La contamination peut se faire par voie directe à travers les matières fécales, manipulations par personnel ayant une mauvaise hygiène, ou indirecte en contact avec matériel souillé [54].

Deux espèces sont responsables de toxi-infection et d'intoxication alimentaires. Ils s'agissent de *Clostridium perfringens*, et de *Clostridium botulinum* [52].

#### ➤ *Clostridium perfringens* :

*Clostridium perfringens* est une cause fréquente d'intoxication alimentaire. Son développement est favorisé par un maintien trop long des produits dans la zone de température dangereuse entre + 10°C et + 63°C, Un refroidissement rapide des plats évite son développement [6].

Il est tellurique et ubiquiste ; il se trouve dans le sol, les boues et il est également présent dans le tube digestif comme commensal chez plusieurs espèces animales y compris l'homme [16].

La contamination se fait par la présence de spores sur les végétaux (champignons, haricots séchés, épices) ; légumes frais mal lavés, par balayage à sec (poussières, sciure) ; contamination fécale également possible (mains mal lavées) [5].

#### ➤ *Clostridium botulinum* :

*Clostridium botulinum* est un bacille à Gram positif, mobile par ciliature péritriche, droit ou légèrement incurvé, de 2 à 10 µm de long et 0,5 à 1,5µm de large [35].

Elle est une bactérie tellurique qui se trouve dans l'eau, le sol et le tube digestif de nombreuses espèces animales. La principale source de contamination humaine est le manque d'hygiène des manipulateurs, et l'utilisation de l'eau contaminé dans la préparation des aliments [18].

**1.4-Les Salmonelles :**

Les *Salmonella* sont des bacilles à Gram négatif, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* [50].

*Salmonella* est un germe incriminé dans de nombreux cas de toxi-infection alimentaire, la contamination est particulièrement fréquente par les pièces de volaille crues, les œufs en coquille, les matières fécales d'origine animale ou humaine, les insectes, les ravageurs. Les mains mal lavées, les ustensiles, les plans de travail vont servir de moyen de transport pour contaminer d'autres aliments (contaminations croisées ou indirectes), manque générale d'hygiène et de propreté [63].

**1.5-Shigella dysenteriae :**

*Shigella dysenteriae* est un bacille aérobie, Gram négatif très proche d'*Escherichia coli*, non capsulé, sporulé [18].

Il est capable de produire des cytotoxines qui détruit les cellules épithéliales, la plus puissante de ces cytotoxines est appelée « Shiga toxine », ce qui entraîne un arrêt irréversible de la synthèse des protéines [67].

Ce sont des bactéries intestinales rencontrés seulement chez l'homme. Celui-ci les élimine par ses selles et les disperse dans le milieu extérieur (sol, eau) où elles ne survivent pas longtemps. Leur dissémination est facilitée par l'absence d'hygiène, et l'utilisation des eaux contaminées pour la préparation des aliments et le nettoyage des ustensiles [67].

**1.6-Staphylococcus aureus :**

*Staphylococcus aureus* est cocci Gram positif aérobie prédominant potentiellement anaérobie, halophile, mésophile [18].

Il est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. On le trouve sur la muqueuse nasale d'un tiers environ des sujets normaux. Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement. Le personnel qui manipule les aliments est la source majeure de staphylocoques qui se trouvent fréquemment dans le nez, la gorge (porteurs sains), salive, les coupures, les abcès et les sécrétions de mêmes provenances [18].

La contamination est principalement liée aux manques d'hygiène des manipulateurs, des matériels et des plans de travail des restaurants [6].

**1.7-Bacillus cereus :**

*Bacillus cereus* est un bacille Gram positif, saprophyte pathogène opportuniste pour l'homme. Elle est mobile, aéro-anaérobie, mésophile, sporulé [18]. Elle est responsable d'intoxications alimentaires [42].

Les spores de *Bacillus cereus* se trouvent en petites quantités dans beaucoup de denrées (Riz et céréales en général, lait cru ou insuffisamment cuit, pommes de terre, salade, en particulier d'origine végétale et se développent à la faveur d'un choc thermique (germination de la spore), se multiplient abondamment lorsque le refroidissement de plats cuisinés à l'avance est trop lent [44].

### 1.8-*Yersinia enterocolitica* :

Les *Yersinia* sont des bacilles Gram négatifs, immobiles à 37°C mais mobiles à 25°C, non sporulés non capsulés, souvent disposés en diplocoques ou en chaînettes, elles sont mésophiles, mais contrairement aux autres entérobactéries, tolèrent très mal les variations de température [18].

Les *Yersinia* se trouvent dans l'eau, le sol et sur les végétaux, ainsi que dans le tube digestif ou les déjections des animaux ou humains malades ou porteurs sains. Pour les cas mortels, les germes peuvent se propager à partir des carcasses ou cadavres [18].

*Yersinia enterocolitica* (anciennement *Pasteurella*) est responsable de toxi-infections alimentaires parfois graves [18].

La contamination se fait lors de l'utilisation de denrées crues mal nettoyées (fruits, légumes) ; par contact avec du matériel et des ustensiles mal lavés ou mal désinfectés ; par l'utilisation de torchons à usage multiple ; par la manipulation des denrées avec des mains non lavées [44].

### 1.9-*Pseudomonas aeruginosa* :

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles Gram négatifs aérobies, non capsulés, non sporulés, mobiles, psychrophile à mésophile [2].

Les *Pseudomonas* vivent en saprophytes dans le sol, l'eau et les milieux humides, comme les eaux douces, les eaux thermales et dans les habitations, dans les robinetteries, ou les réservoirs d'eaux de pluie [18].

Chez l'homme, *Pseudomonas aeruginosa* se trouve dans la flore de la muqueuse nasale et comme flore de contamination sur la peau. Il peut également se trouver dans la flore intestinale [18].

La contamination des matériels et des objets de la cuisine se fait par le contact avec des eaux contaminées, qui lui permettent de survivre et de se multiplier dans des milieux très pauvres et également sur des surfaces humides [18].

La colonisation des surfaces par *Pseudomonas aeruginosa* est liée à sa capacité à former des biofilms, communautés de micro-organismes fixées à des surfaces. C'est un micro-

organisme modèle pour les études sur biofilms, il peut coloniser des tissus (poumons) ou des surfaces abiotiques, comme les canalisations d'eau [57].

#### **1.10-Campylobacter jejuni :**

*Campylobacter jejuni* est incluse dans la famille des *Spirillaceae*, elle est composée de bacilles spiralés ou incurvés, Gram négatifs, capsulés, non sporulés, microaérophiles, mobiles et mésophile [17].

On trouve *Campylobacter jejuni* presque constamment dans le tractus digestif des oiseaux, tant la volaille que les oiseaux sauvages ; fréquemment dans les selles d'animaux d'élevage (bovins et caprins) et de compagnie [50].

Les possibilités de contaminations croisées au cours de la préparation de plats qui ne subiront pas de traitements thermiques particuliers ultérieurs (salades...), notamment du fait de la manipulation successive de produits contaminés (surface des carcasses) puis de denrées prêtes à être consommées. Cette contamination croisée peut également survenir lors de l'utilisation de surfaces de travail communes (planches de découpe...) [48].

La diffusion d'informations plus générales sur les procédures hygiéniques (lavage des mains, nettoyage des surfaces...) lors de la manipulation de matières premières crues, doit également être recommandée [48].

#### **1.11-Listeria monocytogenes:**

*Listeria monocytogenes* est un petit bacille à Gram positif, non sporulé, aéro-anaérobie facultatif, psychrotrophe [35].

Cette espèce est connue depuis longtemps comme agent de maladie d'origine alimentaire. Elle ne provoque pas les symptômes ordinaires de l'intoxication mais une maladie grave et rare: la listériose (méningite, avortement) [6].

Cette bactérie non sporulée est capable de résister à la surface de nombreux supports. Elle peut constituer des biofilms [35].

*Listeria* contamine en général l'environnement des locaux de production, où elle peut être introduit par des voies très diverses, notamment par du matériel d'emballage mal désinfecté (boîtes, caisses plastiques), les bottes, mais aussi par le lait à la livraison [44].

#### **1.12-Légionelles :**

*Legionella* est un bacille à Gram négatif, ubiquiste (largement répandue dans la nature), non commensale, à développement intracellulaire facultatif. Elle vit dans les eaux douces (lacs, rivières, eaux stagnantes...), mais aussi la terre humide et les composts, elle est très répandue dans les réseaux d'eau chaude, surtout dans les collectivités (hôpitaux, hôtels, restaurants) ;

systèmes de climatisation « humides » (caissons d'humidification, aérocondenseurs, tours aéro-réfrigérantes).

La contamination se fait par voie aérienne (inhalation) : c'est la seule voie de contamination démontrée à ce jour. Les légionelles infestent les macrophages alvéolaires. Les restaurants sont souvent incriminés en raison de la vapeur d'eau produite [8].

Les réseaux d'eau colonisés par *Legionella pneumophila* sont sources de contamination par la bactérie. Cette bactérie est capable d'adhérer sur de nombreux matériaux : fonte, acier galvanisé, cuivre, bois, où se concentrent les nutriments, et à former des biofilms capables d'exploiter cette ressource [57].

## 2-Flore fongique :

- **Levures et moisissures :**

Le mot « moisissures » est couramment utilisé pour désigner les champignons microscopiques qui poussent sur les aliments et les matières humides. Les moisissures sont noires, blanches ou d'une autre couleur. Elles ont souvent l'apparence d'une tache ou d'une marque et peuvent avoir une odeur de moisi ou de terre. A cause de l'humidité dans les restaurants, les moisissures peuvent se développer abondamment sur les sols, murs, plafonds et les coins non accessibles de nettoyage. Elles sont à l'origine d'altérations superficielles, en provoquant des modifications d'aspect, de texture et de consistance des denrées alimentaires ainsi que d'une diminution de la durée de conservation [26].

On connaît actuellement une certaine de mycotoxines produites par environ 200 espèces de moisissures qui peuvent conduire à la contamination des aliments, parmi ces espèces : *Aspergillus flavus* qui produit l'Aflatoxine, *Claviceps purpurea* (Ergotamine), *Fusarium gramineum* (Zéaralénone). La consommation des aliments contaminés par ces mycotoxines provoquent des maladies graves : cancérogénicité du foie, rein, estomac et colon...etc [26].

Les moisissures libèrent des « spores » dans l'air qui sont respiré par les gens, l'inhalation de grandes quantités de ces spores et de leurs sous-produits peut avoir un effet néfaste sur la santé. Par exemples : *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Fusarium*...etc [26].

Une levure est un champignon unicellulaire, très abondantes dans la nature, elles sont indésirables pour nos aliments, mais elles sont très utiles dans l'environnement.

On distingue généralement :

-Les Levures utiles : *Saccharomyces cerevisiae* ou levure de bière. Elles fermentent les sucres en alcool et gaz carbonique. Ex : Bière, fabrication du pain.

-Les levures d'altérations : sont une cause fréquente d'altération des aliments, et plus particulièrement des aliments acides. Elles ne sont pas impliquées dans les intoxications alimentaires [26].

-Les levures pathogènes : elles sont responsables de mycoses humaines ou animales, souvent bénignes, quelquefois très graves, ex *Candida albicans* [26].

### **3-Flore virale et parasitaire :**

Les virus sont des particules microscopiques infectieuses possédant un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN), ils sont en général des germes pathogènes et ils peuvent être d'origine alimentaire. Exemples : Astrovirus, Rotavirus, et Virus de l'hépatite A...etc. Provenir de l'eau ou être transmis aux aliments par des humains, des animaux ou autres contacts, Contrairement aux bactéries, ils ne peuvent vivre et se multiplient qu'à l'intérieur de l'être humain mais ils peuvent survivre sans multiplication pendant longtemps (plusieurs semaines à plusieurs mois) dans les aliments ou sur des éléments inertes [72].

De plus, ils survivent à la réfrigération et à la congélation, en conséquence, la contamination virale des aliments n'augmente pas pendant la transformation et peut même diminuer [53].

Les parasites ont souvent comme hôtes spécifiques les animaux, mais ils peuvent inclure les humains pendant leur cycle de vie [72].

Les infections parasitaires sont généralement associées à la consommation de produits carnés insuffisamment cuits ou d'aliments prêts à être consommés. Exemples : *Taenia saginata*, *Diphyllobothrium latum* [72].

Une congélation efficace peut débarrasser les aliments destinés à être consommés crus, marinés ou partiellement cuits de leurs parasites [72].

# Chapitre II

*Les risques sanitaires liés aux restaurants  
collectifs*

**I-Introduction :**

Les endroits des restaurants collectifs constituent des milieux aux conditions favorables pour le développement et la prolifération des microorganismes (bactéries, champignons, parasites, virus). La contamination croisée des denrées alimentaires par le manipulateur, les ustensiles et les plans de travail liée au mal pratique d'hygiène est à l'origine de nombreuses maladies humaines qui peut se transmettre par divers voies : respiratoires, digestives et cutanées [69].

**II-Principales maladies liées aux restaurants collectifs :****1. Maladies d'origine bactérienne :****1.1-les maladies respiratoires :**

Les voies respiratoires sont particulièrement exposées aux infections. Des agents microbiens en suspension dans l'air sont inhalés en permanence ou aspirés [49].

Les aérosols peuvent atteindre plusieurs personnes par inhalation ; le plan de travail et les mains du manipulateur subiront également une forte contamination.

L'effet de l'aérosol dépend de la concentration en agents infectieux, de sa force d'émission et de sa vitesse de retombée ou de sa persistance dans l'air.

Parmi les maladies transmissibles par voie respiratoires dans les restaurants, on trouve fréquemment :

- **Légionellose :**

La maladie du légionnaire, ou légionnellose, est une infection respiratoire aiguë causée par une bactérie Gram négatif, *Legionella pneumophila*. Le nom de la maladie vient du fait que la première épidémie a touché des anciens combattants de l'American Legion réunis en congrès à Philadelphie en 1976 [16].

En 1997, de nombreux touristes français ont gravement été contaminés par des *Legionella* dans des hôtels (restaurants, douches...etc.) en Turquie [43].

La voie de contamination connue est la voie aérienne (inhalation d'aérosol contaminée par des légionelles), les principales sources de contamination sont les tours de refroidissement, les climatiseurs, les douches, les restaurants collectives...ect [43].

Les symptômes débutent deux à dix jours après l'exposition et se traduisent par une forte fièvre, une toux non productive, céphalées, des manifestations neurologiques [61].

Le diagnostic est établi grâce à des techniques sérologiques, la culture de crachats, des hémocultures et la recherche des antigènes dans les urines [65].

L'érythromycine est l'antibiotique de choix que l'on prescrit rapidement avant la confirmation du diagnostic [43].

La prévention de la maladie des légionnaires dans les restaurants collectifs dépend de l'identification et de l'élimination de la source de *Legionella pneumophila* dans l'environnement. La chloration, le chauffage de l'eau et le nettoyage des appareils contenant de l'eau peuvent aider à contrôler la multiplication et la dissémination des *Legionella* [61].

### 1.2-les maladies digestives :

L'origine des contaminations suit à l'ingestion de microorganismes par le port d'objets souillés à la bouche et par l'alimentation elle-même [62].

Elle est le plus souvent la conséquence du non-respect des règles élémentaires de bonnes pratiques d'hygiène lors de la conservation et la préparation des aliments (matériels et planche de travail mal nettoyés) [51].

#### 1.2.1-Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC):

Un foyer de toxi-infection alimentaire collective se définit par l'apparition d'au moins deux cas groupés, similaires, d'une symptomatologie digestive dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire (aliments contaminés par des bactéries pathogènes ou par leur toxine) [10].

- **Les toxi-infections à germes anaérobies :**

*Clostridium perfringens* est fréquemment en cause des toxi-infections alimentaires en restauration collective lorsque les règles d'hygiène et de conservation des aliments après la cuisson n'ont pas été respectées [20].

La contamination se fait soit par plaie souillée du manipulateur (gangrène gazeuse), soit par ingestion alimentaire des plats cuisinés ne respectant pas les règles d'hygiène au moment de préparation [3].

La période d'incubation est de 6 à 24 heures, habituellement de 10 à 12 heures. L'intoxication est caractérisée par une colique soudaine suivie de diarrhée. Les nausées, les vomissements, et la fièvre sont généralement absents, et l'affection reste bénigne et de courte durée [3].

Le diagnostic se fait par la recherche des toxines dans les selles, aussi par les techniques sérologiques [18].

Pour la prévention des toxi-infections alimentaires à *Clostridium perfringens*, le respect des règles d'hygiènes (nettoyage sanitaire, lavage des mains...etc.) est impératif. [19]

- **Salmonelloses :**

Ce sont les toxi-infections alimentaires les plus fréquentes (71% des cas). On les appelle encore salmonelloses non typhique ou salmonelloses digestives [56].

En France, les *Salmonella* sont estimées par extrapolation responsables de 340 000 à 1700000 épisodes infectieux par an. En 2002, 392 foyers épidémiques représentant 1726 malades ont été identifiés. Elles sont responsables de 26% à 67% décès par an [56].

La salmonellose se transmet par la voie oro- fécale, la source d'infection humaine la plus importante est l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés (contamination par des individus porteurs de germe ou par l'usage des outils contaminés) [55].

Les symptômes se manifestent ordinairement dans les 8 à 48 heures suivant l'ingestion de l'aliment contaminé : céphalée, malaise abdominal, fébricule, diarrhée aqueuse contenant parfois du sang et du mucus. Chez certains, les seuls symptômes sont la céphalée et des selles diarrhéiques occasionnelles [16].

Le diagnostic en laboratoire est établi par isolement de la bactérie à partir d'aliments ou de selles de patients. Le traitement est basé sur la restitution de liquides et d'électrolytes et la prévention dépend de bonnes pratiques de production alimentaires, d'une réfrigération adéquate et de cuisson appropriée [45].

- **Shigelloses :**

La shigellose est une maladie intestinale, soudaine causée par la bactérie *Shigella* [18].

Elles sont exclusivement d'origine humaine. Les troubles provoqués sont semblables à ceux des salmonelloses et sont parfois appelés dysenteries bacillaires [52].

La transmission est réalisée sur un mode oro-fécal, surtout par contact interhumain ou par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés [10].

Après une incubation de 24 à 72 heures, la symptomatologie digestive débute par une diarrhée hydrique pendant deux à trois jours, rapidement suivie d'un syndrome dysentérique correspondant à l'invasion de la muqueuse par le germe, s'y associent un syndrome inflammatoire souvent très marqué et une thrombopénie modérée [10].

Le diagnostic est habituellement fait par la coproculture réalisée sur milieu sélectif. [10]

Le traitement est basé sur des antibiotiques telles que : la ceftriaxone, les fluoroquinolones, le triméthoprime-sulfaméthoxazole. Il existe un vaccin en cours d'évaluation [33].

- **Les colibacilloses :**

Ce sont des gastro-entérites dues à des souches entéropathogènes d'*Escherichia coli* qui est un hôte normal du tube digestif mais qui devient pathogène dans certaines conditions [52].

Les premiers découverts, ont occasionné des épidémies meurtrières dans les années 1940-1960 [2].

Le pathogène se propage par la voie fécale-orale et il semble que la dose infectieuse ne soit que de 500 bactéries [61].

Ces germes provoquent des troubles graves (diarrhée violente, profuse et teintée de bile ; nausées ; vomissement) douze heures après ingestion du repas chez le jeune. Chez l'adulte il y a en plus des céphalées [52].

Le diagnostic bactériologique est rarement utile, puisque le typage des *Escherichia coli* dure en moyenne trois jours alors que les diarrhées aiguës ne durent que 24 ou 48 h.

Le traitement antibiotique n'est utile que dans les cas graves, et notamment dans les localisations extradigestives [18].

Les infections à *Escherichia coli* verotoxinogènes (VTEC) sont un problème majeur de santé publique, à cause des maladies graves qu'ils engendrent, telles que la colite hémorragique et le syndrome hémolytique et urémique (SHU), surtout chez les enfants et les personnes âgées. Le grand nombre de foyers épidémiques à travers le monde souligne l'importance de ces agents pathogènes et met l'accent sur la nécessité de la déclaration obligatoire de la maladie [3].

- **Listérioses :**

La listériose est une infection d'origine essentiellement alimentaire. Elle sévit de façon sporadique (ou par petites épidémies). Elle est de gravité particulière chez les immunodéprimés, les personnes âgées et la femme enceinte. Elle tue de 150 à 200 personnes/an et sévit essentiellement dans les pays industrialisés (Europe ; Etats-Unis, Canada, Brésil et Japon) [56].

La contamination se fait par les aliments non cuits, les mains, les ustensiles de cuisine mal nettoyer [59].

Sa durée d'incubation peut être longue (3 à 70 jours), elles se traduisent par une fièvre, une céphalée, des nausées, des vomissements, une pharyngite, des douleurs musculaires, une méningite. Souvent les symptômes ressemblent à ceux de la grippe [21].

La listériose est diagnostiquée par culture de la bactérie et elle est traitée par administration intraveineuse d'ampicilline ou de pénicilline [64].

- **Campylobactérioses :**

La campylobactériose est une maladie d'origine alimentaire très répandue. Aux Etats-Unis, cette maladie est plus fréquente que salmonellose et shigellose réunies [29].

Elle présente des scénarios épidémiologiques différents dans les pays en voie de développement et dans les pays développés [55].

La transmission peut se faire directement lors de contacts avec des animaux domestiques infectés ; les volailles, le lait non pasteurisé et l'eau sont les vecteurs les plus fréquents d'infections d'origine alimentaire [20].

La période d'incubation varie de 2 à 5 jours. Les symptômes sont : diarrhée, douleur abdominal, sensation de malaise, fièvre, nausées et vomissement [3].

Le diagnostic bactériologique se fait par examen des selles et coproculture. L'identification d'espèce peut être utile dans un contexte épidémique [18].

Le traitement curatif se limite le plus souvent à une réhydratation. Si un traitement antibiotique est nécessaire, il doit être adapté à l'antibiogramme, puisque de nombreuses résistances ont été signalées [18].

### **1.2.2-Intoxinations alimentaires :**

L'intoxication peut se définir comme étant une maladie liée à l'ingestion d'une toxine bactérienne. Tous les symptômes sont dus à la toxine sans qu'il y ait besoin de la présence du germe [51].

- **L'intoxication staphylococcique :**

L'intoxication staphylococcique est une maladie d'origine alimentaire provoquée par *Staphylococcus aureus*, elle est bénigne chez l'adulte et peut s'avérer grave chez les enfants et les vieillards [52].

En 1996-2006, les staphylocoques représentaient la deuxième cause de T.I.A.C en France derrière les salmonelles. Elles constituent une des causes majeures de maladies d'origine alimentaire au niveau mondial [44].

La contamination humaine peut survenir par ingestion de germes ou de toxine préformée ou par dispersion d'aérosol [18].

Environ 2 à 4 h après l'ingestion, on observe des vomissements, diarrhées et autres troubles digestifs. Les troubles disparaissent spontanément, sans séquelle [64].

Le diagnostic se fait par recherche immunochimique de la toxine. Dans tous les cas, le traitement est préventif et symptomatique. Le traitement antibiotique est rarement nécessaire [18].

La prévention des intoxications à staphylocoques est basée sur des mesures d'hygiène visant à éviter ou à limiter la contamination des aliments par *Staphylococcus aureus* [44].

- **L'intoxication botulinique :**

L'intoxication botulinique résulte de l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminée par la toxine botulinique provoquant une toxi-infection alimentaire, appelé aussi botulisme [17].

Le botulisme est rare en France (24 cas en 1991, 29 cas en 1992 et 12 cas en 2002). Il touche surtout l'homme (60% des cas) [56].

Souvent la contamination se fait par les surfaces mal nettoyées au contact avec des denrées alimentaires qui sont susceptibles de servir de véhicule de transmission de la maladie (la peau, l'emballage et les ustensiles) [56].

Le temps d'incubation avant l'apparition des symptômes est de 12 à 48 heures [56].

Les symptômes de la maladie sont les suivants : problème de vision, sécheresse de la bouche, nausées, vomissements, diarrhée importante puis constipation, paralysie des muscles [29].

Le diagnostic est basé sur la recherche de toxine dans des échantillons (sang, aliment, eau, sécrétions nasales), ou par des techniques immuno-enzymatiques [29].

Le traitement est en premier lieu préventif et consiste en un respect absolu des règles d'hygiène concernant la préparation des aliments. L'antibiothérapie n'a pas d'indication [18].

### **1.3-Les maladies cutanées :**

La contamination se fait par effraction de la peau : piqûre ; coupure ou égratignure par de la verrerie cassée contaminée; souillure des mains par l'intermédiaire des serviettes.

Parmi les maladies les plus fréquentes concernant la voie cutanée il existe [62] :

- **Leptospirose :**

La propagation de cette maladie dangereuse a lieu aussi dans les restaurants collectifs, puisque elle est liée principalement à l'utilisation des eaux contaminées lors de nettoyage du matériel et le lavage des aliments. Le plus souvent, l'infection se ferait par pénétration de la bactérie par une blessure cutanée même minime, ou par la muqueuse en cas de contact avec l'eau infectée pour cela les personnes les plus exposés de cette maladie sont les manipulateurs de cuisines [35].

Après une incubation de 4 à 14 jours on observe une fièvre et frisson. L'atteinte rénale est la plus fréquente, plus des hémorragies pulmonaires ou digestives [34].

Le traitement précoce réduit la durée et la sévérité des symptômes, en pratique : pénicilline G, bêta-lactamines (ampicilline, amoxicilline); les tétracyclines, amoxicilline

La prévention repose avant tout sur la mise en place de mesures préventives collectives et individuelles parfois simples comme le port des gants lors de la préparation des aliments [34].

## **2- maladies d'origine virales :**

Les infections virales d'origine alimentaire sont provoqués principalement par deux types de virus, les Norovirus [ancien nommé en tant que les virus comme un Norwalk (NLV)] qui entraînent une gastro-entérite et les virus de l'hépatite A et E qui entraîne l'hépatite [59].

### ➤ **Les gastro-entérites :**

Les gastro-entérites virales sont des infections extrêmement fréquentes, de courte durée, caractérisées cliniquement par des troubles digestifs aigus (nausées, vomissements, diarrhée hydrique), accompagnés des signes généraux habituellement discrets. Elles surviennent surtout chez l'enfant dans un contexte épidémique et saisonnier. Elles atteignent parfois l'adulte de façon sporadique. Qui sont transmis par voie oro-fécale, soit par contact direct de personnes à personnes ou indirectement par l'eau ou les aliments contaminés ou par des surfaces contaminées dans le milieu environnant [59].

### ➤ **L'hépatite :**

L'hépatite est une maladie qui se caractérise par une inflammation du foie. Elle peut avoir plusieurs causes, tant infectieuses que non infectieuses [54].

L'hépatite virale a une longue période d'incubation de 3 - 6 semaines, avec des symptômes se développant graduellement. Les symptômes comprennent la perte d'appétit, de malaise, de fièvre et de vomissement, suivis de l'ictère. La maladie dure quelques semaines mais peut durer plusieurs mois, et est habituellement plus sévère chez les adultes que les enfants [54].

Les virus d'hépatite se transmettent d'une personne à l'autre par le contact avec des matières fécales. Le contact peut être direct (par exemple, lorsqu'on change la couche d'une personne infectée) ou indirect (par exemple, en mangeant un aliment manipulé par quelqu'un qui ne s'est pas lavé les mains). Une personne peut porter un virus d'hépatite sans manifester de symptômes et le transmettre à d'autres personnes ou encore à des aliments ou à des surfaces de préparation d'aliments [54].

Les méthodes de diagnostic (moléculaires) pour la plupart de ces virus ne sont pas disponibles ordinairement dans les laboratoires de microbiologie alimentaire, mais seulement dans le cas des spécimens de selles les virus peuvent être détectés par microscope électronique (tous les virus), des dosages immunitaires [59].

Les mesures préventives diffèrent selon les différentes voies de transmission, l'hygiène personnelle est essentielle dans la prévention de l'intoxication virale alimentaire, et comprend des lavages de mains fréquents et le port de gants [53].

### **3- maladies d'origine parasitaires :**

Les maladies parasitaires d'origine alimentaire sont liées à la consommation d'un aliment contenant les formes larvaires ou adultes d'un parasite qui va poursuivre son cycle évolutif chez l'être humain [5].

Au total, on estime le nombre de cas de maladies parasitaires d'origine alimentaire à environ 110000 chaque année en France. Le téniasis et la toxoplasmose sont les deux maladies principales et représentent plus de 99% des cas [5].

Elles transmettent par les légumes et les plantes aromatiques (surtout souillés de terre) infectés par les œufs des parasites qui contaminent par leur rôle les plans de travail et les ustensiles des cuisines, elles peuvent également survenir par la manipulation des aliments par des porteurs. Pour prévenir de ces parasitoses dans les restaurants collectifs il faut respecter les règles de bonne pratique d'hygiène [5].

### **III- L'hygiène dans les restaurations collectives :**

L'industrie alimentaire et la restauration collective comportent un risque élevé d'intoxications alimentaires. C'est pourquoi, dans ces secteurs d'activité, l'hygiène alimentaire constitue l'ensemble des conditions et des mesures nécessaires pour maîtriser les dangers biologiques, chimiques et physiques, et garantir la sécurité alimentaire et la salubrité des aliments à toutes les étapes de la chaîne alimentaire depuis la production primaire jusqu'au consommateur [68].

#### **1-Hygiène des locaux :**

Les locaux dans lesquels sont préparés des aliments à l'exclusion des installations utilisées pour les activités de distribution et de restauration non sédentaires ou occasionnelles, doivent comporter des surfaces (revêtements de sols, surfaces murales, portes, plafond) construites en matériaux étanches et non absorbants. Ils sont faciles à laver et à désinfecter afin de limiter les risques de contamination [36].

D'une manière générale leurs surfaces doivent être lisse, sans rugosités, sans rebords ni recoins et les angles doivent être arrondis de manière à éviter l'accumulation des détritiques et des restes alimentaires [25].

Il faut également nettoyer, désinfecter les sols et les plans de travail après chaque utilisation veiller à la propreté des siphons d'évacuation des eaux et l'utilisation des lavettes à la place d'éponges [25].

Aussi le lavage des murs doivent être effectué environ 1 fois par semaine (à hauteur d'homme) [25].

### **2-Hygiène du matériel :**

Tous les matériels en contact avec les denrées alimentaires (tables, surfaces de découpes, récipients, ustensiles) doivent être faciles à nettoyer et à désinfecter. Les ustensiles de cuisine doivent être lavés au fur et à mesure de leur emploi avec de l'eau chaude additionnée de produits détergents autorisés comme les détergents alcalins (soude caustique...), les détergents acides (acide chlorhydrique ...) et les détergents tensioactifs ou agents de surface (savon, ...), suivi d'un abondant rinçage, d'un séchage ou égouttage excluant l'essuyage [25].

Les tables à découper ou à préparer sont tenues constamment propres et lavées une fois/J [25].

Les matériaux utilisés doivent être lisses, lavables, résistants à la corrosion et non toxiques. Le bois est à proscrire ainsi que les matériaux rouillés, oxydés et non étanches [68].

Parmi les meilleurs matériaux qui ne permettent pas l'adhésion des microorganismes et la formation des biofilms il ya le cuivre qui est un métal dont on connaît les propriétés antibactériennes depuis l'ancienne, et l'acier inoxydable qui est plus facile à désinfecter que le caoutchouc et le plastique [22].

### **3-Hygiène du personnel :**

La sécurité alimentaire en restauration dépend pour une grande part du niveau de maîtrise de l'hygiène du personnel dans l'établissement. Les dangers de contamination des aliments par le personnel proviennent essentiellement des aléas de son état de santé [22].

Le personnel doit avoir une tenue vestimentaire propre et adaptée. Les tenues professionnelles nettes sont stocké à l'abri des souillures, il est interdit de fumer dans les lieux où sont manipulées et préparées les denrées alimentaires [60].

Le lavage des mains doit se faire avec un savon bactéricide ; leur séchage se fait avec un essuie-mains hygiénique, éventuellement dès la prise du travail et à chaque reprise et après le passage aux toilettes [18].

### **4-Hygiène des denrées alimentaires :**

Les produits alimentaires doivent être lavés, nettoyés, désinfectés au besoin, traités, cuits aux fins de distribution et de consommation .Chacune de ces étapes, suivant les risques liés : au milieu dans lequel le travail se déroule ; au matériel utilisé ; à la main-d'œuvre et aux manipulations et la méthode de travail [18].

# Partie expérimental

# Chapitre III

*Matériels et methods*

**Matériel et méthodes :****I-Matériel:**

Le matériel, les milieux de cultures, Les réactifs, les colorants et les appareillages utilisés dans la partie expérimentale seront cités au fur et à mesure de leur utilisation.

**II-Méthodes :****1-Cadre d'étude :**

Notre travail a porté sur l'isolement et l'identification des microorganismes à partir des surfaces et des ustensiles de deux restaurants collectifs différents. (Figure n°2)

-Le premier est un restaurant universitaire.

-Le deuxième est un restaurant scolaire.

Les deux restaurants se trouvent au niveau de la wilaya de Guelma.

Nos analyses ont été effectuées au niveau de laboratoire de microbiologie du département de biologie à l'université 08 mai 1945 de Guelma.

**2-Échantillonnage et techniques de prélèvement :****2.1- Échantillonnage :**

Les surfaces et les ustensiles analysés des deux restaurants sont représentés dans le tableau 1.

Nous avons choisie ces points puisqu'elles sont en contact direct avec les aliments également avec le consommateur et le manipulateur.

**Remarque :** Les prélèvements ont été effectués au moment de la préparation des plats.

**Tableau 1 : Présentation des points de prélèvement.**

<b>Restaurants</b>	<b>Numéro de prélèvement</b>	<b>Points de prélèvement</b>	<b>matériaux</b>
<b>R1</b>	<b>P 1</b>	Cuillère	Inox
	<b>P 2</b>	Plateau	Inox
	<b>P 3</b>	Porte-cuillère	plastique
	<b>P 4</b>	Table	bois
<b>R2</b>	<b>P 1'</b>	Marmite	Aluminium
	<b>P 2'</b>	Coupeuse	Inox
	<b>P 3'</b>	Plan de travail	marbre
	<b>P 4'</b>	Tasse	Inox

**Restaurant 1**



**P 1**



**P 2**



**P 3**



**P 4**

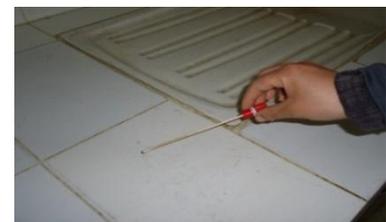
**Restaurant 2**



**P 1'**



**P 2'**



**P 3'**



**P 4'**

**Figure n°2: Les points analysés dans les deux restaurants**

## 2.2- Technique de prélèvement :

Dans le but de faire une recherche qualitative et semi-quantitative, nous avons fait recours à la méthode d'écouvillonnage humide :

- Humidifier les écouvillons avec l'eau distillée stérile pour faire une étude semi-quantitative et avec l'eau peptonée tamponnée pour la recherche qualitative.
- Frotter l'écouvillon sur la surface ou l'ustensile, en stries parallèles.
- Placer ces tubes dans une glacière et acheminé au laboratoire [19].

### Remarque :

Pour l'analyse semi-quantitative, nous avons effectué un écouvillonnage d'une surface de 50 cm<sup>2</sup> [19].

## 2.3-Identification, transport et conservation des échantillons :

Les échantillons prélevés doivent être clairement identifiés. Chaque écouvillon doit porter une étiquette indiquant :

- La date.
- Le lieu de prélèvement (nom de restaurant).
- Le numéro de prélèvement [58].

Les échantillons ont été acheminés au laboratoire dans une glacière pendant une durée qui n'a pas dépassée une heure

## 3-Méthode d'analyse :

### 3.1-Analyse semi-quantitative :

Cette analyse a été effectuée seulement pour les prélèvements P4 et P3'.

- **Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale** :(Schéma n°1)

Le dénombrement de la microflore totale a été réalisé sur milieu GN à une température de 37°C.

### Technique :

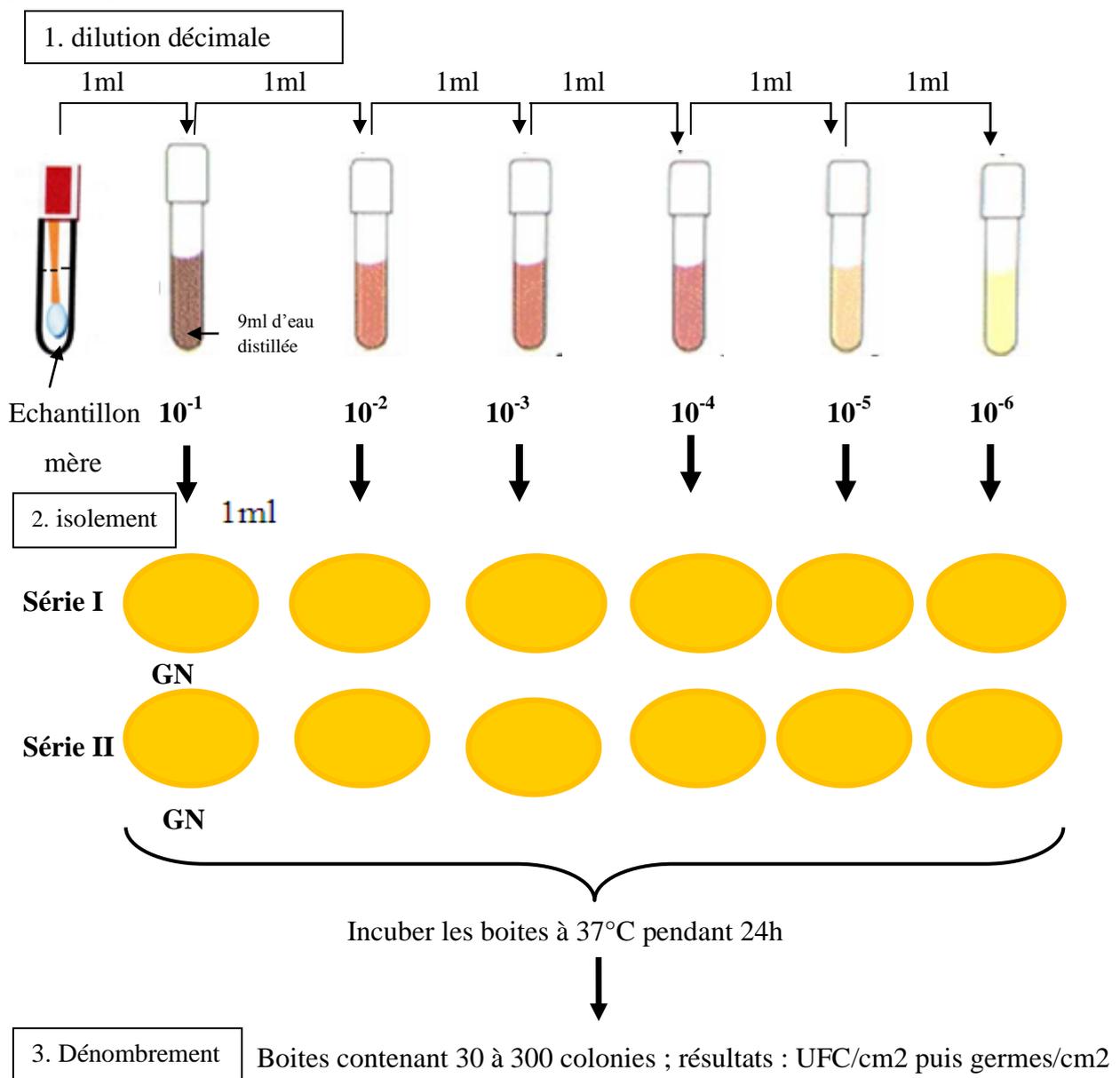
- A partir de l'échantillon mère nous réalisons une séries de dilution décimale en reportant 1 ml de chaque échantillon dans 9 ml d'eau physiologique stérile jusqu'à la dilution 10<sup>-6</sup>.
- Couler le milieu GN préalablement fondue et maintenu en surfusion à 45°C dans les boîtes de Pétri.
- Ensemencer le milieu de culture par étalement à l'aide d'un râteau avec 1 ml de chaque dilution à raison de deux boîtes par dilution.
- Incuber les boîtes à 37°C pendant 24 heures [63].

**Lecture :**

Après incubation, on procède au dénombrement des UFC en choisissant, dans tous les cas, seulement les boîtes contenant une population comprise entre 30 à 300 UFC [63].

Lorsque le nombre de colonies est compris entre 30 à 300, on calcule pour chaque dilution ayant donné ce résultat, le nombre moyen de colonies, en effectuant la moyenne du nombre trouvé pour chaque boîte de la même dilution. On arrondit de manière à n'avoir que deux chiffres significatifs et on multiplie par l'inverse du taux de dilution [63].

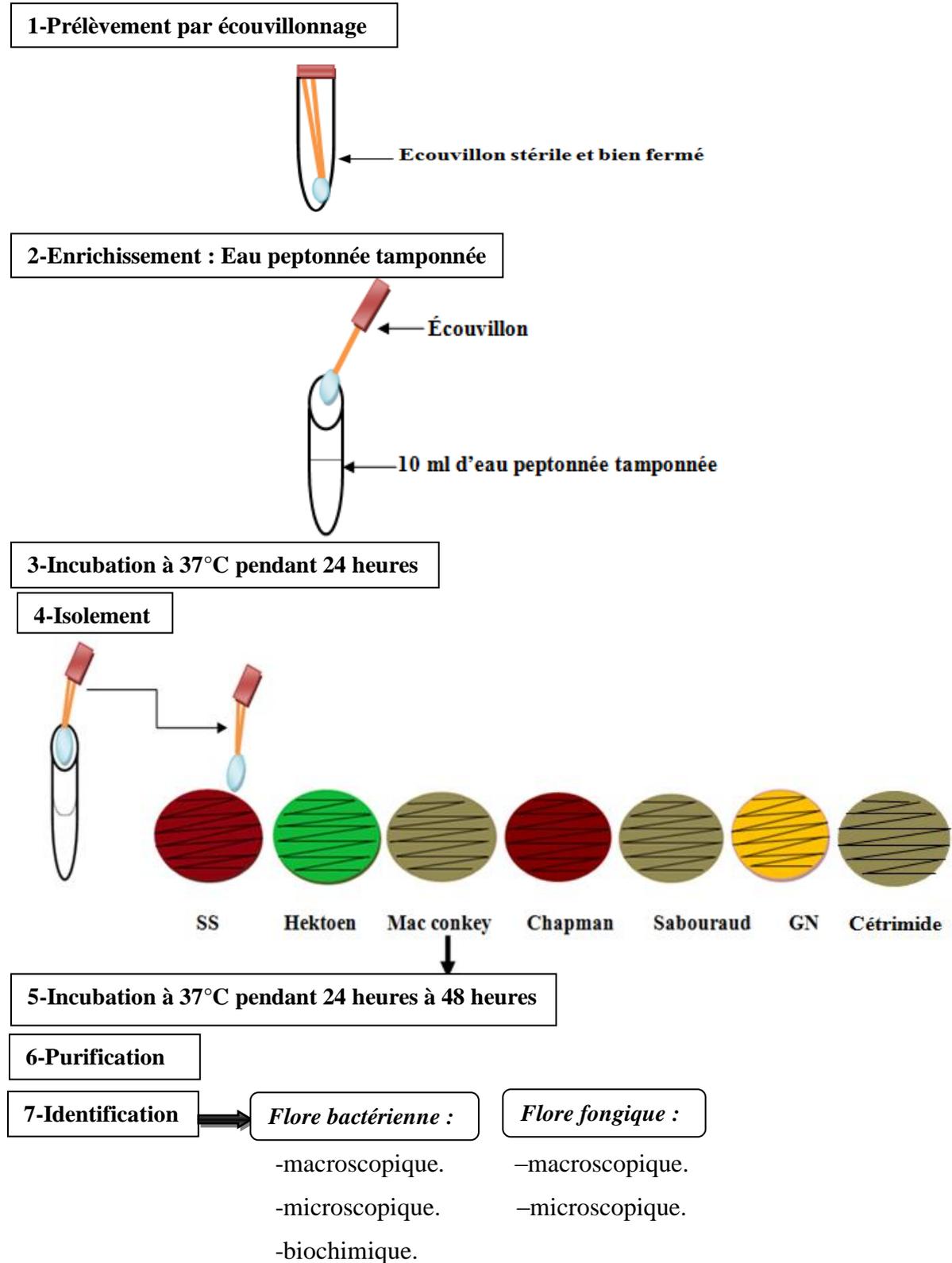
On effectue ensuite la moyenne des valeurs provenant des diverses dilutions utilisables si leur rapport n'excède pas deux, sinon on prend le nombre le plus faible. Le résultat est exprimé par « X germes/cm<sup>2</sup> » [63].



***Schéma 01: Technique de dénombrement de la flore mésophile aérobie totale***

**3.2-Analyse qualitative :**

L'analyse qualitative a été réalisée pour tous les prélèvements selon le protocole représenté dans le schéma n°2 :



*Schéma n°2 : Le protocole expérimental de l'analyse microbiologique des surfaces et ustensiles des restaurants.*

### 3.2.1-Enrichissement :

Après avoir effectués les différents prélèvements, les écouvillons sont introduits dans des tubes d'eau peptonée tamponnée. (Figure n°3)

Les tubes sont ensuite acheminés au laboratoire où ils ont incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures [58].

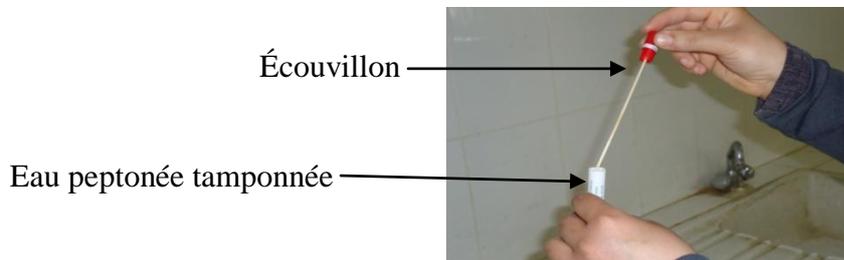


Figure n°3 : Méthode d'enrichissement

### 3.2.2-Isolement :

A partir des milieux d'enrichissement nous avons ensemencé différents milieux de culture gélosés afin d'isoler le maximum des microorganismes qui peuvent être présents [58].

L'ensemencement a été effectuée par des stries transversales sur des boîtes de pétri contenant les géloses suivantes : (Schéma n°2)

#### ❖ Gélose nutritive :

Qui est utilisée dans le cadre de la culture d'une grande variété de microorganismes. L'utilisation de ce milieu doit conduire à l'obtention de colonies bien isolées [74].

#### ❖ Gélose Hektoen :

C'est le milieu de choix pour l'isolement des entérobactéries pathogènes. Ce milieu permet une première orientation quant à l'identification de l'espèce isolée sur la base de l'attaque de trois glucides : lactose, salicine et saccharose. Une différenciation supplémentaire qui se traduit par des colonies à centre noir du à la formation de sulfure de fer [46].

#### ❖ Gélose Chapman :

Le milieu de Chapman est un milieu sélectif. La culture sur ce milieu met en évidence uniquement les bactéries qui cultivent en milieu hypersalé. En effet, sa forte concentration en chlorure de sodium (75g.L-1) ralentit la croissance de la majorité des bactéries, à l'exception des halophiles (organismes qui ont un besoin et/ou résistent de fortes concentrations en sel). Parmi ces germes, on retrouve les bactéries du genre *Staphylococcus*, mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, les *Bacillus*, et de rares bactéries à Gram négatif [58].

**❖ Gélose Mac conkey :**

Milieu sélectif pour l'isolement des bacilles Gram négatifs, *Salmonella* et *Shigella* ainsi que des bactéries coliformes [75].

**❖ Gélose SS :**

Milieu sélectif permettant l'isolement d'entérobactéries pathogènes. Il est très utilisé pour la recherche de *Salmonella* et *Shigella* [75].

**❖ Gélose cétrimide :**

La gélose au cétrimide est un milieu sélectif, qui permet l'isolement des *Pseudomonas* et notamment de *Pseudomonas aeruginosa*. Ce milieu gélosé est relativement pauvre, et contient un antiseptique : le cétrimide (bromure de N-acétyl-N, N, N-triméthylammonium) [58].

**❖ Gélose Sabouraud :**

La gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes. Elle est recommandée essentiellement pour l'isolement des moisissures dans les prélèvements peu chargés en bactéries [75].

**Remarque :** L'ensemencement sur le milieu sabouraud est effectué par touche.

**3.2.3-Purification :**

Les colonies suspectes repérées sur les milieux d'isolement sont sélectionnées, puis repiquées sur des géloses.

Le but de cette opération est la purification des souches et l'obtention de cultures pures qui serviront au processus d'identification ultérieur [50].

**3.2.4-Identification :****• Flore bactérienne :****➤ Aspect macroscopique :**

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. C'est l'étude de l'aspect des colonies qui dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température de l'incubation (la taille, la forme, la couleur, la consistance sont caractéristiques de chaque espèce) [37].

**➤ Aspect microscopique :**

L'observation microscopique permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce microbienne.

Elle comprend l'examen à l'état frais (examen entre lame et lamelle des bactéries vivantes) et l'examen après coloration (le plus souvent sur frottis séchés et fixés) [37].

**✓ Etat frais :**

L'examen microscopique à l'état frais permet d'apprécier à la fois la forme, le mode de regroupement et la mobilité des bactéries isolées [37].

**Technique :**

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame.
- Prélever à l'aide d'une anse de platine une fraction de la colonie sur milieu gélosé.
- Effectuer une suspension homogène dans la goutte d'eau physiologique en incorporant l'inoculum.
- Recouvrir d'une lamelle en évitant la formation de bulle d'air.

La lecture s'effectue à faible luminosité à l'objectif X10 puis X40 [37].

**✓ Examen après coloration :****❖ coloration de Gram :**

Cette technique a pour but de déterminer l'aspect microscopique de la bactérie et la nature de sa paroi (Gram positif et Gram négatif, on peut observer la disposition des germes et leur morphologie (cocci, bacille, cocobacille) [9].

**❖ Mode opératoire :**

- Réaliser un frottis et le fixer à la flamme.
- Verser le Violet de Gentiane sur la lame ; laisser en contact 1 minute.
- Ajouter le colorant et finir de la chasser par la solution de lugol ; laisser agir environ 1 min.
- laver à l'eau et faire couler de l'alcool sur la préparation ; rincer immédiatement à l'eau.
- Recolorer la préparation avec la fushine, laissé agir environ 30secondes. Laver abondamment.
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.
- observer au microscope à l'immersion après avoir déposer une goutte de l'huile de cèdre au centre de la lame(X100) [9].

**❖ Lecture :**

A l'issue de cette coloration, on peut distinguer :

- Des bactéries colorées en violet foncé ; elles ont gardé le violet, elles sont dites 'Gram positif' ;
- Des bactéries colorées en rose ou rouge pâle ; elles ont perdu le violet, elles sont dites « Gram négatif » [9].

➤ **Etudes des caractères biochimiques :**

✚ **Les entérobactéries :**

**A-Les enzymes respiratoires :**

• **Test Oxydase :**

L'oxydase, appelée aussi la phénylène diamine oxydase, est une enzyme permettant d'oxyder les dérivés méthylés du paraphénylène diamine (famille des cytochromes). Ce réactif est incolore et en présence de l'enzyme, il libère un composé rose-rouge, noircissant à l'air. Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram <sup>-</sup> [59].

**Techniques :**

- Déposer un disque pré-imprégné par le réactif N diméthylparaphénylène diamine (disque oxydase) sur une lame propre.
- Imbiber le disque d'une goutte d'eau distillée stérile.
- Déposer au dessus une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Etaler la colonie sur le disque.
- Atteindre 3 à 5 secondes [37].

**Lecture :**(Figure n°4)

- Si la colonie prend une teinte rose, violette. Le germe possède une oxydase : le test est positif.
- Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase, le test est négatif [37].



*Aspect du test négatif*



*Aspect du test positif*

**Figure n°4 : Test de l'oxydase [76].**

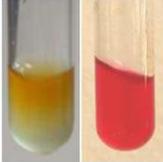
**B-Identification biochimique :**

Dans notre travail nous avons effectué l'identification biochimique de certaines souches par l'API20E et pour d'autres par la galerie classique à cause du manque des moyens [24].

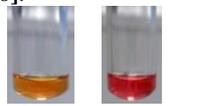
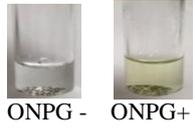
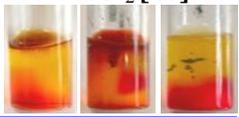
▪ **La galerie biochimique classique :**

La galerie biochimique classique utilisée dans notre travail est représentée dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Les caractères de la galerie biochimique classique.

Milieu	Principe	Technique	Résultats
<b>TSI</b> (tri-sugar-iron)	Est un milieu sous forme d'un tube semi-incliné avec un culot, qui permet la recherche de: utilisation du glucose, utilisation du lactose, production H <sub>2</sub> S, production de gaz et recherche de la LDC [24].	-Ensemencer abondamment la surface par des stries serrées, puis le culot par simple piqûre. -Mettre à l'étuve 24h à 37°C [24].	-Virage de la couleur vers le jaune : glucose, lactose et saccharose positif. -Formation de tache noire H <sub>2</sub> S+ -bulles de gaz dans le culot, parfois même une surélévation de la gélose : Gaz+ [24].
<b>Citrate de Simmons</b>	Il permet de vérifier si la bactérie testée est capable d'utiliser le citrate comme seule source de carbone. Le milieu utilisé est sous forme d'un tube semi incliné avec un culot [75].	La pente estensemencée par une strie longitudinale, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile. Ainsi l'ensemencement à partir d'une souche pure fournie en bouillon nutritif ou en eau peptonée est impossible. Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C [75].	Virage de l'indicateur de pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons +. - Pas de virage de l'indicateur de pH : il n'y a pas eu alcalinisation. La souche est citrate de Simmons - [40].  Négatif (-) positif (+)
<b>Clarck et lubs</b>	La fermentation du glucose par la voie du butane-diol se traduit par une faible acidification du milieu ainsi que par la formation d'acétoïne. En présence d'énaphthol en milieu basique, l'acétoïne forme un composé rose : réaction de Vosges-Proskauer (VP) [81].	Ensemencer largement. Incuber 24 h à t°C optimale. * test VP : - ajouter 10 gouttes d'alpha naphthol et le même volume de soude concentrée (ou de potasse). - incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation. - attendre quelques min à 1 heure. * test RM : ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyl, la lecture est immédiate [75].	-La formation d'un anneau rouge signifie VP+. -L'absence d'un anneau rouge signifie VP-.  VP- VP+ -Le virage de couleur du milieu au rouge signifie RM+. -L'absence du virage de couleur du milieu au rouge signifie RM-.  RM- RM+
<b>Mannitol-mobilité</b>	L'étude de la dégradation du mannitol et l'appréciation de la mobilité sont réalisés sur le milieu Mannitol-mobilité qui est un milieu semi solide [41].	-ensemencer le milieu par piqure centrale à l'aide d'un fil droit chargé de la suspension bactérienne préparée préalablement. -incuber 24 h à 37°C [41].	-fermentation du mannitol : *virage de la couleur du milieu du rouge au jaune : le test mannitol est positif. *pas de virage de la couleur du milieu : le test mannitol est négatif. -la mobilité : se traduit par un envahissement plus ou moins grand à partir de la piqûre central [41].

Suite du tableau 2 :

Urée-indole	<p><b>Test uréase :</b> l'uréase, enzyme hydrolysant l'urée, activité directement détectable par le suivi de l'alcalinisation [76].</p>	<p>Faire une suspension en milieu Urée-tryptophane</p> <p>Etuver 24 h à 37°C [76].</p>	<p>La coloration rouge traduit une alcalinisation du milieu, suite à l'hydrolyse de l'urée et formation de carbonate d'ammonium : <b>uréase+</b></p> <p>Si le milieu persiste orange alors pas d'alcalinisation test <b>uréase<sup>-</sup></b> [76].</p>  <p style="text-align: center;">uréase<sup>-</sup>    uréase<sup>+</sup></p>
	<p><b>Test Indole :</b> Certaines bactéries désaminent puis hydrolysent le tryptophane pour donner une molécule d'indole [32].</p>	<p>Ensemencer un milieu urée-indole.</p> <p>Incuber 18 à 24 heures à 37 °C.</p>	<p>Formation d'un anneau rouge : indole +</p> <p>- Absence de coloration rouge : indole <sup>-</sup>. [77]</p>  <p style="text-align: center;">indole <sup>-</sup>    indole <sup>+</sup></p>
	<p><b>Test TDA :</b> le tryptophane désaminase, après addition de chlorure de Fer III. Le Fer III forme un complexe avec le produit de l'activité de la TDA, l'acide indole-pyruvique, complexe décelable par la formation d'un précipité marron [76].</p>	<p>-Faire une suspension en milieu Urée-indole.</p> <p>-Etuver.</p> <p>-Ajouter 2 ou 3 gouttes du réactif de TDA.</p>	<p>Obtention d'un précipité brun foncé : <b>TDA<sup>+</sup></b></p> <p>- Absence de précipité: <b>TDA<sup>-</sup></b> [76].</p>
Test ONPG	<p>Le test se pratique uniquement chez les bactéries lactose <sup>-</sup> en 24 h sur milieu solide [32].</p>	<p>Réaliser une suspension du germe à étudier dans de l'eau physiologique contenant une solution tamponnée d'ONPG.</p> <p>Incuber à 37 °C après avoir éventuellement ajouté une goutte de toluène [32].</p>	<p>-Apparition d'une coloration jaune : bactérie ONPG+</p> <p>-Absence de coloration, bactérie ONPG<sup>-</sup> [76].</p>  <p style="text-align: center;">ONPG <sup>-</sup>    ONPG<sup>+</sup></p>
Test nitrate-réductase	<p>Le nitrate réductase est un enzyme (un complexe enzymatique en réalité) qui est capable de catalyser la réaction de réduction des nitrates (NO<sub>3</sub>) [83].</p>	<p>On utilise un milieu nitraté. La capsule GLU de la galerie API 20 E est également utilisable.</p> <p>Après incubation, ajouter:</p> <p>*Du réactif de Griess (2 gouttes)</p> <p>*Ou une goutte de réactifs :</p> <p>-réactif Nitrites 1 (acide sulfanilique),</p> <p>-réactif Nitrites 2 (α-naphtylamine). -Le réactif de Griess est un mélange des réactifs nitrites 1et 2 [83].</p>	<p>*A/ Milieu rouge orangé :NR+ au stade NO<sub>2</sub><sup>-</sup></p> <p>*B/ Milieu jaune ⇒ ajout de la poudre de zinc</p> <p>*B.1-Milieu rouge : présence de nitrate dans le milieu → NR-.</p> <p>*B.2-Coloration jaune : pas de nitrate dans le milieu → NR+au stade N<sub>2</sub> [83].</p>  <p style="text-align: center;">A    B.1    B.2</p>

➤ **La galerie API 20E:**

✓ **Principe :**

La galerie API 20 E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. (Figure n°5)

Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui constitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs [27].



**Figure n°5: La galerie API20E [77].**

✓ **Technique :**

• **Préparation de la galerie :**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.

- Déposer la galerie dans la boîte d'incubation

Parallèlement, réaliser le test d'oxydase sur une colonie isolée lactose moins [27].

• **Préparation de l'inoculum :**

- Ouvrir une ampoule de suspension Medium (ou eau physiologique stérile sans additif).

- Prélever à l'aide d'une pipette une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.

- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu [27].

• **Inoculum de la galerie :**

- Remplir tubes et cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement.

- Remplir uniquement les tubes et non les cupules des autres tests.

- Créer une anaérobiose dans les tests ; ADH, LDC, ODC, URE, H2S en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine.

- Refermer la boîte et la placer à l'étuve à 35-37 °C pendant 18 à 24 heures [27].

✓ **Lecture de la galerie**

- Après 18-24 heures à 35-37° C, la lecture de la galerie est réalisée en se référant au tableau de lecture.

- Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées.

- Si le glucose est positif, révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.
- Noter les résultats de la galerie et les résultats des tests complémentaires sur la fiche des résultats en se référant au tableau de lecture [27].

✓ **Identification :**

- Avec tableau d'identification : comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau.
- Avec le catalogue analytique : les tests sont regroupés en groupe de trois, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacune. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre de 7 chiffres qui sert de code d'identification.
- À l'aide du logiciel d'identification [27].

✚ **Les Staphylocoques :**

✓ **L'aspect macroscopique :**

Les colonies des Staphylocoques sont petites, plates, rondes, lisses et jeunes sur le milieu Chapman.

- Les colonies mannitol (+) sont entourées d'une auréole jaune.
- Des colonies pigmentées en jaune et mannitol (+) : forte suspicion de *Staphylococcus aureus*.
- Les autres espèces de Staphylocoques donnent généralement des colonies plus petites, rosées et n'entraîne pas de virage du milieu [63].

✓ **L'aspect microscopique :**

L'observation microscopique montre les Staphylocoques en aspect de grappes de raisin : ce sont des cocci à Gram positif [63].

✓ **Recherche des caractères biochimiques :**

❖ **Test de la catalase :**

Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram + [32].

**Principe :**

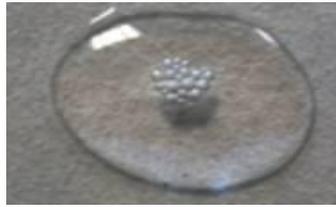
En présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation d'eau oxygénée. La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et oxygène [32].

**Technique :**

Déposer sur une lame de verre une ou deux gouttes d'eau oxygénée à 10 volumes. Prélever à l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur un fragment de colonie et dissocier la culture dans l'eau oxygénée [32].

**Lecture :**

La présence d'une catalase se traduit, en quelques secondes, par la formation de bulles d'oxygène. (Figure n°:6) [32].



**Figure n°6: catalase positive [76]**

❖ **La galerie API Staph :**

API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données.

La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice [79].

➤ **Principe :**

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. (Figure n°7). Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs [79].

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification [79].



**Figure n°7: La galerie API Staph [78]**

➤ **Mode opératoire :**

▪ **Préparation de la galerie :**

La préparation de la galerie se fait de la même manière que celle de l'API 20 E [79].

▪ **Préparation de l'inoculum :**

-Préparer une suspension bactérienne homogène, d'opacité égale à 0,5. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures). Cette suspension doit être utilisée extemporanément [79].

- **Inoculation de la galerie :**

- remplir les tubes de la galerie avec API Staph Mediumensemencé. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube et éviter la formation de bulles au fond des tubes.

-Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

-Incuber à  $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 18-24 heures [79].

- **Lecture**

Après incubation, lire les réactions conformément au Tableau de Lecture [79].

➤ **Identification :**

Avec le tableau d'identification, le catalogue analytique ou bien à l'aide du logiciel d'identification [79].

✚ **Les *Pseudomonas* :**

- ✓ **L'aspect macroscopique :**

*Pseudomonas* donne sur le milieu cétrimide des colonies rondes, petites, convexes et lisses [75].

- ✓ **L'aspect microscopique :**

Les *Pseudomonas* apparaissent à l'examen microscopique : bacille à Gram négatif [75].

- ✓ **Recherche des caractères biochimiques :**

L'identification biochimique des *Pseudomonas* à été réalisés par la galerie classique, qui est procédé précédemment pour l'identification des entérobactéries [75].

Ainsi il ya un test plus spécifique pour l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*, qui consiste à :

**-La recherche des pigments spécifiques (*pyocyanine* et *pyoverdine*) :**

Les milieux King (King A et milieu King B) permettent de différencier entre elles les différences espèces du genre *Pseudomonas*, par la mise en évidence de la production de pigments spécifiques [75].

➤ **Principe :**

L'élaboration des pigments est influencée par la composition du milieu, ce qui justifie l'utilisation de deux milieux différents :

- la production de pyocanine, due spécifiquement à *Pseudomonas aeruginosa*, est favorisée par la présence d'ions inorganiques. La recherche de la production de pyocyanine est effectuée sur milieu King A [75].

- la production de pyoverdine, est favorisée par une teneur élevée en phosphate. La recherche de la production de pyoverdine est effectuée sur milieu King B [75].

➤ **Technique :**

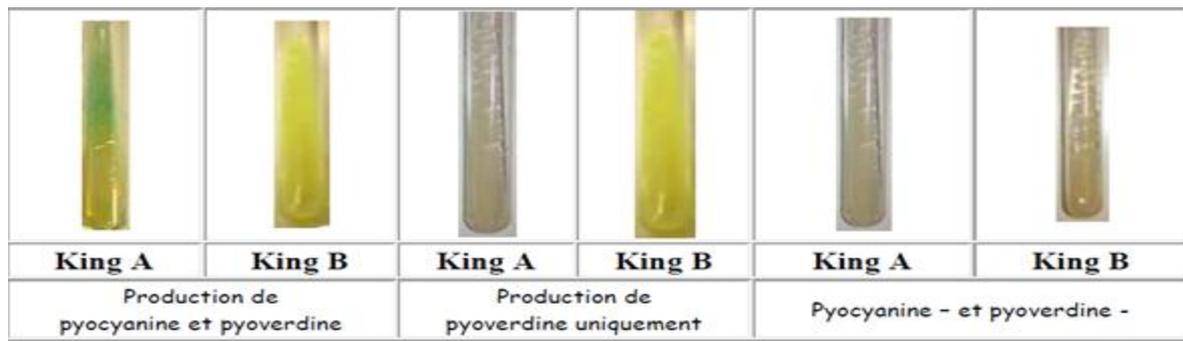
A partir d'une culture sur gélose (faire une suspension en eau distillée) ou dans un bouillon, ensemer le milieu en faisant une strie à la surface de la gélose avec l'anse (ou en déposant une goutte de suspension). L'incubation est réalisée en aérobiose [75].

**Lecture :**

La présence de pigments diffusibles se traduit par l'apparition d'une couleur qui peut diffuser sur toute la pente :(Figure n°8)

- couleur bleue sur le milieu King A (présence de pyocyanine) [75].

- couleur jaune-vert fluorescent sur le milieu King B (présence de pyoverdine) sous UV.



*Figure n°8 : La recherche de pyocyanine et pyoverdine*

• **Flore fongique :**

✚ **Levures et moisissures :**

L'identification de cette flore a été basée sur les caractères macroscopiques et microscopiques des souches obtenus en culture pure [80].

❖ **Caractères macroscopiques :**

- Délai de culture : Levures (24 à 48 heures), Moisissures (2 à 4 jours), Dermatophytes: (6 à 15 jours).
- Aspect de la colonie: plate ou surélevée, plane, plissée ou cratériforme, glabre, plâtreuse, poudreuse, granuleuse, duveteuse ou floconneuse...
- Couleur des colonies au recto et verso.
- Caractéristiques de la surface : duveteuse, poudreuse, granuleuse, glabre...etc [80].

❖ **Caractères microscopiques:**

Noter la présence, l'abondance et la forme des filaments mycéliens, arthrospores, microspores (microconidies), macrospores (macroconidies), formations ornementales (vrilles, organes pectinés, organes nodulaires, chandeliers faviques) [80].

# Chapitre IV

*Résultats et discussion*

**1-Résultat de l'analyse semi-quantitative :**

Le résultat du dénombrement de la flore mésophile aérobie totale après une incubation de 24 h à 37°C est représenté dans le tableau 3.

**Tableau 3 : Résultat du dénombrement de la flore mésophile aérobie totale au niveau des surfaces des deux restaurants**

Site		Unité formant colonies		Nombre des germes	
		UFC/50cm <sup>2</sup>	UFC/cm <sup>2</sup>	g/50cm <sup>2</sup>	g/cm <sup>2</sup>
<b>R 1</b>	<b>P 4 (Table)</b>	82	2	82. 10 <sup>2</sup>	164
<b>R 2</b>	<b>P 3' (Plan de travail)</b>	70	1	70.10 <sup>1</sup>	14

Ces résultats montrent que la table du restaurant1 contient un nombre de colonies supérieures à ceux du plan de travail du restaurant2.

**2- Résultats de l'analyse qualitative :****2.1-Résultats de l'enrichissement :**

Après une culture de 24 heures, nous avons remarqués un trouble au niveau de tous les tubes qui signifie une croissance bactérienne. (Figure n°9)



**Figure n°9 : Résultat de l'enrichissement : présence d'un trouble**

**2.2-Résultats de l'identification des souches bactériennes :****✚ Examen macroscopique :**

Après un temps d'incubation de 24 heures à 37°C, l'aspect macroscopique des colonies poussées sur les milieux utilisés (GN, SS, Hektoen, Mac conkey, Chapman, Sabouraud, Cétrimide) est résumé dans les tableaux 4 et 5.

**Tableau 4 : Résultats de l'aspect macroscopique des colonies obtenues des prélèvements du restaurant (1) (Figure n°10)**

Points Milieux	P1 (Cuillère)	P2 (Plateau)	P3 (Porte-cuillère)	P4 (Table)
<b>GN</b>	-Colonies blanchâtres très petites et bombées.	-Colonies blanchâtres très petites, lisses à contour régulier et bombées.	-Petites colonies blanchâtres, rondes, lisses et bombées.	-Petites colonies blanchâtres, rondes et bombées.
<b>SS</b>	-Virage de couleur du milieu au jaune. -Colonies : petites, incolores à jaunes pâles, sans centre noir et plates.	-Virage de couleur du milieu au jaune. -deux types de colonie : 1-Petites colonies incolores à jaune, plates et sans centre noir. 2-Colonies roses, petites, rondes et bombées.	-Virage du couleur de milieu au jaune. -deux types de colonie : 1-Petites colonies jaunâtres, rondes, et bombées. 2-colonies moyennes roses, rondes et bombées.	-Virage de couleur du milieu au jaune. -deux types de colonie : 1-Petites colonies roses, rondes et bombées. 2-Colonies jaunâtres très petites, rondes et bombées.
<b>Hektoen</b>	-Virage de couleur du milieu au rouge. -deux types des colonies : 1-Colonies : petites, jaunes marron, rondes et bombées. 2-Colonies : petites, vertes et aplaties.	-Virage de couleur du milieu au rouge. -Colonies très petites, jaunes, rondes et bombées.	-Virage du couleur du milieu au rouge. -deux types des colonies : 1-Petites colonies jaunâtres, lisses, rondes, et bombées. 2-Petites colonies vertes, rondes, bombées et muqueuses.	-Virage de couleur du milieu au rouge -Petites colonies jaunâtres, rondes, lisses et bombées.

Suite du Tableau 4 :

<b>Mac-conkey</b>	-absence de virage de couleur du milieu (lac-). -Colonies : blanchâtres et crémeuses.	-Sans virage de couleur du milieu (lac-). -Colonies rondes blanchâtres.	-Virage de couleur du milieu au jaune. -Petites colonies blanchâtres, rondes, bombées et muqueuses.	- absence de virage de couleur du milieu. -Petites colonies blanchâtres, rondes, bombées et crémeuses.
<b>Chapman</b>	-Virage de couleur du milieu au jaune (mannitol+). -Colonies : grandes, jaunes, bombées et muqueuses.	-Virage de couleur du milieu au jaune (mannitol+).-deux types des colonies : 1-Colonies très petites blanchâtres. 2-Quelques petites colonies roses avec centre blanc bombés.	-Virage de couleur du milieu au jaune. -deux types des colonies : 1-Petites colonies roses, rondes, lisses, muqueuses et bombées. 2-Quelques colonies blanchâtres, rondes et bombées.	-Virage de couleur du milieu au jaune. -Très petites colonies jaunâtres bombées et crémeuses.
<b>Cétrimide</b>	-Pas de culture.	-Pas de culture.	-Pas de culture.	-Pas de culture.
<b>Sabouraud</b>	-Colonies : petites, plates, lisses et blanches.	-Colonies très petites plates, lisses et blanchâtres. -Sans virage de couleur du milieu.	-Colonies grandes plates, lisses, Marrons et de consistance crémeuse	-Colonies moyennes plates, lisses et blanchâtres.



GN: P1 P2 P3 P4



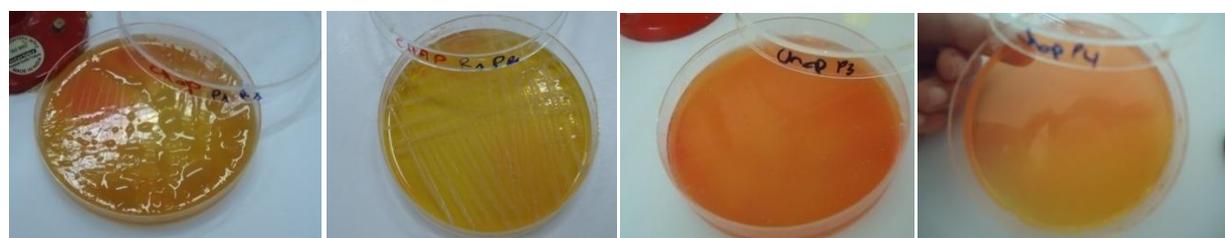
SS: P1 P2 P3 P4



Hektoen: P1 P2 P3 P4



Mac conkey: P1 P2 P3 P4



Chapman : P1 P2 P3 P4



Sabourand: P1 P2 P3 P4

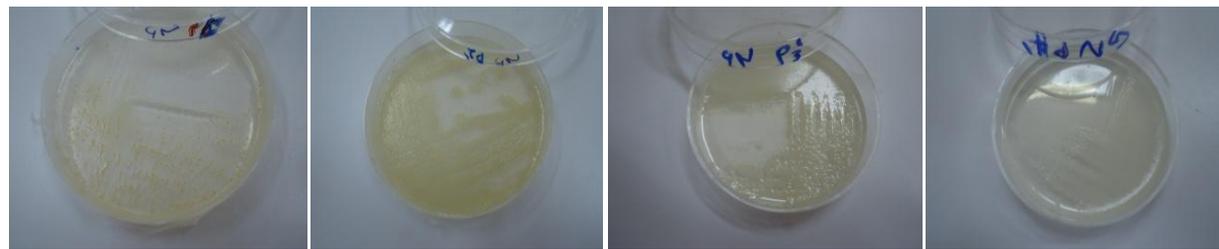
**Figure n° 10 : Aspect macroscopique des colonies obtenues des prélèvements du restaurant (1).**

**Tableau 5: Résultats de l'aspect macroscopique des colonies obtenues des prélèvements du restaurant (2). (Figure n°11)**

Points Milieux	P1' (Marmite)	P2' (Coupeuse)	P3' (Plan de travail)	P4' (Tasse)
<b>GN</b>	-colonies jaunâtres, rondes, lisses et bombées.	-deux types des colonies : 1-Colonies jaunâtres, petites et moyennes. 2-Colonies blanchâtres et rondes.	-Colonies petites, blanchâtres, plates, rondes et lisses.	-absence virage de couleur du milieu. -Colonies petites blanchâtres, rondes, à contour régulier et plates.
<b>SS</b>	-Pas de culture.	-Pas de culture.	-Virage de couleur du milieu au jaune. -deux types des colonies : 1-Colonies petites jaunâtres, rondes et bombées. 2-Colonies moyennes roses, rondes à contour régulier et bombées.	-Pas de culture.
<b>Hektoen</b>	-Pas de culture.	-Virage de couleur du milieu au jaune. -Colonies petites jaunâtres, lisses, bombées, rondes et à contour régulier.	-Virage de couleur du milieu au rouge. -deux types des colonies : 1-Colonies très petites vertes et rondes. 2-Colonies petites jaunâtres, rondes, lisses et crémeuses.	-Pas de culture.

## Suite du tableau 5:

<b>Mac conkey</b>	-Colonies très petites blanchâtres, rondes, lisses, bombées et crémeuses.	-Pas de culture.	-absence de virage de couleur du milieu. -Colonies petites, roses, rondes, lisses et bombées.	-Pas de culture.
<b>Chapman</b>	-Virage de couleur du milieu au jaune. -Colonies petites, blanchâtres, rondes, bombées et crémeuses	-Virage de couleur du milieu au rouge. - deux types des colonies : 1-Colonies jaunâtres, moyennes, bombées, rondes et muqueuses. 2-Colonies roses très petites, lisses et rondes.	-Virage de couleur du milieu au jaune. -Colonies très petites, jaunâtres et crémeuses.	-Virage de couleur du milieu au jaune. -Colonies petites jaunâtres, rondes, plates et muqueuses.
<b>Cétrimide</b>	-Pas de culture.	-Pas de culture.	-Pas de culture	-Pas de culture.
<b>Sabouraud</b>	Colonies : blanchâtres, petites, plates, lisses et de consistance crémeuse.	-Colonies : plates, petites, lisses et blanchâtres.	-Colonies : petites, plates, lisses et blanches.	-Pas de culture.



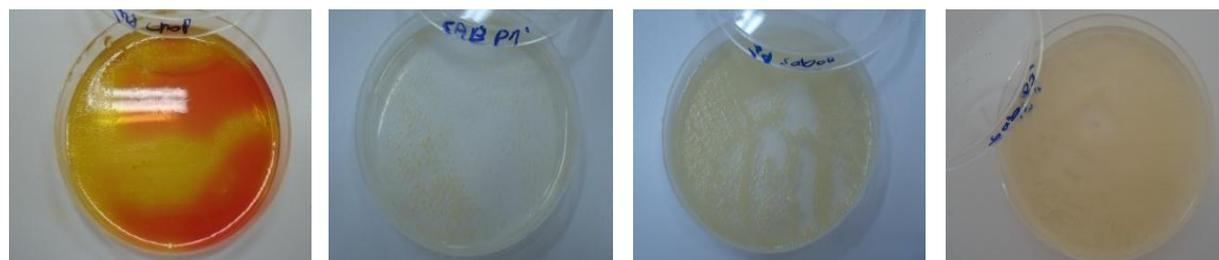
GN: P1' P2' P3' P4'



SS: P3' Hektoen: P2' P3' Mac conkey: P1'



Mac conkey: P3' Chapman: P1' P2' P3'



Chapman: P4' Sabouraud : P1' P2' P3'

**Figure n° 11 : Aspect macroscopique des colonies obtenues des prélèvements du restaurant (2).**

 **Examen microscopique :**

Les résultats de l'état frais et de la coloration de Gram sont résumés dans les deux tableaux suivants :

**Tableaux 6 : Résultats de l'examen microscopique des colonies obtenues à partir des prélèvements du restaurant (1).**

Points de prélèvement	Milieu de culture	Etat frais	Coloration de Gram
<b>P1</b> (Cuillère)	<b>GN</b>	-Bacilles immobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup> (Fig.12 : A)
	<b>SS</b>	- Bacilles immobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>Hektoen</b>	-Bacilles immobiles. -Cocobacilles immobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup> -Cocobacilles à Gram <sup>-</sup> (Fig.12 : B)
	<b>Mac-conkey</b>	Bacilles en chainettes immobiles.	- Bacilles Gram <sup>-</sup>
	<b>Chapman</b>	-Cocci en grappe de raisin immobiles.	-Cocci à Gram <sup>+</sup> (Fig.12 : C)
	<b>Sabouraud</b>	-Filaments non cloisonnés courtes. (Fig.13 : C)	/
<b>P2</b> (Plateau)	<b>GN</b>	-Bacilles immobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>SS</b>	-Bacilles immobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>Hektoen</b>	-Bacilles mobiles.	-Bacilles Gram <sup>-</sup>
	<b>Mac conkey</b>	- Bacilles mobiles.	-Bacilles Gram <sup>-</sup>
	<b>Chapman</b>	-Cocci en grappe de raisin immobiles.	-Cocci à Gram <sup>+</sup>
	<b>Sabouraud</b>	-Des formes rondes à ovoïdes. (Fig.13 : B)	/
<b>P3</b> (Porte-cuillère)	<b>GN</b>	-Bacilles en chainettes immobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>SS</b>	-Bacilles mobiles. -Cocobacilles mobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup> -Cocobacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>Hektoen</b>	-Bacilles mobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>Mac conkey</b>	-Bacilles mobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>Chapman</b>	-Cocci en amas immobiles.	-Cocci à Gram <sup>+</sup>
	<b>Sabouraud</b>	-Filaments ramifiés et des formes ovoïdes	/
<b>P4</b> (Table)	<b>GN</b>	-Bacilles en chainettes immobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>SS</b>	-Bacilles mobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>Hektoen</b>	-Bacilles et cocobacilles mobiles.	-Bacilles et cocobacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>Mac conkey</b>	-Bacilles et cocobacilles qui sont mobiles.	-Bacilles et cocobacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>Chapman</b>	-Cocci diplocoques immobiles.	-Cocci à Gram <sup>+</sup>
	<b>Sabouraud</b>	-Des formes rondes à ovoïdes.	/

(/) :Examen n'est pas réalisée

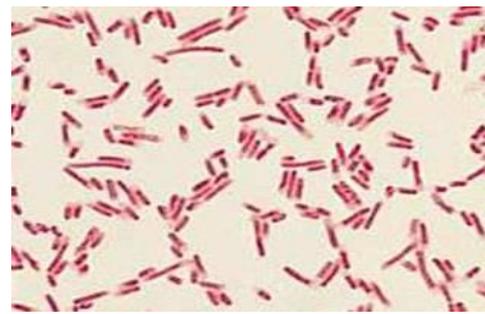
**Tableaux 7 : Résultats de l'examen microscopique des colonies obtenues à partir des prélèvements du restaurant (2).**

Points de prélèvement	Milieu de culture	Etat frais	Coloration de Gram
<b>P1'</b> (Marmite)	<b>GN</b>	-Bacille mobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>Mac conkey</b>	-Bacille immobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>Chapman</b>	-Cocci en courte chainettes immobiles.	-Cocci à Gram <sup>+</sup>
	<b>Sabouraud</b>	-Des filaments non cloisonnés avec la présence des formes rondes à ovoïdes.	/
<b>P2'</b> (Coupeuse)	<b>GN</b>	-Bacilles mobiles. -Cocci immobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup> -Cocci à Gram <sup>+</sup>
	<b>Hektoen</b>	-Bacilles mobiles.	-Bacilles Gram <sup>-</sup>
	<b>Chapman</b>	-Cocci en amas immobiles.	-Cocci à Gram <sup>+</sup>
	<b>Sabouraud</b>	-Des formes rondes à ovoïdes. (Fig.13 : A)	/
<b>P3'</b> (Plan de travail)	<b>GN</b>	-Bacilles mobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>SS</b>	-Bacilles en chainettes et mobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>Hektoen</b>	-Bacilles immobiles.	-Bacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>Mac conkey</b>	-Bacilles et Cocobacilles qui sont mobiles.	-Bacilles et Cocobacilles à Gram <sup>-</sup>
	<b>Chapman</b>	-Cocci en grappe de raisin immobiles.	-Cocci à Gram <sup>+</sup>
	<b>Sabouraud</b>	-Filaments non cloisonnés courtes.	/
<b>P4'</b> (Tasse)	<b>GN</b>	-Cocci immobiles.	-Cocci à Gram <sup>+</sup>
	<b>Chapman</b>	-Cocci en grappe de raisin immobile.	-Cocci à Gram <sup>+</sup>

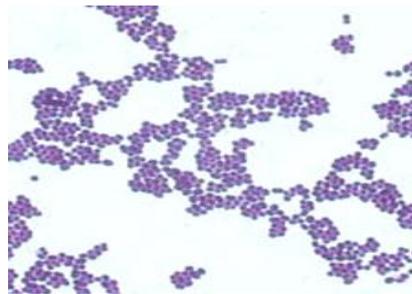
(/) : Test n'est pas réalisée



(A) Bacille à Gram négatif

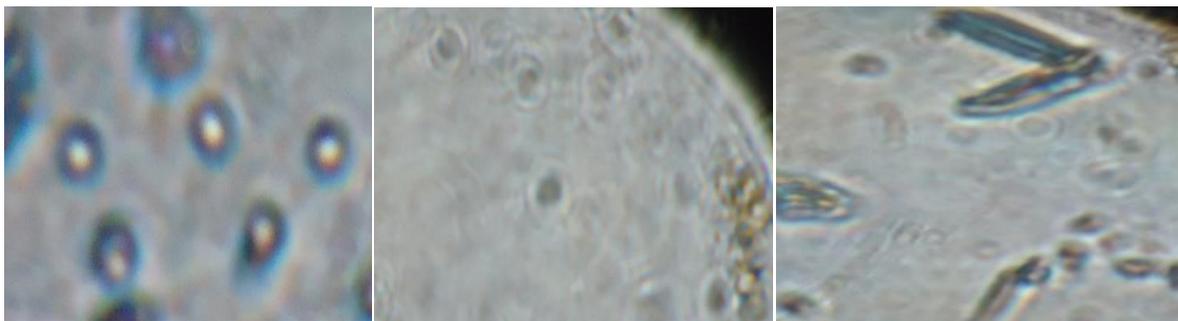


(B) Cocobacilles à Gram-



(C) Cocci à Gram positif

Figure n°12 : Observation microscopique après coloration de Gram (×100).



(A)

(B)

(C)

Figures n°13: L'observation microscopique des colonies poussées sur sabouraud

**Examens liés aux caractères biochimiques :**

Nous avons étudié les caractères biochimiques de 24 souches bactériennes dans les deux restaurants. Nous avons nommés ces souches : S1, S2, S3..... S24.

**2.2.1-Pour les Entérobactéries :**

➤ **Résultats obtenus par la Galerie biochimique classique :**

Les résultats des caractères biochimiques obtenus par l'ensemencement de la galerie biochimique classique pour l'identification de différentes souches des entérobactéries sont représentés dans le tableau 8 :

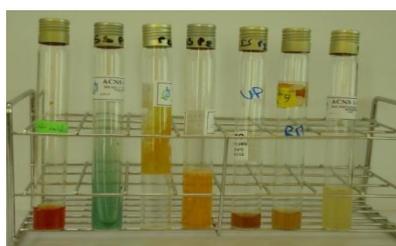
**Tableau 8: Les caractères biochimiques des espèces identifiées à partir des prélèvements du restaurant (1).**

Test Site		TSI					Citrate de Simmons	Mannitol-mobilité		Urée indole			Clark et lubs		ONPG	Enzymes respiratoires	
		H <sub>2</sub> S	Gaz	Glu	Lac	Sac		MAN	MOB	URE	IND	TDA	VP	RM		OX	CAT
Points	Souches																
P 1 (cuillère)	S1	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	S2	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+
	S3	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+
	S4	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+
	S5	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+
	S6	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-

A partir des caractères biochimiques obtenus nous pouvons conclure que les souches identifiées sont les suivantes : (Tableau 9)

**Tableau 9 : Les souches identifiées à partir des prélèvements P1 et P2.**

Site de prélèvement		N° de souche	Noms des espèces
R1	Cuillère (P1)	S1(SS)	<i>Shigella spp</i>
		S2 (Hektoen)	<i>Klebsiella oxytoca</i>
		S3 (Mac conkey)	<i>Escherichia coli</i> (Fig n°14)
		S4 (Hektoen)	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	Plateau (P2)	S5 (Mac conkey)	<i>Klebsiella pneumonia</i> (Fig n°14)
		S6 (Hektoen)	<i>Enterobacter gergoviae</i>



*Klebsiella pneumonia*



*Escherichia coli*

**Figure n°14 : Les résultats des caractères biochimiques de certaines souches d'entérobactéries**

➤ **Résultats des Galeries API20E :**

Les résultats des galeries API20E pour l'identification des différentes souches des Entérobactéries sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 10 : Résultats des galeries API20E**

Site de prélèvement		N° de souche	Code	Noms des espèces
R1	Porte- Cuillère (P3)	S7 (Hektoen)	7305573	<i>Enterobacter cloacae</i> (Fig n°15)
		S8 (Hektoen)	7305773	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	Table (P4)	S9 (Hektoen)	5304773	<i>Serratia fonticola</i>
		S10 (Mac conkey)	7305573	<i>Enterobacter cloacae</i>
R2	Marmite (P1')	S11 (GN)	3307577	<i>Enterobacter sakazakii</i> (Fig n°16)
	Coupeuse (P2')	S12 (Mac conkey)	7305573	<i>Enterobacter cloacae</i>
		S13 (GN)	3307577	<i>Enterobacter sakazakii</i>
	Plan de travail (P3')	S14 (Mac conkey)	7305573	<i>Enterobacter cloacae</i>
		S15 (GN)	3207577	<i>Serratia ficaria</i>
Tasse (P4')	S16 (GN)	3307577	<i>Enterobacter sakazakii</i>	



Figure n°15 : Profil biochimique d'*Enterobacter cloacae*



Figure n°16 : Profil biochimique d'*Enterobacter sakazakii*

2.2.2-Pour les Staphylocoques :

➤ Résultats des Galeries biochimique classiques :

Les résultats des galeries biochimiques classiques pour l'identification de différentes souches des *Staphylocoques* sont représentés dans les tableaux 11 et 12 :

**Tableau 11: Les caractères biochimiques des espèces identifiées à partir des prélèvements des deux restaurants.**

Test / Site			TSI					Citrates de Simmons	Mannitol-mobilité		Urée indole			Clark et lubs		Nitrate Réductase	Enzymes respiratoires	
			H <sub>2</sub> S	Gaz	Glu	Lac	Sac		MAN	MOB	URE	IND	TDA	VP	RM		OX	CAT
R	Points	Souches																
R1	Cuillère	S17	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
	Plateau	S18	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+
R2	Coupeuse	S19	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
	Plan de travail	S20	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
	Marmite	S21	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+

Selon les caractères biochimiques obtenus nous pouvons conclure que les espèces de staphylocoques identifiées sont les suivantes : (Tableau12)

**Tableau 12 : Résultats de l'identification des espèces de *Staphylocoques*.**

Site de prélèvement	N° de souche	Noms des espèces
<b>R1</b>	<b>Cuillère (P1)</b>	S17 (Chapman) <i>Staphylococcus xylosus</i> (Fig n°17)
	<b>Plateau (P2)</b>	S18 (Chapman) <i>Staphylococcus simulans</i> (Fig n°17)
<b>R2</b>	<b>Marmite (P1')</b>	S19(Chapman) <i>Staphylococcus simulans</i>
	<b>Coupeuse (P2')</b>	S20 (Chapman) <i>Staphylococcus xylosus</i>
	<b>Plan de travail (P3')</b>	S21 (Chapman) <i>Staphylococcus xylosus</i>



*Staphylococcus simulans*

*Staphylococcus xylosus*

**Figure n°17 : Caractères biochimique des espèces de *Staphylocoques*.**

➤ **Résultats des Galeries API Staph :**

Les résultats des Galeries API Staph pour l'identification des souches des *Staphylocoques* sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 13 : Résultats des Galeries API Staph**

Prélèvement	N° de souche	Code	Noms des espèces
<b>R1</b>	<b>Porte-cuillère (P3)</b>	S22 (Chapman)	6737771 <i>Staphylococcus lentus</i>
	<b>Table (P4)</b>	S23 (Chapman)	6735611 <i>Staphylococcus xylosus</i> (Fig n°18)
<b>R 2</b>	<b>Tasse (P4')</b>	S24 (GN)	6735611 <i>Staphylococcus xylosus</i>



Figure n°18 : Profil biochimique de *Staphylococcus xylosus*.

### 2.3-Résultats de l'identification des levures et des moisissures :

En basant sur l'aspect macroscopique et microscopique (faute de moyen), nous avons isolés 4 souches fongiques dans les deux restaurants. Nous avons nommé ces souches : S25, S26, S27, S28. (Tableau 14)

Tableau 14 : Résultats de l'identification des souches fongiques.

	Prélèvement	N° de souche	Espèces
R1	Plateau (P2)	S25	<i>Candida pelliculosa</i>
	Table (P4)	S26	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
R2	Coupeuse (P2')	S27	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	Plan de travail (P3')	S28	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>

❖ Au total, nous avons identifié 13 souches bactériennes et 3 souches fongiques au niveau des surfaces et des ustensiles utilisés dans les deux restaurants étudiés. (Tableau 15)

**Tableau 15 : Résultats de l'identification des souches bactériennes et fongiques**

Restaurant	Point de prélèvement	N° de la souche	Noms des espèces
R1	Cuillère (P1)	S1	<i>Shigella spp</i>
		S2	<i>Klebsiella oxytoca</i>
		S3	<i>Escherichia coli</i>
		S4	<i>Enterobacter aerogenes</i>
		S17	<i>Staphylococcus xylosus</i>
	Plateau (P2)	S5	<i>Klebsiella pneumonia</i>
		S6	<i>Enterobacter gergoviae</i>
		S18	<i>Staphylococcus simulans</i>
		S25	<i>Candida pelliculosa</i>
	Porte-cuillère (P3)	S7	<i>Enterobacter cloacae</i>
		S8	<i>Enterobacter aerogenes</i>
		S22	<i>Staphylococcus lentus</i>
Table (P4)	S9	<i>Serratia fonticola</i>	
	S10	<i>Enterobacter cloacae</i>	
	S23	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
	S26	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
R2	Marmite (P1')	S11	<i>Enterobacter sakazakii</i>
		S19	<i>Staphylococcus simulans</i>
	Coupeuse (P2')	S12	<i>Enterobacter cloacae</i>
		S13	<i>Enterobacter sakazakii</i>
		S20	<i>Staphylococcus xylosus</i>
		S27	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	Plan de travail (P3')	S14	<i>Enterobacter cloacae</i>
		S15	<i>Serratia ficaria</i>
		S21	<i>Staphylococcus xylosus</i>
		S28	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
	Tasse (P4')	S16	<i>Enterobacter sakazakii</i>
		S24	<i>Staphylococcus xylosus</i>

**Discussion :**

Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale à partir de la table du premier restaurant et du plan de travail du deuxième restaurant montre que la première surface présente un nombre compris entre 2 et 10 UFC/cm<sup>2</sup> (2 UFC/cm<sup>2</sup>), ce qui signifie que le nettoyage est bon, alors que la deuxième surface présente un nombre égale a 1 UFC/ cm<sup>2</sup> (1UFC/cm<sup>2</sup>), ce qui indique que le nettoyage est excellent, selon les normes internationales [19].

L'analyse qualitative nous a permet d'identifié 13 espèces bactériennes et 3 espèces fongiques.

Les entérobactéries constituent la majorité des germes identifiés au niveau de deux restaurants : *Escherichia*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, sont les plus souvent retrouvées. Ces résultats sont similaires à ceux retrouvés par Makhtar Cissé et Vamouétié Diabate [19,25].

- Au niveau du premier restaurant nous avons trouvé :

*Shigella spp* et *Escherichia coli* qui ont été isolées au niveau de la cuillère, leur présence peut être expliqué par l'utilisation d'eau contaminée par les matières fécales pendant le nettoyage.

*Klebsiella oxytoca* a été isolée à partir de la cuillère et *klebsiella pneumoniae* a été détectée au niveau du plateau, ces deux germes font partie de la flore normale de la bouche, la peau et les intestins, donc les manipulateurs, l'eau utilisée pendant la préparation et même les aliments sont les plus importantes sources de contamination.

Le genre *Enterobacter* a été détecté au niveau de plusieurs points : *Enterobacter gergoviae*, au niveau du plateau ; *Enterobacter aerogenes* au niveau de la cuillère et le porte-cuillère ; *Enterobacter cloacae* au niveau de la porte cuillère et la table. L'ensemble de ces espèces se trouvent dans le sol, l'eau, les produits laitiers, et dans les intestins, mais la contamination croisée des denrées alimentaires peut survient à partir des mains des manipulateurs ce qui conduit à des risques sanitaires.

La contamination de la table par *Serratia fonticola*, généralement a pour origine l'eau et le sol. L'ingestion d'aliments contaminés mène (rarement) à l'apparition de gastro-entérite, bactériémie.

- Au niveau du deuxième restaurant nous avons isolé :

*Enterobacter cloacae* au niveau de la coupeuse et plan de travail et *Enterobacter sakazakii* au niveau du marmite, coupeuse et tasse, ces espèces sont présentes naturellement dans

l'environnement mais la contamination peut se faire par voie directe à travers les matières fécales, ou indirect suite aux manipulations par un personnel ayant une mauvaise hygiène.

*Serratia ficaria* a été trouvée au niveau du plan de travail, a pour origine la manipulation de denrées crues mal nettoyées.

Généralement la présence des entérobactéries (des coliformes) qui sont des indicateurs de contamination fécale peut être liée à plusieurs causes: l'hygiène défectueuse du personnel qui, d'ailleurs est considéré comme la principale source de contamination, la mauvaise utilisation des sanitaires (entretien défectueux, installations inadaptées, manque de savon et de papiers hygiéniques), un lavage incorrect et irrégulier des mains et des aliments.

Les Staphylocoques ont été détectés au niveau des deux restaurants, précisément nous avons identifiés :

*Staphylococcus xylosum* à partir de la cuillère, la table du premier restaurant, et à partir de la coupeuse, plan de travail et tasse du deuxième restaurant.

*Staphylococcus simulans* a été isolée au niveau du plateau du premier restaurant et à partir du marmite de la deuxième restaurant, et *Staphylococcus lentus* a été détectée au niveau du porte-cuillère du premier restaurant.

Ces espèces sont localisées naturellement au niveau de la peau et des muqueuses. La contamination de ces ustensiles (cités précédemment) est due à l'absence de l'hygiène, l'utilisation des eaux contaminées lors de la préparation des aliments et le nettoyage inefficace. Il faut signaler que ces espèces ont la capacité de former des biofilms surtout au niveau des surfaces inaccessibles aux nettoyages ce qui constitue une source de contamination aux aliments.

La présence de ces espèces peut conduire à des intoxications alimentaires qui sont dues à l'ingestion d'entérotoxines.

Des levures et des moisissures ont été détectées dans tous les points à l'exception du tasse :

*Saccharomyces cerevisiae* a été isolée de la table et de la coupeuse, cette levure est répandue dans la nature, et elle sert à la réalisation de nombreux produits alimentaires du fait de son rôle dans la fermentation alcoolique (pain), ce qui explique sa présence.

*Candida pelliculosa* a été détecté au niveau du plateau. Cette levure a été isolée dans des habitats naturels très divers (par exemple, dans les aliments, les eaux usées, etc..)

*Colletotrichum gloeosporioides* a été isolée à partir du plan de travail, elle est plus important sur les fruits qui sont réfrigérés.

La présence de ces espèces fongiques ne constitue pas un risque sanitaire réel sauf que l'espèce *Colletotrichum gloeosporioides* est un agent d'altération des aliments.

A partir des résultats obtenus, nous pouvons conclure que dans les deux restaurants le manque d'hygiène est très remarquable ce qui confirme que les convives ne sont pas à l'abri des TIAC.

Ceci implique la nécessité du nettoyage, de désinfection et de contrôle réguliers des surfaces et des ustensiles en fondant de préférences sur les principes de l'HACCP (Analyse des dangers et des points critiques pour leur maîtrise)

# Conclusion

**Conclusion :**

Les restaurants collectifs deviennent très fréquents aujourd'hui avec leur activité qui est toujours en expansion en Algérie.

L'objectif principal de ce travail est la vérification du niveau d'hygiène dans un restaurant universitaire et un autre scolaire et d'évaluer le risque sanitaire de la population humaine exposée.

Dans notre étude les résultats obtenus permettent de conclure que :

- La totalité des points analysés sont contaminés par des bactéries d'origine fécale telle que : *Shigella spp*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*, qui sont les prédominants et des bactéries telluriques comme *Serratia fonticola* et *Serratia ficaria*, et quelques espèces de genre *Staphylococcus* (*Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus lentu*), et aussi des levures et moisissures qui sont : *Candida pelliculosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, et *Colletotrichum gloeosporioides*.
- On se basant sur ces résultats, on a confirmé que les deux restaurants n'appliquent pas des méthodes de désinfections et de nettoyage efficaces.
- Les convives des deux restaurants étudiés ne sont pas à l'abri de TIAC.
- Ce travail a révélé que l'application des règles d'hygiène selon les textes réglementaires de l'HACCP en restauration collectives assure une protection certaine de la santé des consommateurs.

### **Recommandations générales :**

Afin d'éviter les contaminations des surfaces et des ustensiles utilisés dans les restaurants collectifs il faut respecter certains exploits :

1- Elaboration d'un plan de nettoyage et de désinfection du matériel et des surfaces; élément de stratégie de l'hygiène.

2- Formation du personnel: la désinfection est en effet une opération complexe.

Il convient par conséquent de la confier à un personnel spécialisé conscient de l'importance de l'opération et des impératifs de son exécution.

3- La propreté des torchons utilisés pour l'essuyage des plateaux ne permet pas le véhiculement des germes.

4- Utilisation de l'eau chaude pour le nettoyage des ustensiles et le contrôle de sa température qui ne doit pas être en dessous de 50°C.

5- Respect des indications des fabricants des produits de nettoyage et de la désinfection.

6-disposition de surfaces en parfait état et dont le matériau est adapté pour le contact alimentaire et facile à nettoyer (le bois est prohibé, l'inox conseillé..).

7- Nettoyage et désinfection réguliers des poubelles des plonges.

8- Disposition des lavabos à commande avec pédale et des papiers hygiéniques pour le lavage des mains.

9- Alternance des produits de nettoyage pour ne pas provoquer une résistance chez les micro-organismes.

10- La propreté corporelle et vestimentaire doit être rigoureuse et détaillée.

11- Responsabiliser une personne pour bien diriger les opérations de nettoyage et de désinfection et surveiller leur exécution.

12- Elévation des matériels non utilisés.

13-Lutter contre les vecteurs (mouches).

**Résumé :**

Les restaurants sont des milieux aux conditions idéales (température, humidité) pour le développement et la prolifération des microorganismes : bactéries, champignons, virus et parasites, qui peuvent adhérer au niveau de différents endroits ne subissons pas des nettoyages efficaces. Ces derniers sont à l'origine de nombreuses maladies qui peuvent se transmettre par différentes voies : respiratoire, digestive et cutanée.

Dans le but de cerner l'état de contamination des restaurants collectifs et de contrôler le niveau d'hygiène, notre étude a porté sur une analyse microbiologique des surfaces et des ustensiles utilisés dans deux restaurants collectifs dans la wilaya de Guelma.

Les résultats obtenus montrent la présence des germes suivants : *Shigella spp*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia fonticola*, *Enterobacter sakazakii*, *Serratia ficaria*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus lentus*, *Candida pelliculosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, et *Colletotrichum gloeosporioides*.

Ces espèces sont à l'origine de nombreuses contaminations et présente un risque sanitaire réel ce qui implique la nécessité de lutte et de prévention contre ces germes en respectant en générale les règles d'hygiène.

**Mots clés :** restaurants, microorganismes, contaminations, Risque sanitaire, hygiène.

## **Summary :**

The restaurants are the ideal environment conditions (temperature, humidity) for the development and proliferation of microorganisms: bacteria, fungi, viruses and parasites that can join at different locations are not under the cleaning efficacies. These microorganisms are the origin of many diseases that can be transmitted through different channels: respiratory, digestive and skin.

In order to identify the state of contamination of canteens and control the level of hygiene, our study focused on microbiological analysis of surfaces and utensils used in two class restaurants in the province of Guelma.

The results show the presence of the following germs:

*Shigella spp, Klebsiella oxytoca, Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumonia, Enterobacter gergoviae, Enterobacter cloacae, Serratia fonticola, Enterobacter sakazakii, Serratia ficaria, Staphylococcus xylosum, Staphylococcus simulans, Staphylococcus lentus, Candida pelliculosa, Saccharomyces cerevisiae, and Colletotrichum gloeosporioides.*

These species are the source of many infections and poses a real health risk which implies the need for Lute and prevention against these organisms in accordance with the general rules of hygiene.

**Keywords:** Restaurants, Microorganisms, Contamination, Health Hazard, hygiene.

## الملخص:

تعتبر المطاعم الجماعية وسط ملائم (درجة الحرارة، الرطوبة) لتطور وانتشار الكائنات الحية الدقيقة: البكتيريا والفطريات والفيروسات والطفيليات التي يمكن أن تتواجد في نقاط مختلفة صعبة التنظيف. هذه الأخيرة هي السبب في منشأ الكثير من الأمراض التي يمكن أن تنتقل من خلال قنوات مختلفة: الجهاز التنفسي، الجهاز الهضمي والجلد. من أجل تحديد حالة تلوث المطاعم والتحكم في مستوى النظافة، ركزت دراستنا على التحليل الميكروبيولوجي للأسطح والأواني المستخدمة في مطعمين متواجدين في ولاية قلمة. النتائج المتحصل عليها أظهرت وجود الجراثيم التالية:

*Shigella spp, Klebsiella oxytoca, Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumonia, Enterobacter gergoviae, Enterobacter cloacae, Serratia fonticola, Enterobacter sakazakii, Serratia ficaria, Staphylococcus xylosus, Staphylococcus simulans, Staphylococcus lentu, Candida pelliculosa, Saccharomyces cerevisiae, et Colletotrichum gloeosporioides.*

هذه الأنواع هي مصدر للعديد من التسممات الغذائية وتشكل خطراً صحياً حقيقياً مما يعني الحاجة إلى الوقاية واتخاذ الاحتياطات اللازمة للقضاء على هذه الكائنات وفقاً للقواعد العامة للنظافة.

الكلمات المفتاحية: مطاعم، الكائنات الدقيقة، الأمراض، المخاطر الصحية، التنظيف .

# Références bibliographiques

**Références bibliographiques :**

- [1] Aide a l'interprétation du dépassement du critère réglementaire. (2005). « *Flore aérobique mésophile à 30°* ».P : 1.
- [2] AITABDELOUAHAB N.(2001). « *Microbiologie alimentaire* ».Université de constantine. P : 40-47.
- [3] AGUILAR-GALVEZ A., R .DUBOIS-DAUPHIN, J. D ESTAIN, D. CAMPOS, P. THONAR. (2011). « *Les entérocoques : avantages et inconvénients en biotechnologie (synthèse bibliographique)* ».Biotechnol. Agron. Soc. Environ. P : 68-70.
- [4] AUBRY P. (2012). « *Leptospiroses* ». Diplôme de médecine tropicale des pays de l'Océan Indien. P :1-3.
- [5] BAILLY J-D., H. BRUGERE, H. CHARDON. (2012).« *Micro-organismes et parasites des viandes : les connaître pour les maîtriser, de l'éleveur au consommateur* ». Centre d'information des viandes (CVI). P : 5-14.
- [6] BAYNAUD S. (1999). « *Guide des Bonnes Pratiques d'hygiène en restauration collective à caractère social U.P.R.M.* ».En cours de validation auprès du Comité d'Hygiène Publique de France. P : 30-40.
- [7] BECILA A. (2009). «*Préventions Des Altérations et Des Contaminations Microbiennes des Aliments, Date de soutenance*».Mémoire de stage de Post-Graduation Spécialisée. Université Mentouri-Constantine. P : 26-36.
- [8] BENHAMOU D., J-P. BRU, C. CHIDIAC, J. ETIENNE, P. LÉOPHONTE, N .MARTY, R. POIRIER, R-M. ROUQUET. (2004). « *Source : Ce texte a été réalisé conjointement par la Société de pneumologie de langue française (SPLF), la Société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF) et le Centre national de référence sur les Lésionnelles. Ont participé à la rédaction : état des connaissances* ». P : 1-3.
- [9] BENT MOHAMED A., A. MINT SIDA BABA. (2008). « *manuel de travaux pratique microbiologie* ».Université de nouakchott. P : 18-22.
- [10] BERREBI W. (2006). « *Hépatologie Gastro-entérologie* ». Éditions ESTEM. P : 10.
- [11] BOUZA A. (2009). « *Les toxi-infections alimentaires collectives dans l'est Algérien* ». Diplôme de post-graduation spécialisée. Université mentouri-Constantine. P : 28-36.
- [12]BONNEFOY C., F.GUILLET, G.LEVRAL, E. VERNE, BOURDAI. (2002). « *Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires* ». Doin éditeurs. P : 100-105.
- [13] BRANGER A., M-M. RICHER, S .ROUSTEL. (2007). « *Alimentation et processus technologiques* ». Educagri Editions. P : 113.

- [14] BRANGER A., M-M .RICHER, S. ROUSTEL. (2007). « *Alimentation, sécurité et contrôles microbiologiques* ». Educagri éditions. P:157.
- [15] BRIANDET R., L .FECHNER, M. NAITALI, C. DREANNO. (2012). « *biofilms, quand les microbes s'organisent* ». Édition Quae, France. P : 9-28.
- [16] BRUNNER L-S ., D-S. SUDDARTH, C .SUZANNE, C. SMELTZE, G. BRENDA. BARE. (1994). « *Soins infirmiers en médecine et en chirurgie* ». 3eme édition. Édition du Renouveau pédagogique Inc. canada. P : 613.
- [17] BUISSON Y., J-D. CAVALLO, J-J. KOWALSKI, C. RENAUDEAU, J-Y .TRÉGUIER. (2001). « *Les risques NRBC [nucléaire radiologique biologique chimique, savoir pour agir]* ». Édition Xavier Montauban SA. P : 86.
- [18] CARIP C., J. BÉRAUD, E. DORSAINVIL, M-H. SALAVERT, A .TANDEAU. (2008). « *Microbiologie Hygiène* ». doin. P : 62-105.
- [19] CISSE M. (1991). « *Hygiène et qualité bactériologiques des hors d'œuvre en restauration collective : cas des restaurants du centre des œuvres universitaires de Dakar (C.O.U.D.)* ». Mémoire de grand docteur vétérinaire. Université cheikh antadiop de Dakar. P : 27-34.
- [20] Collège des Enseignants de Nutrition. (2010). « *Les toxi-infections alimentaires collectives : aspects cliniques et épidémiologiques* ». Université Médicale Virtuelle Francophone. P : 5-18.
- [21] CUQ J-L .(2007). « *Microbiologie alimentair* ». Université montrellier 2. P: 30-39.
- [22] DAJON J-L. (2003). « *Guide de visite d'entreprise de restauration* ». Mémoire pour la délivrance du Diplôme d'études spécialisées de médecine du travail. Université de Montpellier I Faculté de médecine. Montpellier. P : 2-4,48.
- [23] DEALMEIDA COURNET A. (2010). « *Etude de la catalyse microbienne de la réduction électrochimique du dioxygène* ». Mémoire Doctorat. Université Toulouse III – Paul Sabatier. P : 13-21.
- [24] DELARRAS. (2000). « *Microbiologie de l'environnement avec législation : travaux pratique* ». Gaëtanmoriu éditeur. P : 117.
- [25] DIABATE V. (1991). « *Contribution a l'étude de l'hygiène de la restauration collective en cote cas du centre hospitalier universitaire(CHU) de cocody d'Abidjan* ». Mémoire de docteur vétérinaire (diplôme d'état). Université Cheikh antadiop de Dakar. P : 36-43.
- [26] DIGNAN T. (2010). « *Les moisissures et votre sante -vous devez savoir pour une maison en Santé -Information à l'intention des membres des communautés des Premières nations*». La ministre de la Santé Canada. P : 5-10.

- [27] DIOMA S-A. (2008). « *Epidémiologie des entérobactéries productrices de Beta-lactamases a spectre Elargi du chu du point G* ».Mémoire de grade de Docteur en Pharmacie université de Bamako. La Faculté de Médecine de Pharmacie et d’Odonto-Stomatologie. P : 17-20.
- [28] DIOP P.B.T. (2005). « *Etude de la contamination des surfaces dans la restauration collective universitaire cas du centre des œuvres universitaires de Dakar (COUD)* ». Mémoire de Diplôme d’études Approfondies de productions animal. Université Cheikh AntaDiop de Dakar (E.I.S.M.V.). P : 4-8.
- [29] Dossier SSA—Hygiène Alimentaire. (2011). « *Intoxication à la toxine botulique (Clostridium botulinum)* ». 1 p.
- [30] DUPIN H., L. CUQJ, M-I. MALEWIAK, C. LEVNAUD-ROUAUD, A-M. BERTHIER. (1992). « *Alimentation et nutrition humaines* ». ESF éditeur. P : 1297.
- [31] Environmental Fact Sheet. (2003. « *Fecal Coliform as an Indicator Organism*». p:1-3.
- [32] EUZÉBY J-P. (2007). « *Travaux pratiques de bactériologie* ». Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l’usage des étudiants de l’Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. P : 16-20.
- [33] Faculté de Médecine de Nantes.(2008) .« *Cours de bactériologie* ».DCEM1. P : 18.
- [34] FAINE S. (1987). « *Guide pour la lutte contre la leptospirose* ». Organisation mondiale de la santé. Imprimée en suisse. P : 9-11.
- [35] FEDERIGHI M. (2005). "*Bactériologie alimentaire*". 2<sup>ème</sup> édition. ECONOMICA. P : 86-101.
- [36] FERREIRA M. (2003). « *Hygiène et sécurité dans le domaine de la distribution alimentaire* ». 1<sup>er</sup> édition .édition INRS TJ 22. P : 10-13.
- [37] FRANCIAS N. (2002). « *Analyses microbiologiques des aliments de l’eau : directives pour l’assurance qualité* ». Edition Tec et Doc. P : 87-134.
- [38] GAUTHIER F. (2002). « *biofilms et qualité biologique de l’eau potable au cours de sa distribution* ». Mémoire de DESS en Qualité et Gestion de l’Eau Université de Picardie – Amiens. P : 40-45.
- [39] Groupe scientifique sur l’eau. (2003). « *Coliformes totaux* ». Institut national de santé publique du Québec. P : 1-4.
- [40] GUILLAUME P-Y. (2004). « *Les milieux de culture* ».P :12.
- [41] GUIRAND J. P. (2003). « *Microbiologie alimentaire* ». RIA Dunod. P: 359.
- [42] HART T., P. SHERS. (1997). « *Atlas de poche de microbiologie* ». Médecine-Sciences Flammarionen. France. P : 87-112.

- [43] HUGARD L. (2008). « *Infectiologie, sida et soins infirmiers: Module 1* ». Édition Wolters Kluwer France. P : 75.
- [44] JUND A. (2010). « *Mise en place du Plan de Maîtrise Sanitaire sur l'UCP du Grand Sauvoy* ». Maître de stage : Patrice DECOUT Structure d'accueil. Nancy-Université. P : 2-8.
- [45] LANSING M., PRESCOTT, P. JOHN, HARLEY, A.DONALD, KLEIN. (2003). « *Microbiologie* ». 2ème édition. De Boeck et Larciens.a. Paris. P : 649.
- [46] LARPENT J-P. (1997). « *Microbiologie des eaux alimentaires : Technique de labo* ». Edition Tec et Doc. P : 294-300.
- [47] Le laboratoire parlenaire de votre qualité.(2000). « *Anaérobie sulfito-reducteurs* ». A.Bio.C. P : 2-3.
- [48] Lailler M. R. (2006). « *Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments Campylobacter spp* ». Afssa. P : 2.
- [49] LÉOPHONTE P. (2001). « *Les Pneumonies* ». Éditions John libbey Eurotext. Paris. P : 20-21.
- [50] LEYRAL G., E. VIERLING. (2007). « *Microbiologie et toxicologie des aliments* ». 4ème éditions, doin. P : 101-104.
- [51] MEYER A., J. DEIANA, A. BERNARD. (2004). « *Cours de microbiologie générale: avec problèmes et exercices corrigés* ».Doin éditeurs Groupe Liaisons SA. Imprimé en France. P : 317-325.
- [52] MFOUAPON NJUEYA M-L. (2006). « *Etude de la contamination des surfaces dans la restauration collective universitaire : Cas du centre des œuvres universitaires (C.O.U.D.)* ». Mémoire de docteur vétérinaire (Diplôme d'état). Université Cheikh AntaDiop de Dakar (E.I.S.M.V.). P : 8-32.
- [53] Organisation Mondiale de la Sante. (1999). « *Document de travail sur les virus dans les Aliments* ». Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaire comite du codex sur l'hygiène alimentaire. P : 1-6.
- [54] ORTH G., P. SANSONETTI. (2006). « *La maîtrise des maladies infectieuses* ». Un déficit de santé publique. Une ambition médico scientifique Académie des sciences. P : 10-11.
- [55] PASQUALI P. (2007). « *Infections Au VIH Et Zoonoses* ». Istituto Superiore di Sanita. Rome. Italie. P : 9-12.
- [56] PEBRET F. (2003). « *Maladies infectieuses* ». Éditions heures de France. Paris. P : 517-519.

- [57] PECASTAINGS S. (2010). « *Apport de modèles de biofilms à Pseudomonas aeruginosa et Legionella pneumophila à la maîtrise de la qualité microbiologique des réseaux d'eaux minérales naturelles* » Mémoire de Doctorat de l'Université de Toulouse. P : 62-72.
- [58] PIGASSE C. (2000). « *Proposition d'un protocole d'analyses microbiologiques de substrats thermaux utilisés dans le cadre d'application cutanée* ». Rédigé dans le cadre du projet de recherche en collaboration entre AFRETH (Association Française pour la Recherche Thermale)-Les établissements thermaux de Balaruc-les-bains-l'Université Paul Sabatier. P : 6-7.
- [59] PILLY E. (2008). « *Maladies Infectieuses et Tropicales* ». 21<sup>ème</sup> édition. doin. P : 100.
- [60] Plaquette Grands rassemblements Ce que vous devez savoir-Mise à jour. (2012). [http://www.rouen.fr/sites/default/files/plaquette\\_grands\\_rassemblements\\_mise\\_a\\_jour\\_2012.pdf](http://www.rouen.fr/sites/default/files/plaquette_grands_rassemblements_mise_a_jour_2012.pdf).
- [61] PRESCOT, HARLEY, KLEIN, WILEY, SHERWOOD, WOOLVERTON. (2010). « *Microbiologie* ». 3<sup>ème</sup> édition. Edition de Boeck. P : 946-969.
- [62] RAMALAHANOHARANA. (1998). « *La prévention des risques au laboratoire* ». Arch Inst Pasteur Madagascar. P : 93.
- [63] RODIER J. (1996). « *L'analyse d'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer* ». 8<sup>ème</sup> édition. Dunod. P : 795-800.
- [64] ROUDAUT H., É .LEFRANCQ. (2005). « *Alimentation théorique* ». doin éditeurs. P : 195-200.
- [65] ROUQUETTE C. (2002). « *Médecine, chirurgie et soins infirmiers* ». Groupe Liaisons SA. P : 74.
- [66] Santé publique-fiche de renseignements. (2012). « *La shigellose* ». Manitoba. p : 1-2.
- [67] SCHAECHTER M., G.MEDOF, I.EISENSTEINB. (1999). « *Microbiologie et pathologie infectieuse* ». De Boeck Université .en France. P : 299-307.
- [68] Service des Affaires Scolaires de la Collectivité territoriale de Corse. (2009). « *Livret d'hygiène restauration collective, collèges et lycées* ». Services Vétérinaires de Corse du Sud et de Haute Corse. P : 36.
- [69] SEYDI DANSOU S. (2009). « *Etude de la qualité microbiologique des repas servis au niveau du centre des œuvres universitaires de Dakar(COUD)* ». Mémoire de diplôme d'étude approfondie de productions animales. Université cheikh antadiop de Dakar. P:1-12.
- [70] SOUMARE B. (1992). « *Etude de l'hygiène de la restauration collective dans l'armée sénégalaise* ». Mémoire de grand docteur vétérinaire. Université cheikh antadiop de Dakar. Ecole Inter-états des sciences et médecine vétérinaires E.I.S.M.V. P : 30-80.
- [71] SUTHERLAND P-S. (2001). « *Vie bactérienne communautaire (2), l'union fait la force: les biofilms* ». Trends Microbiol. P : 20-22.

- [72] Systèmes de qualité et de sécurité sanitaire des aliments.(2001). « *Manuel de formation sur l'hygiène alimentaire et le Système d'analyse des risques - points critiques pour leur maîtrise (HACCP)* ». Rome. P: 391.
- [73] TOLKER- NIELSE T., S .MOLIN. (2003). « *Spatial organization of microbial biofilm communities*». Microb.Ecole. P : 10.
- [74] [www.lycee-valin.fr/bgb/fttech/S1M.pdf](http://www.lycee-valin.fr/bgb/fttech/S1M.pdf) (17/03/2013)
- [75] <http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux.html> (20/02/2013)
- [76] [http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests\\_microbiologie2.htm](http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests_microbiologie2.htm)(20/03/2013)
- [77] <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Api20e.jpg>(10/03/2013)
- [78] [http://www.4science.net/main.asp??=item/item\\_view&item\\_idx=11360](http://www.4science.net/main.asp??=item/item_view&item_idx=11360)(16/03/2013)
- [79] <http://lycee-valin.fr/bgb/ftapi/6.pdf---APIstaph>(02/04/2013)
- [80]<http://www.microbiologiemedicale.fr/mycologie/milieuxdecultureutilisesmycologie.htm>(10/04/2013)
- [81] [http://stl.bgb.liberte.free.fr/microbio\\_fiches/clark\\_lubs1.pdf](http://stl.bgb.liberte.free.fr/microbio_fiches/clark_lubs1.pdf) 1(20/02/2013)
- [82] <http://www.afssa.fr/euroreference/numero4/index.htm>. (20/02/2013)
- [83][http://www2.aclyon.fr/enseigne/biotech/microbio/Tests/NITRATE\\_REDUCTASE.htm](http://www2.aclyon.fr/enseigne/biotech/microbio/Tests/NITRATE_REDUCTASE.htm)(20/02/2013)

Annexe

## Annexe 01 :

### ➤ Les milieux de culture :

#### • Gélose cétrimide:

##### Composition :(Formule en g/L d'eau distillée)

-Peptone.....	20g
-Sulfate de potassium.....	10g
-Chlorure de magnésium.....	3g
-Hydrogénophosphate de potassium.....	0,3g
-Cétrimide.....	0,2g
-Acide nalidixique.....	0,015g
-Agar.....	13g

#### • Gélose de Chapman

##### Composition :(Formule en g/L d'eau distillée)

-Peptones.....	11g
-Extrait de viande.....	1g
-Chlorure de sodium.....	75g
-Mannitol.....	10g
-Rouge de phénol.....	0,025g
-Agar.....	15g
-Eau distillée.....	1L

#### • Gélose GN (Gélose Nutritive)

##### Composition :(Formule en g/L d'eau distillée)

-Extrait de viande.....	1g
-Peptone.....	5g
-Chlorure de sodium.....	15g
-Extrait de levure.....	2g
-Agar.....	15g

pH = 7,5

#### • Gélose Mac Conkey :

##### Composition :(Formule en g/L d'eau distillée)

-Peptone.....	20g
-Lactose.....	10g
-Sels biliaires.....	1,5g
-Cristal violet.....	0,001g
-Rouge neutre.....	0,05g
-Chlorure de sodium.....	5g
-Agar.....	15g
-Eau distillée.....	1L

pH = 7,1

- **Gélose Hektoen** :

**Composition** : (Formule en g/L d'eau distillée)

-Protéose peptone.....	1g
-Extrait de levure.....	3g
-Chlorure de sodium.....	5g
-Thiosulfate de sodium.....	5g
-Sels biliaires.....	9g
-Citrate de fer III et d'ammonium.....	1,5g
-Salicine.....	2 g
-Lactose.....	12 g
-Saccharose.....	12 g
-Fuschine acide.....	0,1g
-Bleu de bromothymol.....	0,065g
-Agar.....	14g
-Eau distillée.....	1L

PH : 7.5

- **Gélose Sabouraud**

**Composition**: (Formule en g/L d'eau distillée)

-Peptone pepsique de viande.....	10g
-Glucose.....	20 g
-Chloramphénicol.....	0,5 g
-Agar.....	15 g
-Eau distillée.....	1L

pH = 7,0

- **Gélose SS**

**Composition** : (Formule en g/L d'eau distillée)

-Extrait de viande de bœuf.....	5g
-Bio-polytone.....	5g
-Sels biliaires.....	8,5 g
-Lactose.....	10 g
-Citrate de sodium.....	8,5g
-Thiosulfate de sodium.....	8,5g
-Citrate ferrique.....	1g
-Vert brillant.....	0,33g
-Rouge neutre.....	0,025 g
-Agar.....	13,5 g

pH = 7,0

- **Clark et Lubs :**

**Composition :**(En grammes par litre)

-Peptone trypsique de viande.....	6g
-Glucose.....	5g
-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	5g
-Eau distillée.....	1L

pH = 7,0

- **Gélose TSI :**

**Composition:**(Pour 1 litre de milieu)

- Tryptone.....	14,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	3,0g
- Extrait de viande .....	3,0 g
- Glucose.....	1,0 g
- Lactose .....	10,0g
- Saccharose .....	10,0g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Thiosulfate de sodium.....	0,3 g
- Citrate ferrique ammoniacal .....	0,3 g
- Rouge de phénol.....	24,0 mg
- Agar agar bactériologique.....	13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

- **Gélose KING A:**

**Composition :** (Pour 1 litre de milieu)

-Peptone.....	20g
-Purified agar .....	12g
-K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (anhydrous) .....	10g
-MgCl <sub>2</sub> (anhydrous) .....	1.4g

- **Gélose KING B:**

**Composition :** (Pour 1 litre de milieu)

- Peptone .....	20,0 g
- Glycérol.....	10,0 mL
- Phosphate dipotassique .....	1,5 g
- Sulfate de magnésium, 7 H <sub>2</sub> O .....	1,5 g
- Agar agar bactériologique.....	15,0 g

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

- **Citrate de simmons :**

**Composition :**

-Sulfate de magnésium .....	0.2 g
-Phosphate mono-potassique .....	1 g
-Phosphate bipotassique .....	1 g
-Citrate de sodium .....	2 g
-Chlorure de sodium .....	5 g
-Bleu de bromothymol .....	0.08 g
- Agar agar bactériologique.....	15g

- **Mannitol-mobilité :**

**Composition :**(g/L)

-Peptone trypsique de viande.....	10 g
-Mannitol.....	7,5 g
-Nitrate de potassium.....	1g
-Rouge de phénol.....	0,04 g
-Agar.....	4 g

pH : 7.6

- **Urée-indole :**

**Composition :**(g/L)

- L-tryptophane .....	3 g
- Urée .....	20 g
- Monophydrogénophosphate de potassium .....	1 g
- Dihydrogénophosphate de potassium .....	1 g
- Chlorure de sodium .....	5 g
- Éthanol à 95 °GL .....	1.0 ml
- Rouge de phénol .....	25 mg
- Eau distillée (qsp) .....	1 L

- **Clark et lubs :**

**Composition :**(g/L)

- Peptone.....	5 g
- Glucose.....	5 g
- Hydrogénophosphate de potassium.....	5 g
- Eau distillée .....	1 l

pH = 7,5

➤ **Les Réactifs :**

• **Réactif TDA : pour la recherche de tryptophane désaminase**

-Perchlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>) .....100 g

-Eau purifiée .....1 L

• **Rouge de méthyle :**

Dissoudre 20 mg de rouge de méthyle dans 100 mL d'eau distillée chaude.

• **Lugol:**

-Iode: .....5 g

-Iodure de potassium: .....10 g

-Eau distillé: .....1 L

• **Violet de Gentiane :**

-Violet de gentiane.....10 g

-Phénol.....20 g

-Éthanol (90 °GL)..... 100 .ml

-Eau distillée.....1L

## Annexe 02 :

Tableau de lecture de la galerie Api20E

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
<b>ONPG</b>	Ortho-nitro-phényl-B-D-Galactopyranoside	Beta-galactosidase	incolore	Jaune
<b>ADH</b>	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orange
<b>LDC</b>	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orange
<b>ODC</b>	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
<b>CIT</b>	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
<b>URE</b>	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orange
<b>TDA</b>	Tryptophane	Tryptophane désaminase	<b>TDA/immédiat</b>	
			Jaune	Marron foncé
<b>IND</b>	Tryptophane	Production d'indole	<b>IND/2mn, max</b>	
			Jaune	Anneau rouge
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétone	<b>VP1+VP2/10 mn</b>	
			incolore	Rose-rouge
<b>GEL</b>	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
<b>GLU</b>	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>MAN</b>	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>INO</b>	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>SOR</b>	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>RHA</b>	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>SAC</b>	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>MEL</b>	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>AMY</b>	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>ARA</b>	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>OX</b>	Sur papier filtre	Cytochrome-oxydase	<b>Ox /5-10 mn</b>	
			incolore	Anneau violet
<b>NO<sub>3</sub> NO<sub>2</sub></b>	Tube GLU	Production de NO <sub>2</sub> Réduction au stade N <sub>2</sub>	<b>NIT1+NIT2/2-3 mn</b>	
			Jaune	Rouge
			<b>Zn</b>	
			Rouge	Jaune
<b>MOB</b>	Microscope	Mobilité	immobile	Mobile
<b>MAC</b>	Milieu de Mac Conkey	Culture sur	Absence	Présence
<b>OF</b>	Glucose	Fermentation : sous huile Oxydation : à l'air	Vert Vert	Jaune Jaune
<b>CAT</b>	Catalase	Possession d'une catalase	<b>H<sub>2</sub>O/1-2mn</b>	
			Pas de bulles	Bulles

Tableau de lecture de la galerie Api Staph

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats		
			Négatif	Positif	
<b>0</b>	Aucun	Témoin négatif	Rouge	-	
<b>GLU</b>	D-glucose	Témoin positif	Rouge	Jaune	
<b>FRU</b>	D-fructose	Acidification à partir du carbohydre			
<b>MNE</b>	D-mannose				
<b>MAL</b>	Maltose				
<b>LAC</b>	Lactose				
<b>TRE</b>	D-tréhalose				
<b>MAN</b>	D-mannitol				
<b>XLT</b>	Xylose				
<b>MEL</b>	D-melibiose				
<b>NIT</b>	Nitrate de potassium				Réduction des nitrates en nitrite
					Rouge
<b>PAL</b>	B-naphtylac.phosphate	Phosphatase alcaline	ZYM A+ZYM B/10mn		
			Jaune	Violet	
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl méthyl-carbonyl	VP1+VP2/10mn		
			Incolore/rose	Violet/rose	
<b>RAF</b>	Raffinose	Acidification à partir du carbohydre	Rouge	Jaune	
<b>XYL</b>	Xylose				
<b>SAC</b> <b>MDC</b>	Saccharose $\alpha$ -méthyl-D-glucosamine				
<b>NAG</b>	N-acétyl-glucosamine				
<b>ADH</b>	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	/OrangeRouge	
<b>URE</b>	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/ Violet	

**Annexe 03 :**

- **La norme internationale de dénombrement de la flore aérobique mésophile totale dans l'industrie agro-alimentaire :**

**Tableau1** : Norme internationale de dénombrement de la flore aérobique mésophile totale

<b>Nombre de UFC/ cm<sup>2</sup></b>	<b>Nettoyage</b>
Inferieur à 1 UFC	Excellent.
Compris entre 2 et 10 UFC	Bon.
Compris entre 11 et 100 UFC	Nécessaire.

## **Annexe 04 :**

**La méthode HACCP et ses 7 principes :** (Hazard Analysis Critical Control Point, Analyse des dangers et des points critiques pour leur maîtrise)

Est une méthode permettant de mettre en place un système d'analyse des risques en cuisine et de maîtriser les étapes où ces derniers peuvent s'exprimer, elle est un système qui identifie, évalue et maîtrise les dangers significatifs au regard de la sécurité des aliments et créent les documents qui sont la preuve de l'application de celle-ci auprès des services officiels de contrôle (DDSV). Tous les documents de surveillance doivent être renseignés pour chaque opération répertoriée.

### ***Les septes principes :***

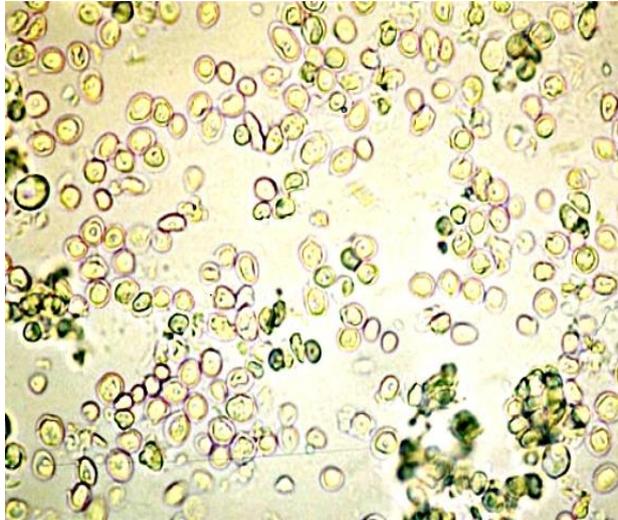
1. Identifier les risques associés à tous les stades du processus de production, les évaluer et établir les mesures préventives.
2. Déterminer les points critiques.
3. Établir une valeur cible pour chaque point critique identifié.
4. Établir un système de surveillance.
5. Mettre en place les actions correctrices nécessaires.
6. Vérifier le bon fonctionnement du système.
7. Établir un système documentaire.

## Annexe 05 :

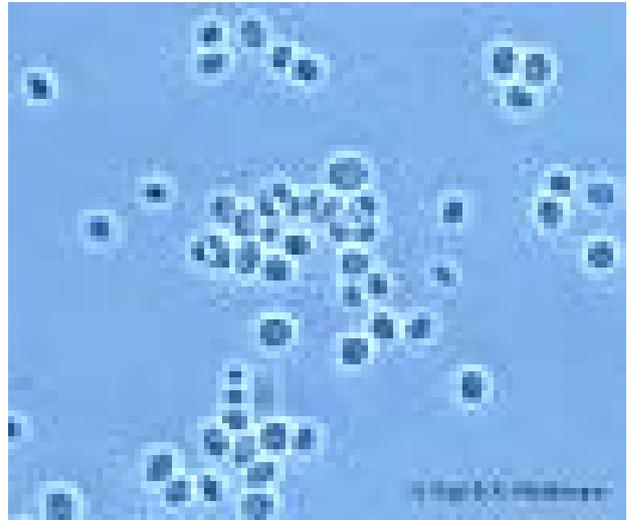
Tableau 01 : Des cas de toxi-infections alimentaires collectives dans l'est algérien [12]

Date	Lieu	Personnes touchés	Repas	Symptômes
18 avril 1999	lycée à Meskana, wilaya d'Oum el-bouaghi	35	- des gâteaux à la crème	- vomissements - diarrhée
21 juillet 2000	foret dans la région de Constantine	40	-poulet	-violents vomissements
18 juin 2001	restaurant d'entreprise (CPG – Ain Smara).	52	-Morceaux de veau avec des champignons en sauce	-diarrhée -légères coliques
juin 2003	restaurant d'un centre professionnel qui a abrité une journée d'études et de sensibilisation sur les perspectives des métiers dans la construction	40	-rôti de veau avec des olives	-diarrhée - légères coliques
avril 2004	Restaurant d'une crèche en Constantine	15	-la viande hachée demi cuite.	- coliques abdominales - diarrhée profuse. - fièvre a 39-40°.

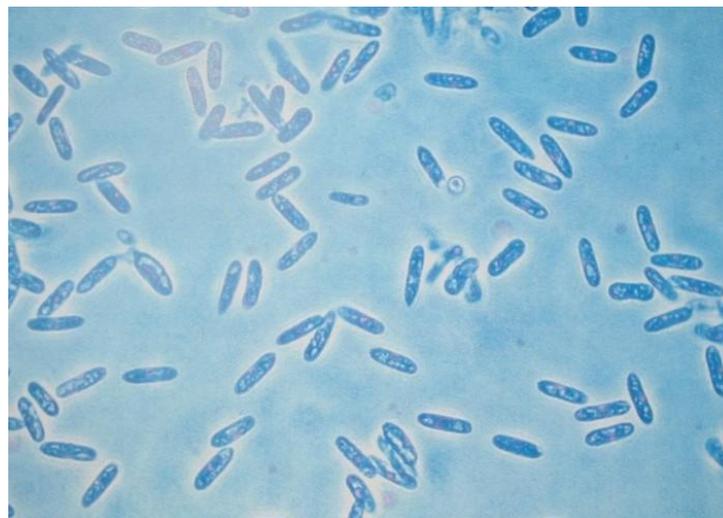
Annexe 06 :



*Saccharomyces cerevisiae*



*Candida pelliculosa*



*Colletotrichum gloeosporioides*

**Figure : L'aspect microscopique de quelques espèces fongi**