



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

N série:.....

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمدة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجية الحيوية والجزئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences  
biologiques

Spécialité : Toxicologie appliquée

### THEME

*Contribution à l'étude de la qualité  
microbiologique de la restauration collective :  
cas de restaurant universitaire d'El oued*

Présenté Par :

M<sup>me</sup> Dhob Wafa

M<sup>me</sup> ISMAILI Kawther

Soutenu publiquement le Devant le jury composé de :

Présidente : M<sup>elle</sup> GUEMEOUDA M.

M.C.B, Université d'El Oued.

Examinatrice : M<sup>me</sup>. HOUMRI N.

M.A.A, Université d'El Oued.

Promotrice : M<sup>me</sup>. BOURAS B.

M.A.B, Université d'El Oued.

## Remerciements

Dieu dit:

(وَإِذْ تَأْتِيَن رَّبُّكُمْ آلَيْنَ شَكَرْتُمْ لَأَرْيَنَّكُمْ وَلَئِن كَفَرْتُمْ إِنَّ عَذَابِي لَشَدِيدٌ)

(Verset 07 Sourate Ibrahim)

Louange à **Dieu** qui nos montré le chemin de la science et de la connaissance et a nos aidé à accomplir cette tâche et nos aidé à finir ce travail, comme l'indique l'impact : qui ne pas remercier personnes ne pas remercier **Dieu** .

Que ce soit d'un point de vue scientifique ou humain, la réalisation de ce mémoire fut pour notre une expérience d'une immense valeur.

Scientifiquement, ces mois ont représenté une opportunité précieuse d'apprendre un peu davantage sur les procédés microbiologique et de découvrir. Humainement, cette période a été marquée par d'énormes d'amitié, de résilience et d'humilité scientifique.

Ainsi, nous ne peux que remercier tous ceux qui étaient à notre côtés au cours de cette expérience.

Nous remercions vivement Madame **SALHI BOURAS Biya** , d'avoir accepté de nos diriger tout au long de ce travail, qu'elle trouve ici le témoignage de note gratitude.

Nous voudrions également remercier les membres du jury :

Président: **GUEMEOUDA Messouda** et Examineur: **HOUMRI Nawel**.

Remercions du fond du cœur notre formidables collègues et amis qui ont toujours été là pour nos soutenir et avec qui nous avons partagés des moments inoubliables.

Nous remercions aussi le directeur de la résidence universitaire qui nous a reçus et nous a permis malgré les difficultés de prélever des échantillons au restaurant.

*Merci*



### Liste des figures

### Liste des tableaux

### Liste des abréviations

|                          |           |
|--------------------------|-----------|
| <b>Introduction.....</b> | <b>01</b> |
|--------------------------|-----------|

.

## **Chapitre 1 : Généralités sur la restauration collective**

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| I. 1 Historique .....                                                | 03 |
| I.2 Restauration hors domicile .....                                 | 03 |
| I.3 Restauration collective.....                                     | 04 |
| I.3.1 Différents secteurs de la restauration collective.....         | 04 |
| I.3.2 Importance de la restauration collective.....                  | 05 |
| I.3.2.1 Importance économique et sociale.....                        | 05 |
| I.3.2.2 Importance hygiénique.....                                   | 05 |
| I.3.2.3 Importance professionnelle.....                              | 05 |
| I.3.3 Classification de la restauration collective.....              | 05 |
| I.3.3.1 Selon la nature de la collectivité concernée (vocation)..... | 05 |
| I.3.3.2 Selon le mode de gestion.....                                | 06 |
| I.3.3.3 Selon le mode de prise de repas.....                         | 06 |
| I.3.3.4 Selon les lieux de préparation et de distribution.....       | 07 |
| I.4 Réglementation applicable à la restauration (Législation).....   | 07 |

## **Chapitre II : Application des règles d'hygiène**

|                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------|----|
| II.1 Hygiène et sécurité alimentaires en collectivité .....         | 09 |
| II.1.1 Sécurité alimentaire .....                                   | 09 |
| II.1.2 Hygiène des denrées alimentaires (Hygiène alimentaire) ..... | 09 |
| II.2 Principes d'hygiènes .....                                     | 09 |
| II.2.1 Matières premières (Les denrées alimentaires).....           | 10 |
| II.2.2 Milieu .....                                                 | 10 |
| II.2.3 Main d'œuvre (Personnel) .....                               | 10 |
| II.2.4 Méthodes .....                                               | 10 |
| II.2.5 Matériel (Equipements) .....                                 | 11 |
| II.3 Hygiène des locaux et surfaces .....                           | 11 |
| II.3.1 Conception des locaux .....                                  | 11 |

## **Sommaire**

---

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| II.3.1.1 Principe de « la marche avant » .....                       | 11 |
| II.3.1.2 Séparation des secteurs .....                               | 11 |
| II.3.1.3 Le non-entrecroisement des courants de circulation .....    | 12 |
| II.3.1.4 Aménagement rationnel .....                                 | 12 |
| II.3.2 Entretien physique .....                                      | 12 |
| II.3.3 Entretien hygiénique .....                                    | 12 |
| II.3.3.1 Nettoyage .....                                             | 12 |
| II.3.3.2 Désinfection .....                                          | 13 |
| II.3.4 Différents types de locaux .....                              | 13 |
| II.3.4.1 Locaux techniques.....                                      | 13 |
| II.3.4.2 Vestiaires sanitaires.....                                  | 14 |
| II.3.4.3 Locaux administratifs.....                                  | 14 |
| II.4 Hygiène de matériel.....                                        | 14 |
| II.4.1 Conception.....                                               | 14 |
| II.5 Hygiène de personnel.....                                       | 15 |
| II.5.1 Etat de santé.....                                            | 15 |
| II.5.2 Hygiène corporelle.....                                       | 15 |
| II.5.3 Propreté vestimentaire.....                                   | 16 |
| II.5.4 Formation professionnelle.....                                | 16 |
| II.6 Mesures d'hygiène applicables à la restauration collective..... | 16 |
| II.7 Système HACCP.....                                              | 17 |
| <b>Chapitre III : Généralités sur le contrôle microbiologique</b>    |    |
| III.1 Objectif du contrôle .....                                     | 18 |
| III.2 Plats cuisiniers .....                                         | 18 |
| III.2.1 Groupe des plats cuisiniers .....                            | 18 |
| III.3 Microbiologie des plats cuisiniers .....                       | 18 |
| III.4 Différents types de germes .....                               | 19 |
| III.4.1 Flore mésophile aérobie totale à 30°C (FMAT ).....           | 19 |
| III.4.2 Les Coliformes.....                                          | 19 |
| III.4.2.1 Coliformes totaux (CT) .....                               | 19 |
| III.4.2.2 <i>Salmonella</i> .....                                    | 20 |
| III.4.2.3 Coliformes fécaux (CF/CTT) .....                           | 20 |
| III.4.3 Anaérobies Sulfito-réducteurs .....                          | 21 |

## Sommaire

---

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| III.4.3.1 <i>Clostridium perfringens</i> .....                    | 21 |
| III.4.3.2 <i>Clostridium botulinum</i> .....                      | 22 |
| III.4.4 <i>Staphylococcus aureus</i> .....                        | 22 |
| III.4.5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....                       | 23 |
| III.5 Principales affections humaines d'origine alimentaire ..... | 23 |
| III.5.1 Infections alimentaires .....                             | 23 |
| III.5.2 Intoxications alimentaires .....                          | 23 |
| <b>Matériels et méthodes</b>                                      |    |
| I. Présentation du cadre d'étude.....                             | 25 |
| I.2 Chambres froides .....                                        | 26 |
| I.3 Accessoire .....                                              | 26 |
| II Matériel du travail.....                                       | 26 |
| II. 1 Matériel d'enquête .....                                    | 26 |
| II. 2 Matériel de prélèvement .....                               | 27 |
| II.2 Matériel de laboratoire .....                                | 27 |
| II.2.1 Appareillage .....                                         | 27 |
| II.2.2 Petits matériel .....                                      | 27 |
| II. 2.3 Milieux de culture et récifs et colorants.....            | 27 |
| III Echantillonnage .....                                         | 28 |
| III.1 Ecouvillonnage des surfaces.....                            | 28 |
| III.1.1 Mains .....                                               | 29 |
| III.1.2 Équipement et paillasse .....                             | 29 |
| III.2 Eau consommation .....                                      | 29 |
| III.3 Repas chaud ( <b>avant service</b> ) .....                  | 30 |
| III.4 Nombre et nature des échantillons .....                     | 30 |
| III.4.1 Les surfaces .....                                        | 30 |

## Sommaire

---

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| III.4.2 repas chauds et eau de consommation                                     | 31 |
| IV. Méthode.....                                                                | 32 |
| IV.1 Analyses microbiologiques (surface et mains) .....                         | 32 |
| IV.1.1 Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) .....           | 32 |
| IV.1.2 Recherche des entérobactéries.....                                       | 33 |
| IV.1.3 Recherche des salmonelles.....                                           | 33 |
| IV.1.3.1 Préenrichissement non sélectif.....                                    | 33 |
| IV.1.3.2 Phase d'enrichissement en milieux sélectifs liquides.....              | 33 |
| IV.1.3.3 Phase d'isolement sur milieux sélectifs solides.....                   | 33 |
| IV.1.4 Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> .....                         | 35 |
| IV.1.4.1 Enrichissement à 37°C.....                                             | 35 |
| IV.1.4.2 L'isolement à 37°C.....                                                | 35 |
| IV.2 Analyses microbiologiques des repas chauds.....                            | 35 |
| IV.2.1 Préparation de la solution mère.....                                     | 36 |
| IV.2.2 Dilutions décimales.....                                                 | 36 |
| IV.2.3 Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT).....            | 36 |
| IV.2.4 Dénombrement des coliformes fécaux ( <i>Escherichia coli</i> ).....      | 36 |
| IV.2.6 Recherche des spores de <i>Clostridium sulfito-réducteur</i> à 46°C..... | 37 |
| V.2.6.1 Activation de spores.....                                               | 37 |
| IV.2.6.2 Ensemencement.....                                                     | 37 |
| IV.2.7 Recherche des salmonelles.....                                           | 37 |
| IV.3 Analyses microbiologiques de l'eau de consommation .....                   | 37 |

## Sommaire

---

|                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------|----|
| IV.3.1 Dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants.....        | 38 |
| IV.3.2 Dénombrement des entérocoques.....                                | 38 |
| IV.3.3 Dénombrement des spores anaérobies Sulfito-réductrices.....       | 38 |
| IV.2.4 Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....                  | 38 |
| <b>Résultats et discussions</b>                                          |    |
| I. Résultats .....                                                       | 39 |
| I.1 Analyse microbiologique de surfaces.....                             | 39 |
| I.1.1 Mains.....                                                         | 39 |
| I.1.2 Equipements.....                                                   | 40 |
| I.1.3 Paillasses.....                                                    | 40 |
| I.2 Analyse microbiologique de repas chauds.....                         | 43 |
| I.2.1 Dénombrement des germes aérobies à 30°C (FTAM).....                | 44 |
| I.2.2 Dénombrement des <i>Escherichia coli</i> .....                     | 44 |
| I.2.3 Dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i> .....                | 45 |
| I.2.4 Recherche des spores de <i>Clostridium sulfito-réducteur</i> ..... | 47 |
| I.2.5 Recherche des salmonelles.....                                     | 47 |
| 1.3 Analyse microbiologique d'eau de consommation.....                   | 50 |
| 1.3.1 Dénombrement des coliformes totaux.....                            | 50 |
| 1.3.2 Dénombrement des coliformes <i>Escherichia coli</i> .....          | 50 |
| 1.3.3 Dénombrement Entérocoques.....                                     | 51 |
| 1.3.4 Dénombrement de spores des anaérobies Sulfito-réductrices.....     | 52 |
| 1.3.5 Dénombrement <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....                   | 52 |
| II. Discussion générale.....                                             | 54 |

## *Sommaire*

---

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| Conclusion.....             | 56 |
| Références bibliographiques |    |
| Annexe                      |    |

## LISTE DES FIGURES

|                  |                                                                                      |    |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 01</b> | Schéma des différents types de restauration hors domicile.....                       | 04 |
| <b>Figure 02</b> | Diagramme d'Ishikawa .....                                                           | 09 |
| <b>Figure 03</b> | Images photographiques de la cité A.....                                             | 25 |
| <b>Figure 04</b> | Images photographiques de quelques appareillages.....                                | 27 |
| <b>Figure 05</b> | Ecouvillonnage humide .....                                                          | 28 |
| <b>Figure 06</b> | Ecouvillonnage des équipements et paillasses.....                                    | 29 |
| <b>Figure 07</b> | Prélèvement des échantillons de l'eau de consommation.....                           | 30 |
| <b>Figure 08</b> | Prélèvement de repas chaud avant service. ....                                       | 30 |
| <b>Figure 09</b> | Schéma récapitulatif des étapes de recherche des salmonelles .....                   | 34 |
| <b>Figure 10</b> | Testes de confirmation.....                                                          | 40 |
| <b>Figure 11</b> | Evaluation globale de la qualité hygiénique des surfaces (mains et équipements)..... | 42 |
| <b>Figure 12</b> | Niveau de contamination par type de surfaces.....                                    | 42 |
| <b>Figure 13</b> | Niveau de contamination des repas chauds par FTAM. ....                              | 44 |
| <b>Figure 14</b> | Aspect des colonies de FTAM sur milieu PCA.....                                      | 44 |
| <b>Figure 15</b> | Niveau de contamination des repas chauds par <i>Escherichia coli</i> .....           | 45 |
| <b>Figure 16</b> | Aspect d' <i>E. Coli</i> .....                                                       | 45 |
| <b>Figure 17</b> | Niveau de contamination des repas chauds par <i>Staphylococcus aureus</i> .....      | 46 |
| <b>Figure 18</b> | Aspect du <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                         | 46 |

|                  |                                                                                                                |    |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 19</b> | Contamination des repas chauds par les spores <i>Clostridium</i> sulfito-<br>réducteurs.....                   | 47 |
| <b>Figure 20</b> | Aspect des colonies des clostridium sulfito-réducteur.....                                                     | 47 |
| <b>Figure 21</b> | Contamination globale des repas chauds par les Salmonelles.....                                                | 48 |
| <b>Figure 22</b> | Aspect de colonies suspectes de Salmonella sur milieu Hektoen.....                                             | 48 |
| <b>Figure 23</b> | Niveau de contamination globale par type de germes par rapports aux<br>repas chaud.....                        | 49 |
| <b>Figure 24</b> | Interprétation globale des résultats d'analyses des repas.....                                                 | 49 |
| <b>Figure 25</b> | Contamination de l'eau de consommation par <i>E. coli</i> .....                                                | 51 |
| <b>Figure 26</b> | Test de confirmation d ' <i>E. coli</i> .....                                                                  | 51 |
| <b>Figure 27</b> | Contamination de l'eau de consommation par <i>Pseudomonas</i> .....                                            | 52 |
| <b>Figure 28</b> | Contamination de l'eau de consommation par <i>Pseudomonas</i> .....                                            | 53 |
| <b>Figure 29</b> | Niveau de contamination globale par type de germes par rapports aux<br>échantillons d'eau de consommation..... | 53 |
| <b>Figure 30</b> | Interprétation globale des résultats d'analyses de l'eau de consommation                                       | 53 |

## LISTE DES TABLEAUX

|                   |                                                                                    |    |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau 01</b> | Tableau récapitulatif des prélèvements de surface.....                             | 31 |
| <b>Tableau 02</b> | Tableau récapitulatif des prélèvements des repas chauds et l'eau. ....             | 32 |
| <b>Tableau 03</b> | Critères bactériologiques, surfaces et mains après nettoyage et désinfection ..... | 35 |
| <b>Tableau 04</b> | Résultats des cultures du contenu des écouvillons de mains .....                   | 37 |
| <b>Tableau 05</b> | Résultats des cultures du contenu des écouvillons des équipements....              | 40 |
| <b>Tableau 06</b> | Résultats des cultures du contenu des écouvillons de paillasses.....               | 41 |
| <b>Tableau 07</b> | Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires (repas chaud).....  | 43 |
| <b>Tableau 08</b> | Critères microbiologiques applicables à l'eau de consommation.....                 | 50 |

## LISTE DES ABREVIATIONS

**RC** : Restauration Collective

**DLC** : Date Limite de Consommation

**DLUO** : Date Limite d'Utilisation Optimale

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

**NASA** : National Aeronautics and Space Administration (Agence Spatiale Américaine)

**ISO** : Organisation International de Normalisation **pH** : Potentiel Hydrogène

**CT** : Coliformes totaux

**CTT** : Coliformes thermotolérants

**CF** : Coliformes fécaux

**TIA** : Toxi-infection alimentaire

**TIAC** : Toxi-infection alimentaire collective

**FMAT** : Flore Mésophile aérobie totale

**DA** : Denrées Alimentaires

**MO** : Microorganismes

**ASR** : Anaérobies Sulfite-Réducteurs

**PCA** : Plate Count Agar

**SM** : Solution mère

***S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*

***E. coli*** : *Escherichia coli*

***C. botulinum*** : *Clostridium botulinum*

***C. perfringens*** : *Clostridium perfringens*

***P.aeruginosa*** : *Pseudomonas aeruginosa*

**UFC** : Unité formant colonies

**VRBL** : Violet Red Bile Lactose

**ONPG** : Orthonitrophényl -D-Galactopyranoside

**XLD** : Xylose-lysine-Désoxycholate

**RV** : Rappaport Vassiliadis

**SC** : Sélénite cystine

**VF** : Gélose viande foie

**VRBG** : Gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

**TSE** : Eau-Tryptone-Sel

## Résumé

Dans la restauration universitaire en particulier, l'application des règles d'hygiène reste un problème très délicat. En effet, les grandes quantités de denrées préparées quotidiennement font que les règles d'hygiène sont souvent négligées. La présente étude réalisée au laboratoire pédagogique de l'université de HAMMA LAKHDAR El Oued, a permis d'analyser la qualité microbiologique des denrées alimentaires dans le restaurant d'une cité universitaire au niveau de la wilaya d'El Oued, ainsi que de déterminer les germes en causes (flore mésophile aérobie totale, coliformes totaux et fécaux, anaérobies sulfito-réducteurs, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella*). Les résultats ont été interprétés selon les normes microbiologiques algériennes en vigueur et autres normes internationales.

Sur les 49 échantillons entre surfaces (en contact direct avec les aliments), eau de consommation et les repas chauds prélevés du restaurant universitaires. Les résultats des analyses microbiologiques effectuées ont montré un taux de non-conformité élevé pour les surfaces (80%), en particulier les surfaces vivantes (mains) (100%) et moyennement considérable pour les résultats d'analyses d'eau de consommation (47.05%), et relativement faible pour les résultats de repas chauds (17.64%).

---

**Mots clés :** Restauration universitaire, Hygiène, qualité, surface, eau de consommation, repas chauds.

## الملخص

في المطاعم الجامعية بشكل خاص، يظل تطبيق قواعد النظافة مشكلة حساسة للغاية. في الواقع، فإن الكميات الكبيرة من المواد الغذائية التي يتم إعدادها يوميًا تعني أن قواعد النظافة غالباً ما يتم إهمالها. أجريت هذه الدراسة في المختبر التدريسي بجامعة حماة لخضر العود، والتي سمحت بتحليل الجودة الميكروبيولوجية للمواد الغذائية في مطعم مدينة جامعية على مستوى ولاية الواد، وكذلك لتحديد الكائنات المسببة (مجموع النباتات الهوائية المتوسطة، القولونيات الكلية والبرازية، اللاهوائية الخافضة للكبريتات، المكورات العنقودية الذهبية، الزائفة الزنجارية والسالمونيلا). تم تفسير النتائج وفقاً للمعايير الميكروبيولوجية الجزائرية المعمول بها والمعايير الدولية الأخرى

من بين 49 عينة بين الأسطح (في اتصال مباشر مع الطعام)، مياه الشرب والوجبات الساخنة المأخوذة من مطعم الجامعة. أظهرت نتائج التحاليل الميكروبيولوجية التي أجريت نسبة عالية من عدم الامتثال للأسطح (80 ٪)، ولا سيما السطوح الحية (الأيدي) (100 ٪) وكبيرة معتدلة لنتائج تحليلات مياه الشرب (17.64 ٪) (47.05 ٪)، وانخفاض نسبياً لنتائج الوجبات الساخنة

---

الكلمات المفتاحية: المطاعم الجامعية، النظافة، الجودة، السطح، مياه الشرب، الوجبات الساخنة

## Summary

In university catering in particular, the application of hygiene rules remains a very delicate problem. In fact, the large quantities of food prepared daily mean that hygiene rules are often neglected. The present study carried out in the teaching laboratory of the University of HAMMA LAKHDAR El Oued, allowed to analyze the microbiological quality of the foodstuffs in the restaurant of a university city at the level of the wilaya of El Oued, as well as to determine the causative organisms (total aerobic mesophilic flora, total and faecal coliforms, sulphito-reducing anaerobes, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella*). The results have been interpreted according to Algerian microbiological standards in force and other international standards.

Of the 49 samples between surfaces (in direct contact with food), drinking water and hot meals taken from the university restaurant. The results of the microbiological analyzes carried out showed a high rate of non-compliance for surfaces (80%), in particular living surfaces (hands) (100%) and moderately considerable for the results of drinking water analyzes (47.05%), and relatively low for hot meal results (17.64%).

---

**Keywords :** University catering, Hygiene, quality, surface, drinking water, hot meals.

La restauration collective constitue une importante activité planétaire visant à assurer la prise en commun de nourriture par un ensemble de personnes appelées convives, cette activité revêt un double caractère : Elle peut être réalisée à but lucratif (cas des hôtels, restaurants privés, etc) et Elle peut revêtir un caractère purement social (restaurants les hôpitaux, l'armée, universitaires, etc.) (**Mfouapon njueya, 2006**).

Le concept qualité n'est pas une invention du XXI siècle, de tout temps, la qualité a été une notion rattachée à la fierté du travail bien fait, par contre la sécurité des aliments servis dans les restaurations collectives reste un souci majeur pour les services officiels du contrôle (**Faye, 2007 ; Tayou, 2007**). Aujourd'hui, la sécurité sanitaire des aliments est une préoccupation globale du fait de son importance pour la santé publique, mais aussi du fait de son impact sur le commerce international. C'est ainsi que des systèmes de sécurité alimentaire efficaces doivent être élaborés pour gérer et garantir la sécurité et la salubrité des denrées alimentaires. En restauration collective, l'application des principes d'hygiène est indispensable et doit être suivie avec rigueur (**Diouf, 2013**).

Les mesures d'hygiène portent sur l'hygiène des mains, l'hygiène alimentaire, l'hygiène des locaux, du matériel, du linge et l'hygiène individuelle (**Billette de Villemeur et al., 2012**), lorsque l'ensemble de ces conditions d'hygiène sont négligées, il y a prolifération possible des microorganismes et apparition de troubles importants (intoxications, toxi-infections alimentaires).

Dans la restauration collective universitaire en particulier, les grandes quantités de denrées préparées quotidiennement font que les règles élémentaires d'hygiène sont souvent négligées. Ceci est particulièrement vrai dans nos pays à climat chaud et où la main d'œuvre a souvent un faible niveau de formation (**Alassane, 1998**). La contamination microbiologique des aliments due à des matières premières contaminées, des températures de cuisson insuffisantes, une conservation inadaptée, un équipement contaminé et un manque d'hygiène du personnel manipulateurs de ces aliments peuvent être les causes des toxi-infections alimentaires collectives, faisant ainsi apparaître leur importance tant pour la santé publique que du point de vue social (**Custovic et Ibrahimagic, 2005**).

Les manipulateurs d'aliments peuvent également être porteurs asymptomatiques des microorganismes responsables d'intoxication alimentaire. Cela se traduit généralement par des mains mal lavées, des techniques de préparation de nourriture impropre, ainsi qu'une mauvaise

procédure de nettoyage des surfaces de préparation des aliments tels que les tables et les planches à découper (**Zhao et al., 1998 ; Salo et al., 2000**).

Dans ce cadre, l'objectif de notre étude est d'apprécier la qualité hygiénique des opérateurs et des surfaces de conditionnement ainsi que de déterminer les différents germes pouvant contaminer les plats préparés cuits servis aux étudiants dans un site universitaire. L'analyse microbiologique cible les germes aérobies totales mésophiles (FTAM), coliformes totaux et thermotolérants, anaérobies sulfite-réducteurs, *staphylocoques aureus*, *Salmonella* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Notre travail comporte deux parties :

- La première partie théorique passe en revue les généralités sur la restauration collective, l'application des règles d'hygiène et aussi et le contrôle microbiologique ;
- La deuxième partie pratique consacrée à la partie expérimentale qui englobe le matériel utilisé et les méthodes suivies pour les analyses microbiologiques de surfaces et aliments, ainsi que la présentation des résultats obtenus avec une discussion générale. Enfin, une conclusion fera la synthèse des résultats obtenus.

### I.1 Historique

Depuis que l'homme est organisé en société, il a dû nourrir ses armées, organiser des repas de nocces, d'enterrement ou de rassemblement au cours des rites religieux. La fin du XVIII<sup>e</sup> siècle que le terme de restaurant a été utilisé au départ pour désigner un bouillon de viande fortifiant. L'appellation s'est étendue au lieu où on le consommait pour finir par désigner tous les lieux publics où on servait des repas **(Diallo, 2010)**.

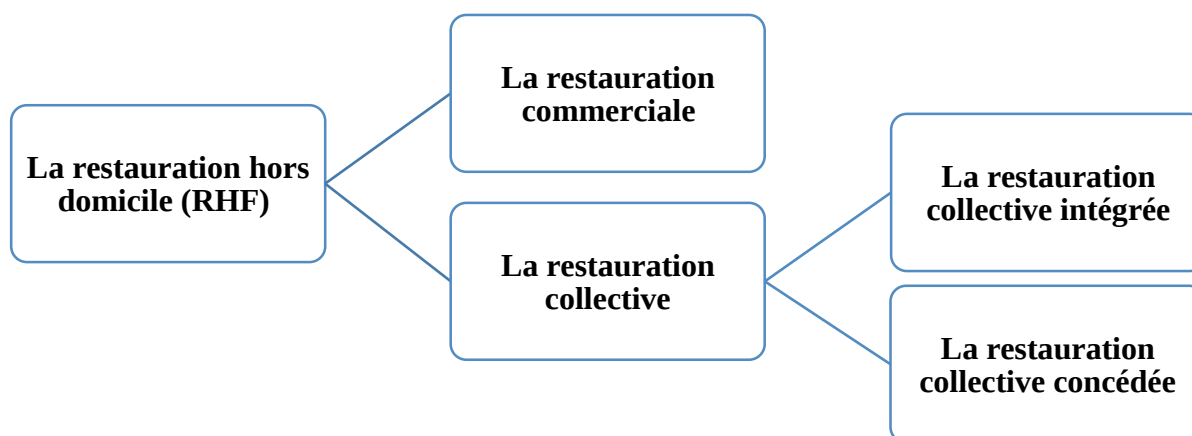
Le développement des restaurations sur les lieux de travail à partir de la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, répond à une logique de rationalisation du travail mais aussi à une ambition de progrès social passant par l'hygiène et une bonne alimentation. Tant publiques que privées, les opérations promouvant la restauration collective participent d'une « séquence historique » de longue-durée inspirée par la notion d'intérêt général, trouvant son point d'orgue à partir de 1944 avec la volonté de mettre en place un Etat social, où le travail devient un vecteur de citoyenneté **(Mathé et Francou, 2014)**.

### I.2 Restauration hors domicile

Appelé aussi la restauration hors foyer (RHF), qui désigne les prises alimentaires hors domicile comprend la restauration commerciale et la restauration collective **(Figure 01)**. Celle-ci concerne principalement les entreprises et les administrations, les établissements scolaires, hospitaliers, pénitentiaires et militaires. Elle fait pour bénéficier les consommateurs d'un prix de repas inférieur au coût réel de production et de distribution. Le prix d'un repas en restauration collective est donc obligatoirement inférieur à celui pratiqué par la restauration commerciale.

Le principe de ce type de restauration réfère donc à la notion d'œuvre sociale, c'est l'offrir la possibilité de déjeuner à proximité du lieu de travail à un prix réduit, du fait de la prise en charge d'une partie du repas par l'employeur **(Mathé et Francou, 2014)**.

La fourniture d'un repas en dehors du domicile du consommateur peut être réalisée selon de nombreuses modalités. Celles-ci diffèrent notamment selon le consommateur concerné et le type de restauration qui correspond à un métier, un marché et des contraintes spécifiques. Alors, La diversité de la demande, répond la diversité de l'offre **(Lessirard et al., 2019)**.



**Figure 01** : Schéma des différents types de restauration hors domicile (INRS, 2015).

### I.3 Restauration collective

La restauration collective (RC) fait partie d'un ensemble appelé la restauration hors domicile (RHD) et correspond à une activité caractérisée par la fourniture de repas à une collectivité de consommateurs réguliers, liée par accord ou par contrat (MAAF, 2016).

L'activité de restauration collective comprend la fourniture et la préparation de repas à prix réduits, à des groupes de personnes clairement définis ayant un lien entre elles, cette activité concerne aussi les cuisines centrales de préparation de repas destinés (INRS, 2015).

#### I.3.1 Différents secteurs de la restauration collective

La restauration collective regroupe cinq grands secteurs :

- ✓ **Le secteur de l'enseignement** qu'il regroupe les établissements scolaires et universitaires publics et privés ;
- ✓ **Le secteur du médico-social** qu'il regroupe les hôpitaux, les cliniques, les maisons de retraites, les établissements pour personnes âgées dépendantes et les maisons pour enfants ;
- ✓ **Le secteur de l'entreprise** qu'il regroupe les administrations et les entreprises publiques et privées ;
- ✓ **Le secteur loisirs** qu'il regroupe les maisons et auberges de jeunesse, les centres de loisirs et de vacances ;
- ✓ **le secteur divers** qu'il regroupe les collectivités religieuses, les prisons et l'armée (Morere, 2015).

### I.3.2 Importance de la restauration collective

#### I.3.2.1 Importance économique et sociale

La restauration collective est caractérisé par la garantie du prix : un repas moins cher et subventionné totalement pris en charge par la collectivité (comme dans les secteurs de la santé, du social et du médicosocial).un repas bénéficié gratuit ou à prix réduit représente un avantage social majeur au sein de l'entreprise, dans les écoles, les administrations ou les hôpitaux, d'autant plus important dans un contexte économique difficile. L'alimentation accessible à tous, qui allie plaisir et équilibre nutritionnel.

Les RC sont très attentives aux dimensions de plaisir et de convivialité qui font partie intégrante de l'acte de nourrir (SNRC, 2019).

#### I.3.2.2 Importance hygiénique

La restauration est souvent considérée comme synonyme de nourriture malsaine pour la qualité médiocre et la variété des ingrédients et pour l'abondance de plats frits, gras, salés et sucrés (Barcellona, 2019). Elle est immense du fait des risques élevés de maladies d'origine alimentaire (toxi-infections, intoxications) et la probabilité des risques d'altération de denrées (Diallo, 2010).

#### I.3.2.3 Importance professionnelle

La restauration collective est soumise aux lois sur la santé ; sur vétérinaire ; sur phytosanitaire et la loi relative aux règles générales de protection du consommateur (Hafiz, 2008), dans ce cas, elle est grande pour les professionnels (vétérinaires, hygiénistes...) intervenant dans le contrôle de la qualité et de la salubrité des aliments (Diouf, 2013).

### I.3.3 Classification de la restauration collective

#### I.3.3.1 Selon la nature de la collectivité concernée (vocation)

##### A. RC à caractère social

Les repas sont gratuits ou subventionnés. La restauration sociale se caractérise par le type de clientèle servie.

La RC à caractère social rassemble les établissements publics ou privés assurant un service de restauration à titre gratuit ou onéreux et dont une partie au moins de la clientèle est constituée d'une collectivité de consommateurs réguliers. Elle regroupe, notamment, les restaurants scolaires, les restaurants des hôpitaux, les restaurants du secteur pénitentiaire ou militaire et les

## Chapitre I : Généralités sur la restauration collective

restaurants liés à une entreprise. Elle se caractérise par un prix du repas facturé aux convives inférieures à l'offre commerciale des restaurants avoisinants (**Duriez et al., 2012**).

### B. RC à caractère commercial

Elle recouvre trois activités :

- ✓ **Restauration rapide** : Fast-food, restauroute, cafétéria, snack, sandwicherie, food-court;
- ✓ **Restauration traditionnelle** : classiques, d'hôtels, pensions de famille, de tourisme ;
- ✓ **Restauration traiteur** : traiteur classique, à domicile,... ;
- ✓ **Restauration à thèmes** : autour d'un produit, d'un pays, d'un art de vivre ;
- ✓ **Restauration dans les transports** : aérienne, ferroviaire, dans les bateaux (**Lacombe, 2016**).

### I.3.3.2 Selon le mode de gestion

Il y a deux modes de gestions pour assurer la restauration de ses ayants-droit :

- A. RC en autogestion ou intégrée** : Est le cas qui confier la responsabilité de la confection des repas à une structure interne ;
- B. RC concédée** : Est le cas qui la déléguer à une entreprise de restauration collective spécialisée qui intervient alors comme un prestataire extérieur (**Mathé et Francou, 2014**).

### I.3.3.3 Selon le mode de prise de repas

#### A. Restauration traditionnelle

L'investissement est généralement plus conséquent car au contraire de la restauration rapide, le service se fait en salle et à consommer sur place. Cela demande donc une plus grande surface et de recruter des serveurs comme les restaurants gastronomiques, les brasseries, les hôtels, les coffee shop et les restaurants familiaux, se caractérise par sa grande diversité et sa facilité d'accès.

#### B. Restauration rapide ou le fast food

Certainement le type de restaurant le plus prisé. Il demande un investissement financier généralement plus faible. Selon INRS, c'est un mode de restauration dont l'objectif est de faire gagner du temps au client en lui permettant d'emporter rapidement les plats commandés comme Pizzas livrées à domicile, hamburgers, sandwichs et paninis, brownies et muffins, cafés

aromatisés ou thés..., consommés sur place ou emportés, autant d'offres alimentaires qui font partie du paysage de la restauration de type rapide, caractérisée par ses respectant les traditions (INRS, 2016).

### **I.3.3.4 Selon les lieux de préparation et de distribution** Nous

distinguons deux types :

**A. Type « sur place et tout de suite »** : la cuisine et la prise du repas sont sur place ;

**B. Type « ailleurs et plus tard » ou restauration différée dans l'espace et le temps** : la cuisine et le lieu de restauration sont éloignés (Diouf, 2013).

### **I.4 Réglementation applicable à la restauration (Législation)**

En Algérie, la protection du consommateur repose principalement sur une législation que l'on peut scinder en trois :

- ✓ La loi sur la santé ;
- ✓ La loi vétérinaire ;
- ✓ La loi phytosanitaire ;
- ✓ La loi relative aux règles générales de protection du consommateur (Hafiz, 2008).

En droit Algérien, un nouveau décret exécutif n° 17-140 du 11 avril 2017 fixant les conditions d'hygiène et de salubrité lors du processus de mise à la consommation humaine des denrées alimentaires) s'applique aux locaux de préparations alimentaires, au transport des denrées, aux équipements, aux déchets alimentaires, à l'alimentation en eau, à l'hygiène personnelle, aux ingrédients, à l'emballage, au traitement thermique et à la formation. vise essentiellement à favoriser le respect de bonnes pratiques d'hygiène et des principes «HACCP» «analyse des dangers/points critiques pour leur maîtrise».

Pour les règles générales d'Hygiène, infractions aux règlements d'Hygiène :

- Décret exécutif n° 15-172 du 25 juin 2015 fixant les conditions et les modalités applicables en matière de spécifications microbiologiques des denrées alimentaires ;
- Décret exécutif n° 12-203/2012 du 6 mai 2012 relatif aux règles applicables en matière de sécurité des produits ;
- Décret exécutif n° 11-125 du 22 mars 2011, modifié et complété, relatif à la qualité de l'eau de consommation humaine ;

## **Chapitre I : Généralités sur la restauration collective**

- Loi algérienne n°09-03 du 25 Février 2009, modifiée, susvisée, le présent décret a pour objet de fixer les conditions d'hygiène et de salubrité lors du processus de mise à la consommation des denrées alimentaires destinées à la consommation humaine ;
- Autocontrôle, procédures de contrôle HACCP, Loi algérienne n°09-03 du 25 Février 2009. Principes généraux d'hygiène, de construction et de fonctionnement : Conception, réalisation et fonctionnement des locaux et installations doivent respecter les principes fondamentaux pour éviter les risques potentiels de contamination (**JORA n°24 2017**).

### II.1 Hygiène et sécurité alimentaires en collectivité

#### II.1.1 Sécurité alimentaire

La sécurité alimentaire est l'assurance que les denrées alimentaires sont sans danger pour le consommateur quand elles sont préparées et consommées conformément à l'usage auquel elles sont destinées (**JORA n° 24, 2017**). C'est une situation caractérisée par le fait que toute la population a, en tout temps, un accès matériel et socioéconomique garanti à des aliments sans danger et nutritifs en quantité suffisante pour couvrir ses besoins alimentaires, répondant à ses préférences alimentaires, et lui permettant de mener une vie active et d'être en bonne santé (**FAO, 2015**). C'est une exigence minimale qui ne se négocie pas. Ce terme est utilisé pour désigner l'assurance que les aliments ne causeront pas de dommage au consommateur quand ils sont préparés et consommés (**Becila, 2009**).

#### II.1.2 Hygiène des denrées alimentaires (Hygiène alimentaire)

Hygiène des denrées alimentaires est les mesures et conditions nécessaires pour maîtriser les dangers (biologiques, chimiques et physiques) et garantir le caractère propre à la consommation humaine d'une denrée alimentaire compte tenu de l'utilisation prévue (**JORA n°24, 2017**), et aussi se définit comme l'ensemble des règles simples permettant d'éviter les intoxications alimentaires et de s'alimenter en toute sécurité (**Becila, 2009**). Les mesures d'hygiène portent sur :

- ✓ L'hygiène des mains (personnel) ;
- ✓ L'hygiène des locaux et surfaces (nettoyage, désinfection, matériaux, agencement...) ;
- ✓ L'hygiène du matériel ;
- ✓ L'hygiène du linge.....etc. (**Billette de Villemeur et al., 2012**).

### II.2 Principes d'hygiènes

Pour matière l'hygiène alimentaire, cinq catégories d'éléments sont identifiées comme ayant une influence sur la salubrité du produit fini (**Figure 02**) :



**Figure 02** : Diagramme d'Ishikawa (**Corpet, 2014**).

### II.2.1 Matières premières (Les denrées alimentaires)

Les matières premières et ingrédients entreposés doivent être conservés dans des conditions adéquates d'une part, d'éviter toute détérioration néfaste et d'autre part, de protéger les denrées contre toute contamination susceptible. Un produit de qualité c'est avant tout de bonnes matières premières, il faut vérifier la provenance autorisée, la température du produit, la séparation des produits, la DLC ou la DLUO, l'état des marchandises aspect, couleur, odeur,...etc, les conditions de transport. Enfin, Les matériaux d'emballage ; leur entreposage et utilisation ne doivent pas les exposer à un risque de contamination et doivent être faciles à nettoyer et à désinfecter **(CCI A, 2014)**.

### II.2.2 Milieu

Bâtiments et locaux : 7 points d'attention (SMALADE)

S- Séparer les secteurs (sectoriser) : Secteur souillé / sain ; Secteur chaud / froid ;

M- Marche en avant organisée ;

A- Aménager Architecture pour nettoyage et désinfection facile ;

L- Lavables matériaux lisses ;

A- Air maîtrisé, air interne renouvelé, air externe filtré ;

D- Déchets maîtrisés, poubelle fermée ;

E- Eau traitée, propre, potable **(Corpet, 2014)**.

### II.2.3 Main d'œuvre (Personnel)

Les personnels, le « maillon faible » et le plus important sont les sources majeures de germes, Alors, il faut ont propre et en bonne santé, Il faut formulées à l'hygiène aussi bien de façon organisée, présent des Procédures écrites avec de fort engagement de la direction et formées pour son poste de travail **(Corpet, 2014)**.

### II.2.4 Méthodes

- ✓ Le Guide de Bonnes Pratiques de l'Hygiène (GBPH) est un outil indispensable qui doit aux professionnels du secteur restauration de mettre en place les bonnes pratiques d'hygiène et les 7 principes de l'HACCP ;
- ✓ La marche en avant ;
- ✓ La réception des marchandises et élaboration des aliments ;
- ✓ Le Nettoyage et la désinfection ;
- ✓ La gestion des déchets....etc **(SASCTC et STDD SVC, 2009)**.

### II.2.5 Matériel (Equipements)

Tous les équipements que ce soit de par leur conception, leur entretien, le choix des matériaux qui les constituent,...etc. représentent une source de contamination (**Azzug et Madagh, 2013**). Leurs surfaces, dans les zones où les denrées alimentaires sont manipulées et particulièrement celles en contact avec les denrées alimentaires doivent être bien entretenues, faciles à nettoyer et à désinfecter (**SASCTC et STDD SVC, 2009**).

### II.3 Hygiène des locaux et surfaces

#### II.3.1 Conception des locaux

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

##### II.3.1.1 Principe de « la marche avant »

La marche en avant est un principe d'organisation en cuisine professionnelle et de sécurité alimentaire qui conditionne la conception de l'établissement de restauration de la réception des denrées jusqu'à la remise au consommateur. Un bon agencement des locaux permet de gagner en efficacité, donc en rendement (**Carrère et Jaffre-Le bouquin, 2014**).

La marche en avant se déroule dans l'espace et dans le temps :

- ✓ Dans l'espace : Les différentes étapes de la fabrication, de la réception des denrées à leur distribution aux consommateurs s'enchaînent, des tâches les plus sales vers les tâches les plus propres ;
- ✓ Dans le temps : Les différentes étapes de la fabrication s'enchaînent alors que certaines opérations se font dans un même secteur. Dans ce cas, entre chaque étape, un nettoyage et une désinfection sont indispensables (**SASCTC et STDD SVC, 2009**).

##### II.3.1.2 Séparation des secteurs

Le secteur sale (retour des assiettes sales, laverie, sortie des déchets, local poubelles) doit être isolé du secteur propre. Les locaux doivent se situer sauf contrainte particulière sur un seul niveau, au rez-de-chaussée. Les monte-charge et les monte-plats sont déconseillés en raison de leur coût de maintenance et des difficultés d'entretien. Dans les petites structures, la séparation peut se concevoir dans le temps et les règles de marche en avant doivent de même être modulées. Une attention particulière doit être apportée à l'évacuation des déchets. Les différentes opérations peuvent être séquentielles dans un local unique. De fait les ouvertures

d'entrée de personnel et des MP, local de déchets et salle à manger) sont communes mais les opérations sont séparées (**DDPPV, 2010**).

### **II.3.1.3 Le non-entrecroisement des courants de circulation**

Plusieurs courants de circulation peuvent être matérialisés au cours du travail de préparation des repas en cuisine : les matières premières (réception, stockage), les produits finis (préparation, stockage, service), les déchets (restes de repas), le matériel (stockage, utilisation, nettoyage) et le personnel qui utilise l'ensemble des locaux. L'organisation des locaux doit être conçue de façon à ce que ces circuits se croisent le moins possible. Lorsque ces principes sont difficiles à appliquer, une solution de compensation doit être mise en place, comme le décalage dans le temps des circulations (**Carbonel, 2007**).

### **II.3.1.4 Aménagement rationnel**

- ✓ Choix des matériaux ;
- ✓ Revêtement des sols ;
- ✓ Agencement des équipements ;
- ✓ Eaux usées et déchets ;
- ✓ Ventilation ;
- ✓ Installation Frigorifiques ;
- ✓ Alimentation en eau (**Règlement CE n°852-2004 ; INRS, 2007**).

### **II.3.2 Entretien physique**

Les locaux doivent être en bon état : les fissures et trous dans le mur et le sol, les carrelages défaits, le sol glissant et les peintures écaillées doivent être absents (**Mouloudi, 2013**).

### **II.3.3 Entretien hygiénique**

Le nettoyage et la désinfection seront réguliers et systématiques

#### **II.3.3.1 Nettoyage**

Est une opération d'élimination des salissures (particuliers, biologique, liquide, ...etc) à l'aide d'un procédé faisant appel, dans des proportions variables, aux facteurs suivant : action physico-chimique (détergent), action chimique (par exemple action des enzymes), action mécanique (jets, brosses) et temps d'action de ces deux paramètres et température (**Isoard, 1988**).

### II.3.3.2 Désinfection

Selon la norme NF T 72-101, c'est une opération, au résultat momentané, permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés, en fonction des objectifs fixés **(AFNOR, 1981)**.

### II.3.4 Différents types de locaux

#### II.3.4.1 Locaux techniques

##### A. Magasins

Le stockage prolongé des denrées doit être prévenu par une bonne rotation en faisant sortir en premier lieu, les plus anciennes. Les produits alimentaires ne doivent jamais être entreposés à même le sol ou mélangés avec des produits non alimentaires. Il est nécessaire que ces locaux possèdent un système de lutte contre la poussière et les nuisibles **(Rosset et al., 1983)**.

##### B. Le quai de réception

Le quai de réception des matières premières doit être d'accès facile et de dimensions suffisantes en rapport avec la taille du restaurant. Le quai de réception est doté de murs de protection contre les nuisances extérieures **(Seydi dansou, 2009)**.

##### C. Chambres froides

Le volume des chambres froides et leur puissance doivent être adaptés à leur utilisation, spécialisées ou utilisées en fonction du produit. Ils munies de thermomètres et de disjoncteurs différentiels qui se réenclenchent dès la remise du courant. Ces chambres doivent être équipées de rayonnages métalliques et de crochets de manière à éviter l'entreposage au sol **(Seydi dansou, 2009)**.

##### D. Locaux de préparation des denrées

Le sol doit être en matériau solide, non poreux et imputrescible. Il doit disposer de systèmes d'évacuation des eaux usées. L'alimentation en eau potable doit être suffisante. Ces différents locaux de préparation doivent être équipés de table et de matériel de découpe (couteaux, hachoirs, ciseaux, gants), de bacs destinés aux produits traités, de poubelles pour récupérer les déchets. La cuisine doit disposer d'aération comme les hottes, de cuisinières adaptées aux différents types de préparation. Les locaux de préparation doivent être équipés de systèmes d'approvisionnement en eau courante (chaude et froide) à commande non manuelle **(Seydi dansou, 2009)**.

### **E. Locaux pour poubelles**

Le local à poubelles doit de préférence communiquer directement avec l'extérieur, sa température basse que possible et le ramassage des ordures est quotidien. Le nettoyage de cette zone sera facilité par la présence d'un robinet d'eau chaude et d'un système d'évacuation des eaux de lavage par un orifice muni d'une grille et d'un siphon, certains établissements prévoient un système de recueil des huiles usées (**Dajon, 2004**).

### **F. Réfectoire**

Le réfectoire est conçu de manière à rendre confortable l'accueil des convives. Il doit être de dimensions suffisantes, bien équipé en chaises et tables, bien ventilé grâce à un système adapté. La clientèle en restauration collective doit disposer d'ustensiles de table à usage individuel comme : les plats, cuillères, fourchettes et couteaux qui sont généralement en acier inox. Ces ustensiles de table doivent être bien nettoyés et désinfectés après chaque usage et bien rangés dans des placards ou des bacs protégés (**Seydi dansou, 2009**).

#### **II.3.4.2 Vestiaires sanitaires**

Les vestiaires sont situés à l'entrée des restaurants de manière à permettre au personnel de se débarrasser de tous les effets personnels. Ils sont dotés de lavabos alimentés en eau froide et en eau chaude, munis de commande non manuelle (pédale, au genou, au coude ou aux infrarouges). Ils doivent être climatisés ou ventilés et les portes d'entrée doivent être fermées à clef. Sanitaires sont placés à côté des vestiaires et réservés au personnel de ce secteur. Ils sont également équipés de lavabo à commande non manuelle, d'essuie mains à usage unique ou d'appareils à air chaud et de distributeur automatique de savon liquide (**Seydi dansou, 2009**).

#### **II.3.4.3 Locaux administratifs**

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

### **II.4 Hygiène de matériel**

Qu'il s'agisse du gros matériel équipant les locaux ou du petit matériel, les mêmes types de problèmes se posent. Ils sont au nombre de trois :

#### **II.4.1 Conception**

L'entretien des machines et des équipements peut nécessiter des vérifications périodiques ainsi les installations de ventilation doivent être vérifiées annuellement. Les

conduits d'évacuation dans les cuisines doivent être entretenus régulièrement et ramonés au moins une fois par trimestre. Le circuit d'extraction d'air, de buées et de graisse doit être nettoyé au moins une fois par an. Les filtres amovibles sont nettoyés aussi souvent qu'il est nécessaire et au minimum une fois par semaine **(Dajon, 2004)**.

### **A. Machines et appareils**

Les machines et outils de travail devront être conçus et constitués de manière à ce que les matériaux qui la constituent et qui entrent en contact avec les aliments puissent être nettoyés et désinfectés avant chaque utilisation. Les surfaces doivent être lisses, les assemblages limitant les saillies, recoins et rebords. Les liquides provenant des denrées ainsi que les produits de nettoyage, de désinfection et de rinçage doivent pouvoir s'écouler facilement vers l'extérieur de la machine **(Dajon, 2004)**.

### **B. Petit Matériel**

Il s'agit des tranchoirs, des couteaux, du hachoir, des crochets à viande, des louches. Après chaque utilisation ce matériel doit être démonté éventuellement et trempé dans une solution détergente pendant quelque instant puis brossé et rincée. Il sera ensuite entreposé dans un endroit propre à l'abri des souillures poussières **(Durieux, 1978)**.

## **II.5 Hygiène de personnel**

Les dangers de contamination des aliments par le personnel proviennent essentiellement des aléas de son état de santé, d'une hygiène corporelle ou vestimentaire insuffisante et enfin d'un comportement professionnel insatisfaisant soit par méconnaissance des règles élémentaires soit par négligence **(Dajon, 2004)**.

### **II.5.1 Etat de santé**

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

### **II.5.2 Hygiène corporelle**

Il faudrait faire attention à ne pas se toucher les oreilles, le nez, la bouche, les yeux et les cheveux lorsqu'on travaille en contact avec des aliments. Ces parties du corps peuvent transporter un plus grand nombre d'organismes qui pourraient être transmis aux aliments. De

même, il devrait être déconseillé de mâcher un chewing-gum, de manger, de cracher et de fumer car ces activités exigent de se toucher la bouche et la salive peut être disséminée dans l'environnement (**Carbonel, 2007**).

### ✓ Hygiène des mains

La main abrite une flore bactérienne qui compte 1 à 10 millions de bactéries. La flore résidente et la flore transitoire occupent respectivement en profondeur et en superficie le milieu constitué par la peau de la main. La flore transitoire composant 1 % de la flore totale est éliminée par lavage. Le lavage des mains est un aspect clé de la qualité hygiénique. Les produits utilisés, la technique utilisée et la systématisation du lavage sont autant de facteurs d'amélioration de la qualité hygiénique. Le vernis à ongle et les bijoux sont interdits. Il faut se laver les mains selon un protocole adapté. Il est préconisé de réaliser un lavage à l'eau chaude, ongles brossés, à chaque souillure, une fois par heure, après passage aux toilettes, après le nettoyage, après un changement de poste, après s'être mouché et après chaque pause (**Carbonel, 2007**).

### II.5.3 Propreté vestimentaire

Le personnel doit porter des vêtements propres et conformes aux dispositions réglementaires. Mis à part dans la zone de distribution, ces vêtements sont de couleur claire et comprennent des chaussures réservées au travail, une coiffe englobant l'ensemble de la chevelure, un masque bucco-nasal au besoin, des gants à usage unique. Le port des gants est recommandé pour des manipulations en secteur propre, mais où le risque de contamination est élevé et pour des travaux postés : tranchage de viandes, conditionnement de plats cuisinés, dressage de préparations ...etc. Les torchons devront être propres, bien entretenus et changés dès que nécessaire. Tout ce qui serait susceptible de contaminer les aliments (nourriture personnelle, fumée de tabac, présence d'animaux domestiques) ainsi que l'entrée de substances médicamenteuses interdit dans les zones de manipulation et de stockage des aliments (**Dajon, 2004**).

### II.5.4 Formation professionnelle

Le personnel doit connaître et comprendre pour être en mesure d'appliquer. Il lui est donc nécessaire de suivre un enseignement préalable, au cours duquel les notions d'hygiène sont bien expliquées (**Rosset, 1982**).

## II.6 Mesures d'hygiène applicables à la restauration collective

L'ISO 22000 est explicitement conçue pour la sécurité des denrées alimentaires mais cette norme peut également servir en agro-alimentaire pour traiter de l'éthique ou de la sensibilisation des consommateurs.

Quatre normes composent la série ISO 22000 : ISO 22 000 pour la spécification des exigences d'un système de management de la sécurité des aliments ; ISO 22003 pour la mise en œuvre ; ISO 22004 pour la certification ; ISO 22005 pour la traçabilité **(AFNOR, 2000)**.

### II.7 Système HACCP

La méthode HACCP est une méthode de maîtrise de la qualité hygiénique qui a été mise au point il y a plus de trente ans par NASA à destination des astronautes **(Adams et Mousse, 2000)**.

Est l'ensemble des actions et procédures écrites à mettre en place au niveau des établissements pour évaluer les dangers et identifier les points critiques qui menacent la salubrité et la sécurité des denrées alimentaires dans le but de les maîtriser **(JORA n°24, 2017)**.

Il est intimement lié à la sécurité des denrées alimentaires. Cependant, son application ne se limite pas au secteur agroalimentaire uniquement ; elle est aussi utilisée dans autres domaines d'activité comme l'industrie aéronautique, l'industrie chimique ou encore l'industrie nucléaire **(Fédali, 2014)**. Il propose une méthode structurée, responsabilisant, spécifique, préventive, créative, qui intègre les moyens déjà connus : définir les autocontrôles nécessaires et suffisants. Par rapport à l'assurance qualité **(Corpet, 2014)**. Dans le cadre du plan de maîtrise sanitaire, le plan HACCP a son application strictement limitée à la sécurité des aliments et repose sur le fait que les mesures de maîtrise ont des effets mesurables sur le produit fini **(Legnani et al., 2004)**.

### III.1 Objectif du contrôle

Le but essentiel du contrôle microbiologique des repas en restauration est d'apprécier la salubrité des plats servis aux convives. Cependant, la salubrité d'un repas culinaire dépend non seulement de la salubrité des denrées de base utilisées pour sa confection, mais aussi des conditions dans lesquelles ces denrées ont été transformées, entreposées et distribuées. Une préparation culinaire de qualité doit posséder l'ensemble des éléments capables de valoriser ses propriétés organoleptiques, ceci en référence aux règles d'usage et être de bonne qualité microbiologique (**Rozier et al., 1985**).

### III.2 Plats cuisiniers

Les plats cuisinés se présentent souvent comme des produits complexes du point de vue microbiologique. L'obtention de produit de bonne qualité bactériologique nécessite une fabrication dans des conditions très strictes, organisée selon un plan de travail très rationnel, dans des locaux convenables, par un personnel compétent et informés. Ils sont très divers, on regroupe sous cette appellation des plats à consommer froid ou après avoir été réchauffés. Ils peuvent être vendus sous forme de produits frais réfrigérés, surgelés, semi-conserves ou encore de produits appertisés (**Bourgeois et Leveau, 1991**).

#### III.2.1 Groupe des plats cuisiniers

De manière générale suivant leur présentation les plats cuisinés regroupent :

- ✓ Les plats cuisinés chauds : maintenir dans une température moins 65 °C depuis la cuisson jusqu'à la consommation, ils doivent être consommés le même jour de la cuisson (**Rozier et al., 1980**).
- ✓ Les plats cuisinés froids : refroidir rapidement à une température de 10 °C à cœur en moins de 2 heures après la fin de la cuisson ;
- ✓ Les plats surgelés : traités par abaissement rapide de température à -40 °C pour bloquer l'activité microbienne de longue conservation à -18 °C (**Rozier et al., 1985**).

### III.3 Microbiologie des plats cuisiniers

La prolifération de microorganismes dans un produit alimentaire se traduit par des modifications des qualités organoleptiques généralement détectables quand le nombre de germes dépasse les 10<sup>6</sup> par g de produit. Les modifications d'aspect (couleur, limon), de texture ou de flaveur (odeur et saveur) sont souvent défavorables : *Pseudomonas*, *Clostridium*...etc (**Jean-Louis CUQ, 2007**). Dans (**JORA n° 39 2017**) les plats préparés peuvent se contaminer

par des microorganismes tel que : *Escherichia coli*, Staphylocoques, Anaérobies Sulfito-réducteurs, *Bacillus cereus*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, FMAT, Coliformes et *Pseudomonas aeruginosa*.

#### III.4 Différents types de germes

Selon le (JORA n° 39 2017), les plats cuisiniers cuits peuvent contenir les microorganismes suivant :

##### III.4.1 Flore mésophile aérobie totale à 30°C (FMAT)

La flore aérobie mésophile (flore totale) représente l'ensemble des microorganismes se développant en présence d'oxygène à une température optimale de 30°C (multiplication active de 10°C à 45°C) (Theau, 2005). Cette microflore peut comprendre des MO pathogènes pour l'homme et l'animal mais aussi des MO d'altération variés. On considère que, en général, il y a risque pour la santé du consommateur que si la flore totale mésophile aérobie est supérieure ou égale à  $10^5$  MO/g et peut être considérée comme flore d'altération car la présence d'une FTAM abondante indique un processus de dégradation en cours. Il n'y a cependant pas de relation étroite entre le nombre total des MO et le temps d'apparition de l'altération perceptible des caractéristiques organoleptiques de l'aliment.

La FTAM est un indicateur MO qui permet d'évaluer la charge bactérienne globale présente dans un aliment ou sur une surface (MO tests d'hygiène) (Bonnefoy et al., 2002).

##### III.4.2 Les Coliformes

C'est un groupe de bactéries appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. On appelle coliforme tout bacille Gram-négatif, non sporulant, anaérobie facultatif, capable de fermenter le lactose dans 48 heures, avec formation d'acide et de gaz, à 37°C, *Escherichia coli* est un coliforme typique. Mais, il y a aussi d'autres coliformes : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*. En microbiologie alimentaire les coliformes sont une flore indicatrice de contamination fécale et de bons marqueurs de la qualité hygiénique générale d'un aliment (Sutra et al., 1998 ; Singleton, 1999).

##### III.4.2.1 Coliformes totaux (CT)

Les CT sont des entérobactéries, aérobies ou anaérobies facultatives, à Gram négatif, non sporulées en forme de bâtonnet et produisant des colonies foncées à reflets vert métallique en moins de 24 heures, à 35 °C sur un milieu contenant du lactose. Ils sont des microorganismes indicateurs dont le dénombrement permet de déceler le niveau de pollution d'origine organique

dans les eaux de surface, les eaux souterraines, les sources d'approvisionnement ou les canalisations d'eau potable (CEAEQ, 2016).

### III.4.2.2 *Salmonella*

*Salmonella* est une Bacille **GRAM -**, non sporulés, Immobiles ou mobiles à ciliature péritriches, fermentant le glucose avec ou sans production de gaz, ne possèdent pas d'oxydase, réduisent les nitrates en nitrites (Pilet et al., 1997). Il est mesurant environ 3 µm de long sur 0.60.7 µm de diamètre, poussant sur des milieux ordinaires, aéro-anaérobies (Kabir, 2010). Largement dispersé dans la nature (le sol, l'eau) et souvent trouvé dans le tractus intestinal des animaux et des humains. Plus de 2500 sérotypes des salmonelles existent, mais seuls certains de ces sérotypes ont été fréquemment associés avec des maladies d'origine alimentaire (Barakat, 2012). Elles sont mésophiles, capable de se développer à des températures de manière optimale entre 35 et 37 °C à des pH entre 4,5 et 9. Les principaux aliments impliqués sont principalement les œufs et ovoproduits, ainsi que les viandes (volailles principalement) (Colin, 2009).

Les salmonelles les plus couramment rencontrées dans les intoxications alimentaires sont dans l'ordre : *Salmonella enteritidis* et *Salmonella typhimurium*. Ils sont sensibles à la chaleur et leur présence résulte donc d'une contamination après cuisson (Varnam et Evans, 1996).

Le portage digestif des salmonelles est le plus souvent, inapparent car il y a une forte proportion de porteurs sains. Un porteur sain de germes peut excréter jusqu'à 10<sup>9</sup> salmonelles par gramme de matières fécales, ce qui constitue une source de contamination importante de l'environnement où le germe est capable de survivre plusieurs mois (12 à 16 mois) (Cavalli, 2003 ; Fosse et Magras, 2004).

### III.4.2.3 Coliformes fécaux (CF/CTT)

Les coliformes thermotolérants se définissent comme des bactéries anaérobies facultatives, à Gram négatif, non sporulées, en forme de bâtonnet et produisant des colonies bleues en moins de 24 heures à 44,5 °C sur un milieu contenant du lactose. En raison de leur capacité de croître à la température élevée de 44,5 °C et non seulement à 35 °C comme les CT (CEAEQ, 2014).

#### □ *Escherichia coli*

Elle a été découverte par Théodore Escherichia en 1885 et constitue l'espèce bactérienne dominante de la microflore anaérobie facultative de l'intestin des animaux à sang chaud. Elle

est généralement considérée comme une bactérie commensale, inoffensive et constitue le modèle d'étude bactérien le plus courant en laboratoire de recherche. *E. coli* est un bacille de la famille des *Enterobacteriaceae*, à coloration de Gram négative, aéro-anaérobie et pouvant fermenter les nitrates. Ces bactéries sont catalase-positives et ne possèdent pas d'oxydase. Elles fermentent le glucose et habituellement le lactose (coloration rouge/rosée des colonies cultivées sur gélose Mac Conkey) (Naïtali et al., 2017).

#### III.4.3 Anaérobies Sulfito-réducteurs

Les Sulfito-réducteurs sont des bacilles à gram positif, anaérobie strict, sporulés, non capsulés (à l'exception de *Clostridium perfringens*). La spore est de grande taille, elle est parfois plus grande que la bactérie. Les majorités des souches sont mobiles (flagelles péritriches). Elles sont catalase négative et ne possèdent pas de superoxyde dismutase, ce qui explique leur intolérance à l'oxygène aussi bien pour la survie que pour la multiplication. La résistance des spores de *Clostridium* à la chaleur est variable selon les souches (la spore de *C. botulinum* résiste jusqu'à 5 heures à 100° C et 15 min à 120° C. De plus les spores d'autres germes nécessitent un chauffage pour pouvoir germer). Les principales clostridies pathogènes pour l'homme sont : *C.tenani*, *C.botulinum*, *C. perfringens* (Carip, 2008).

Du point de vue métabolique, les clostridies sont protéolytiques et glucolytiques. Certaines souches produisent des toxines. Ce sont des bactéries qui cultivent en anaérobiose en réduisant les sulfites ( $\text{SO}_3^{2-}$ ) en sulfures ( $\text{S}^{2-}$ ) à 44°C, cette réaction est mise en évidence par la formation de sulfure de fer dans un milieu contenant du sulfite de sodium et un sel de fer (Singleton, 2005). Ils sont très répandus dans la nature, en particulier, dans le sol et dans les intestins de l'homme et autres animaux, ils contaminent de nombreux produit : lait, eau, viande, aliment fermentés ou congelés et, surtout, conserves alimentaires. Ils ont un grand pouvoir de dégradation vis-à-vis des sucres et des protéines, libérant de l'acide butyrique ou de l' $\text{H}_2\text{S}$ . Leur présence dans l'aliment est un témoin d'une contamination fécale ou tellurique (Guirand et Rosec, 2004 ; Carip, 2008).

##### III.4.3.1 *Clostridium perfringens*

*Clostridium perfringens* appartient au groupe II du genre *Clostridium* et à la famille des *Bacillaceae*. Il s'agit d'un bacille sporulé, tellurique, anaérobie strict et Sulfito-réducteurs. Cette espèce est thermophile, sa température optimale de croissance étant comprise entre 40 et 45 °C, mais il est toutefois capable de se développer à des températures comprises entre 15 °C et 50 °C. L' $a_w$  doit être supérieure à 0,93 et le pH compris entre 5,5 et 8. Les spores

thermosensibles de *C. perfringens* résistent 5 minutes à 100 °C, alors que les spores thermorésistantes sont capables de résister plus d'une heure à 100 °C (**Cavalli, 2003 ; Collins et Gracey, 1992 cité par Fosse et Magras, 2004**).

L'homme se contamine en ingérant des aliments, notamment des produits carnés, contenant des bactéries. Les denrées incriminées sont en général cuites, conservées à l'abri de l'air (masses importantes, immersion dans un liquide, emballage étanche), refroidies lentement puis réchauffées lentement, ce qui favorise la multiplication des bactéries et la production de toxines (L'entérotoxine) (**Bourgeois et al., 1996**).

#### III.4.3.2 *Clostridium botulinum*

Les *Clostridium botulinum* sont des bacilles à Gram positif, anaérobies stricts et sporulés (les spores sont thermorésistantes). Les souches de *C. botulinum* sont très hétérogènes d'après leurs caractères culturels, biochimiques et génétiques et elles sont divisées en quatre groupes (Groupe I à IV). Le réservoir de *C. botulinum*, comme des autres *Clostridium* est l'environnement : sol, poussière, sédiments marins ou d'eau douce, eaux souillées, lisiers, et occasionnellement le contenu digestif de l'homme et des animaux asymptomatiques (**ANSES, 2011**).

#### III.4.4 *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* est un germe de la famille des *Micrococcaceæ*. Il s'agit de cocci à coloration de Gram positive, souvent disposés en grappe, non sporulés, coagulase positifs. Cette espèce fait partie des bactéries aéro-anaérobies facultatives, mais préférant le métabolisme aérobie. C'est un germe mésophile, capable de se multiplier entre 4 °C et 46 °C, de manière optimale à 37 °C, pour un pH allant de 5 à 9, avec un optimum de 7,2 à 7,6, et une aw de 0,86 en aérobie et 0,90 en anaérobie. C'est un germe halophile, il se développe même en présence de sel : sa croissance est possible jusqu'à une concentration de 18 % en sel en aérobie (**Fosse et Magras, 2004**). De nombreuses souches produisent des exotoxines (70-80 % des souches) (**Skovgaard, 1996 ; Cavalli, 2003**), dont les entérotoxines staphylococciques A, B, C1, C2, C3, D, E et H, la toxine du choc toxique staphylococcique et les toxines exfoliatives A et B. La toxinogénèse a lieu pendant la phase exponentielle de croissance, pour une température comprise entre 10 °C et 45 °C (avec un optimum de 40 à 45 °C), un pH compris entre 5 et 8, une teneur en NaCl inférieure à 10 %, une aw supérieure à 0,86 (**Fosse et Magras, 2004**).

### III.4.5 *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas* est un bacille à Gram négatif extrémité effilée ou arrondie, réguliers, fins, très mobile par ciliature polaire, non exigeante, aérobie stricte. *P.aeruginosa* cultive facilement sur milieux ordinaires développant une odeur caractéristique en fleur de seringia. Ces bactéries ne fermentent pas le glucose, elles possèdent un métabolisme respiratoire strict et possèdent l'oxydase. C'est un pathogène opportuniste responsable fréquemment d'infections nosocomiales. Bactérie ubiquiste : eaux (douces, salées, et milieux humides), denrées alimentaires, lavabos, fleurs, certains antiseptiques, ...etc. Ces bactéries sont à l'origine d'infections nosocomiales d'origine exogène (infections manu portées, infections sur matériel implanté) et d'origine endogène (flore cutanée, digestive) chez des patients le plus souvent immunodéprimés (**Bouskraoui et al., 2017**).

### III.5 Principales affections humaines d'origine alimentaire

Les maladies d'origine alimentaire sont liées à une mauvaise hygiène. Il y a deux grands types de maladies :

#### III.5.1 Infections alimentaires

Les infections alimentaires sont des maladies d'origine alimentaire qui surviennent lors de l'ingestion d'aliments ou de boissons contaminées par des microorganismes pathogènes (bactéries, virus, parasites), suivie d'une multiplication dans l'hôte, accompagnée par une invasion tissulaire et /ou la libération de toxines qui causent par la suite des troubles (**Prescott et al., 2010**).

#### III.5.2 Intoxications alimentaires

Les intoxications alimentaires résultent de l'ingestion d'aliments contaminés par des germes qui prolifèrent dans l'aliment et/ou dans le tube digestif du consommateur. Ces germes peuvent être pathogènes ou reconnus normalement non pathogènes (**Bousseboua, 2005**).

##### ✓ Intoxication alimentaire

Les intoxications alimentaires sont provoquées par l'ingestion de toxines secrétées dans l'aliment par des germes de contamination. Par exemple toxine botulinique, entérotoxine Staphylococcique, mycotoxine. Les symptômes de la maladie sont seulement dus à la toxine et sans lien avec leur bactérie productrice qui généralement est absente (**Bousseboua, 2005**).

#### ✓ Toxi-infections alimentaires collectives (TIAC)

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

Le diagnostic d'une TIAC est immédiatement évoqué lorsque plusieurs personnes appartenant à une même collectivité sont subitement victime d'une « indigestion ». Mais l'unité de temps (simultanéité des cas) et l'unité de lieu (focalisation des cas) ne pas constamment observées. Dans plus de 90% des cas, c'est devant une gastro-entérite aiguë typique, associant de façon variable nausées, crampes épigastriques, vomissement, diarrhée, fièvres, hypotension que se pose le diagnostic. Les formes sévères avec déshydratation s'observent aux âges extrêmes de la vie, justifiant un taux d'hospitalisation compris entre 5 et 10%. Mais il existe aussi des formes atypiques pouvant égarer le diagnostic (**Hance et al., 1998**).

Il y a trois mécanismes principaux sont responsables de l'activité pathogène des agents responsables des TIAC :

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

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



Afin d'évaluer l'état microbiologique des aliments en déterminant le taux de conformité ; nous avons procédé à une évaluation de l'état bactériologique des plats préparé dans le restaurant d'une cité universitaire au niveau de la wilaya d'El Oued. Pour assurer l'anonymat, une lettre alphabétique a été attribuée à la cité dont on a prélevé les échantillons (Cité A).

Ce travail a pris deux mois : Février et Avril 2019. Les analyses microbiologiques ont été faites dans le laboratoire pédagogique de l'université de HAMMA LAKHDAR El-Oued.

## I. Présentation du cadre d'étude

La cité universitaire qui présente notre site d'étude est ouverte en 2012 (année universitaire 2012 - 2013), avec une capacité d'environ 1000 lits.

Les repas servi au niveau du restaurant de la cité sont préparés dans la cuisine du restaurant lui-même.

### I.1 Equipements

La cuisine du restaurant de la cité A comprend (**Figure 03**)

- 2 salles pour préparation équipés de :
  - ✓ Fourneaux 08 feux sur 2 four ;
  - ✓ Marmite bain marie 150 L ;
  - ✓ Marmite chauffe directe 200 L ;
  - ✓ Four mixte à air pulsé ;
  - ✓ Couscoussière ;
  - ✓ Haute de cuisine complète ;
  - ✓ Lave plateaux complet ;
  - ✓ Eplucheuse ;
  - ✓ Coupe légume ;
  - ✓ Hachoir à viande ;
  - ✓ Batteur mélangeur ;
  - ✓ Mixeur.



**Figure 03** : Images photographiques de la cité A.

Les paillasses dans les salles de préparations sont séparés selon l'activité (paillasse de légumes, paillasse de viande, paillasse de servi).

## **I.2 Chambres froides**

La chaîne de froid constitue un élément important et indispensable du service de la restauration. La cuisine de la cité A possède trois chambres froides séparées selon la nature du produit à conserver : chambre froide de viande, de légume, et des divers produits alimentaires.

## **I.3 Accessoire**

La cuisine est menée aussi d'autres équipements sont considérés comme accessoire :

- ✓ Plateaux alvéoles en inox ;
- ✓ Table de travail dessous inox ;
- ✓ Chariot de trappage pour légumes ;
- ✓ Plat pour four aluminium ;
- ✓ Réservoir d'eau de 1000l (utiliser en cas de perturbation de la distribution d'eau ...etc ;
- ✓ Les locaux (conception, aménagement, organisation, nettoyage et désinfection).

## **II. Matériel du travail**

### **II.1 Matériel de prélèvement**

Pour assurer l'hygiène de prélèvement nous utilisons différents matériels :

- ✓ Une glissière contenant des carboglaces (autre congelées) pour l'acheminement des prélèvements vers le laboratoire ;
- ✓ Les écouvillons contenant de l'eau physiologique à 9 % ;
- ✓ Sachets stériles munis d'un système de fermeture pour assurer la non contamination du prélèvement ;
- ✓ Flacons ISO en verre autoclavés ;
- ✓ Thermomètre.

### **II.2 Matériel de laboratoire**

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

#### **II.2.1 Appareillages (Figure 04)**

-Hotte microbiologique ;

- Autoclave manuel ;
- Etuve (Memmert) ;
- Bain marie (Memmert) ;
- Rampe de filtration d'eau (Sartorius Stedim Biotech)
- Réfrigérateur double porte avec indicateur de température ;
- Broyeur électrique (Sayona) ;
- Balance (Clatronic).



**Figure 04 :** Images photographiques de quelques appareillages.

### II.2.2 Petits matériel

Les manipulations ont nécessité l'emploi du petit matériel suivant : Bec de bunsen, Micropipette, pipettes Pasteur, Verrerie (tube à vis stérile, les lames, bécher), Spatule métallique stérile, Portoirs en plastique, Boite de Petri, Membrane de filtration de porosité 0.45µm.

### II.2.3 Milieux de culture et réactifs et colorants (Annexe 01)

- Gélose (PCA, VRBL, XLD, Hektoen, Chapman, VRBG, Viande Foie, Cetrimide, TTC et Tergitol, Slantz et Brtlay) ;
- Bouillon (Rappaport, Sélinite de Systine, TSE, Giolitti Contoni, tryptophane) ;
- Réactif (Covacs, Lugol) ;
- Colorants (Fuschine, Violet de Gentiane).

## III. Echantillonnage

Le niveau de risque de contamination par les surfaces choisies, la représentativité des échantillons ainsi que le temps nécessaire pour les prélever, ont été les paramètres importants à considérer pour assurer un bon échantillonnage. Nous avons jugé obligatoirement important de prélever d'une manière aseptique dans le but d'avoir des analyses de haute qualité. Ainsi l'expérimentateur doit veiller à respecter d'abord son hygiène corporelle (surtout les mains) et vestimentaire (**Abouda, 2011**). Il faudrait aussi éviter de faire des prélèvements dans des zones de courant d'air.

Les échantillons sont obtenus par méthode classique en respectant le texte officiel (**JORA 2017 n°39**).

### III.1 Ecouvillonnage des surfaces

Pour assurer un bon prélèvement des surfaces comme mains des personnels, des équipements qui sont en contact avec la préparation des aliments et des surfaces des locaux, nous avons eu recours à la méthode d'écouvillonnage humide que nous avons trouvée plus efficace que l'écouvillonnage à sec (**Decade et al., 2005 ; Gallou et Lopelletien, 2017**).

Nos surfaces analysées ont deux catégories :

1. Les surfaces vivantes : mains du personnel (3 cuisiniers et 1 aide-cuisinier).
2. Les surfaces inertes comprenant : Equipement, paillasse.

L'écouvillonnage se fait à l'aide d'un dispositif formé d'un écouvillon stérile et d'un tube en plastique contenant de l'eau physiologique stérile à 0.9% (**Figure 05**).



**Figure 05** : Ecouvillonnage humide.

#### III.1.1 Mains

Devant l'opérateur on prend l'écouvillon et on le frotte à la main de l'opérateur, on prenant soin de toucher tous les endroits où les microorganismes pourraient s'installer (le même écouvillon est utilisé pour les deux mains) ; On remet l'écouvillon dans le tube et on ferme

hermétiquement le bouchon ; Chaque prélèvement (tube) porte le numéro de l'opérateur et la date du prélèvement.

### III.1.2 Equipement et paillasse

Les surfaces en contact avec les mains des opérateurs, la matière première (avant cuisson) ou le produit fini (après cuisson) représentent une source potentielle de contamination.

Afin de vérifier l'efficacité du nettoyage et désinfection, des prélèvements de surfaces sont réalisés. Ces surfaces ont fait l'objet d'un prélèvement par écouvillonnage avec la même technique utilisée pour les mains. Un écouvillon par surface est utilisé pour chaque prélèvement. Sur chaque tube ont inscrit la date du prélèvement et la surface concernée (**Figure 06**).



**Figure 06** : Ecouvillonnage des équipements et paillasse.

### III.2 Eau de consommation

Ingrédient le plus utilisé en préparations culinaires, ce qui explique l'importance du contrôle microbiologique de l'eau. Les échantillons sont mis dans des flacons ISO autoclavés. Chaque prélèvement présente un volume de 1L et 50ml (**JORA n°39 2017**).

On a pris notre échantillon d'un robinet qui se trouve dans la salle de préparation, ce robinet est branché par le réseau de distribution d'eau communal (Eaux d'alimentation destinées à la consommation humaine). On laisse donc l'eau couler pendant un certain moment. Puis on remplit les flacons. Après le prélèvement, les échantillons sont transportés dans une glacière à une Température de 4°C (**Figure 07**), en évitant le maximum de contact avec la lumière, car la variation de ce dernier est susceptible de modifier la population bactérienne (**Rodier et al, 2009**).

Au moment du prélèvement le robinet est nettoyé par l'alcool Pour éviter au maximum la contamination de l'échantillon (**Rejsek, 2002**).



**Figure 07 :** Prélèvement des échantillons de l'eau de consommation.

### III.3 Repas chaud (avant service)

L'importance est de veiller à la représentativité de l'échantillon de repas plus particulièrement lorsque le produit présente une grande hétérogénéité. Le produit doit être brassé avant le prélèvement, et celui-ci doit porter sur les différents éléments (viandes, légumes, sauces) composant le plat. En utilisant des cuillères, les prélèvements de 500g (**JORA n°39 2017**) des plats chauds sont mis dans des sacs stériles lors de dressage (**Figure 08**).

Le transfert des échantillons est assuré à des températures voisines de +4°C puis acheminés dans une glacière contenant des boîtes eutectiques préalablement congelées. La prise de la température de l'échantillon dans son réceptacle original est systématique avec chaque prélèvement.



**Figure 08 :** Prélèvement de repas chaud avant service.

### III.4 Nombre et nature des échantillons

Le nombre des échantillons dans sa totalité est de quarante-neuf échantillons (49).

#### III.4.1 Les surfaces

Parmi les échantillons prélevés, on a fait 15 échantillons de surface, dont 4 échantillons mains, 7 échantillons de paillasse et 4 échantillons d'équipement (**Tableau 01**). Il convient de noter que les échantillons ont été prélevés après nettoyage et désinfection.

**Tableau 01 :** Tableau récapitulatif des prélèvements de surface.

| Echantillon | Type de prélèvement  | Date de prélèvement |
|-------------|----------------------|---------------------|
| M01         | Mains cuisinier      | 17/02/2019          |
| M02         | Mains aide cuisinier |                     |
| M03         | Mains aide cuisinier |                     |

|             |                                                    |            |
|-------------|----------------------------------------------------|------------|
| <b>M04</b>  | Mains aide cuisinier                               |            |
| <b>EQ01</b> | plat pour présentation 01                          | 10/02/2019 |
| <b>EQ02</b> | marmite pour viande cuit                           |            |
| <b>EQ03</b> | Plat pour salade                                   |            |
| <b>EQ04</b> | plat pour présentation 02                          | 17/02/2019 |
| <b>S01</b>  | Paillasse de servir 01                             | 03/02/2019 |
| <b>S02</b>  | Paillasse de préparation de la viande              |            |
| <b>S03</b>  | Paillasse de préparation de légumes                |            |
| <b>S04</b>  | Paillasse pour préparation de la salades           | 17/02/2019 |
| <b>S05</b>  | Paillasse de préparation de carcasses de la viande | 10/02/2019 |
| <b>S06</b>  | Paillasse pour servir 02                           |            |
| <b>S07</b>  | Paillasse de préparation de légumes 02             |            |

#### III.4.2 Repas chauds et eau de consommation

Le nombre d'échantillons d'eau de consommation et de repas chaud pris est 34 échantillons dont 17 repas chauds et 17 eaux de consommation (**Tableau 02**). Il convient de noter que les échantillons des repas chauds ont été prélevés juste avant service.

**Tableau 02** : Tableau récapitulatif des prélèvements des repas chauds et l'eau.

| Repas chaud | Date de prélèvement | T (°C)  | Menu                         | Eaux | Date de prélèvement | T (°C) |
|-------------|---------------------|---------|------------------------------|------|---------------------|--------|
| R01         | 14/04/2019          | 50.5 °C | Pattes : Tliltli             | E01  | 10/04/2019          | 26.8°C |
| R02         | 15/04/2019          | 53.8°C  | Haricot blanc                | E02  | 14/04/2019          | 29.1°C |
| R03         | 15/04/2019          | 54.3°C  | sauce jardinière             | E03  | 15/04/2019          | 22.2°C |
| R04         | 16/04/2019          | 38.2°C  | Pattes :<br>Chakhchoukha     | E04  | 16/04/2019          | 28.5°C |
| R05         | 16/04/2019          | 61.8°C  | Viande avec<br>sauce         | E05  | 16/04/2019          | 29.2°C |
| R06         | 17/04/2019          | 51.7°C  | Poulet                       | E06  | 17/04/2019          | 28.7°C |
| R07         | 17/04/2019          | 58.3°C  | Tadjin zitoune               | E07  | 17/04/2019          | 28.2°C |
| R08         | 17/04/2019          | 60.8°C  | Poi-chiches                  | E08  | 18/04/2019          | 29.6°C |
| R09         | 18/04/2019          | 50.9°C  | Pattes : coquilles           | E09  | 18/04/2019          | 29.2°C |
| R10         | 21/04/2019          | 44.5°C  | Pattes : spaghetti           | E10  | 21/04/2019          | 31.4°C |
| R11         | 22/04/2019          | 56.8    | Haricot blanc                | E11  | 21/04/2019          | 31.6°C |
| R12         | 22/04/2019          | 60.2°C  | Poulet avec sauce<br>d'olive | E12  | 22/04/2019          | 23.4°C |
| R13         | 22/04/2019          | 58.6°C  | Petit pois +sauce            | E13  | 22/04/2019          | 23.1°C |
| R14         | 24/04/2019          | 60.3°C  | Poulet avec sauce            | E14  | 23/04/2019          | 25.5°C |
| R15         | 24/04/2019          | 57.8°C  | Sauce de Pomme<br>de terre   | E15  | 23/04/2019          | 27.3°C |
| R16         | 24/04/2019          | 51.8°C  | Tadjin zitoune               | E16  | 24/04/2019          | 22.6°C |
| R17         | 24/04/2019          | 47.5°C  | Riz à la sauce<br>tomate     | E17  | 24/04/2019          | 26.4°C |

Les repas reçus en liaison chaude sont immédiatement placés ou maintenus aux températures définies par la réglementation européenne (**JO l'Union Européenne n° 852/2004**) : **+ 63°C au moins pour les plats cuisinés livrés chauds.**

#### IV. Méthodes

##### IV.1 Analyses microbiologiques (surface et mains)

Les prélèvements issus d'écouvillonnage sont analysés, le jour même du prélèvement. Les analyses visent à évaluer la flore mésophile aérobie totale (FMAT), la recherche des entérobactéries, des salmonelles, et les *Staphylococcus aureus*.

#### IV.1.1 Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT)

A l'aide d'une micropipette, on prélève 1 ml de la solution contenue dans le tube d'écouvillonnage. Un ensemencement est réalisé sur boîte de Pétri contenant le milieu PCA. La culture est incubée à 30°C pendant 72 heures (**NF S 90-351 2013**).

#### IV.1.2 Recherche des entérobactéries

A l'aide d'une micropipette, 1 ml de la solution contenue dans le tube d'écouvillonnage est prélevé et transféré dans une boîte de Pétri stérile. L'ensemencement est réalisé en double couches de gélose VRBG (la première couche d'environ 15 ml du milieu, la deuxième environ 5 ml couler après refroidissement de la première). Incuber à 37°C pendant 24 heures (**Le Gallou et al., 2017**).

#### IV.1.3 Recherche des salmonelles

La recherche des Salmonelles s'effectue plusieurs étapes (**Figure 09**) :

##### IV.1.3.1 Préenrichissement non sélectif

La solution mère (la solution contenue dans le tube d'écouvillonnage) est incubée pendant 24h à 37°C et va être utilisée pour la Recherche des salmonelles (**Dennaï et al., 2001**).

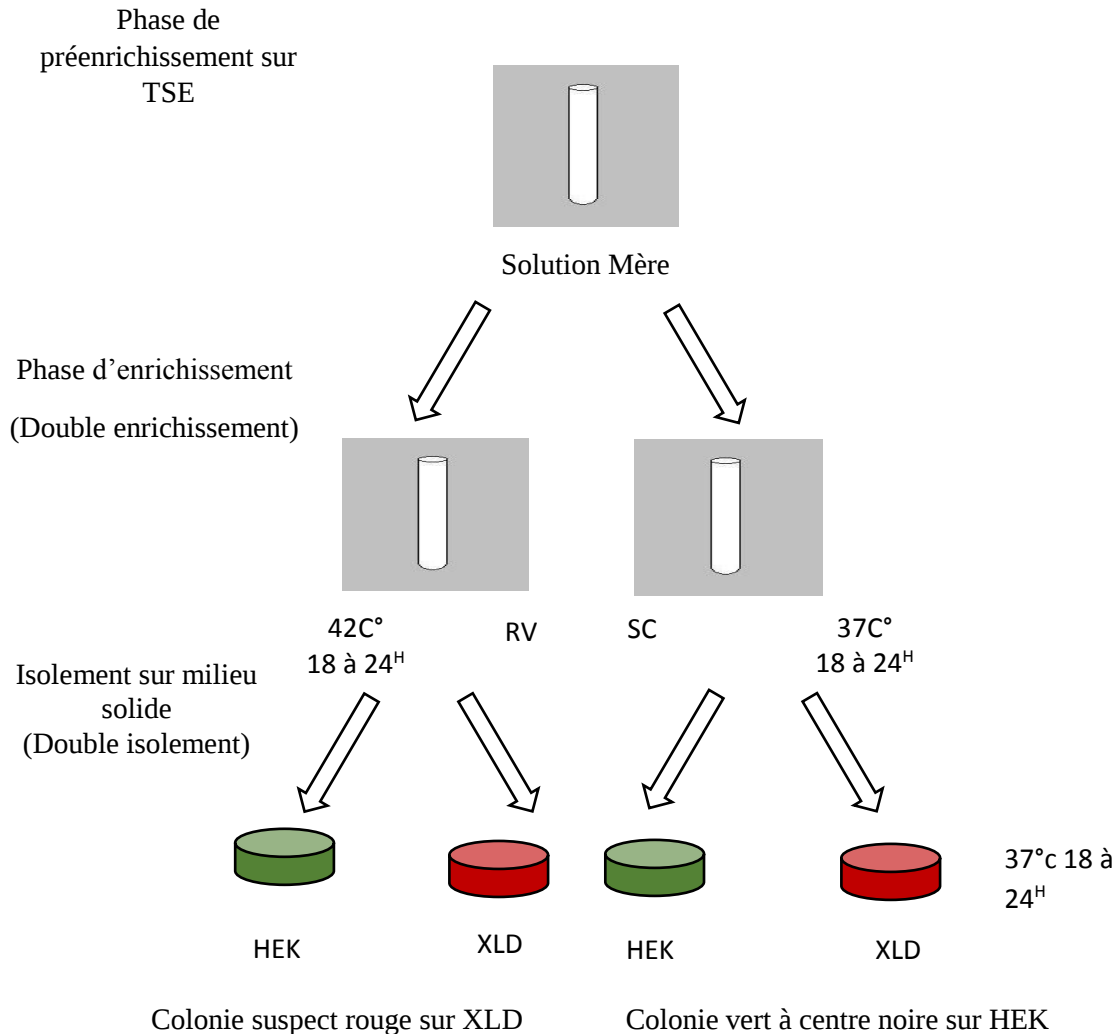
##### IV.1.3.2 Phase d'enrichissement en milieux sélectifs liquides

Deux milieux sont utilisés : milieu Rappaport Vassiliadis (RV) et milieu Sélénite cystine (SC), il s'agit de transférer après le préenrichissement 0,1ml de la solution mère dans un tube contenant 10 ml de milieu RV et 1ml de la solution mère dans un tube contenant 10 ml de milieu SC. Les tubes de RV et SC sont respectivement incubés à 42°C et 37°C pendant 18 à 24 heures.

##### IV.1.3.3 Phase d'isolement sur milieux sélectifs solides

Deux milieux sont concernés : gélose XLD (Xylose-lysine-Désoxycholate) et la gélose Hektoen. Une goutte de solution enrichie prélevée à partir de la culture dans le milieu RV est ensemencée (étalement par stries) dans une boîte de pétri préalablement coulée au XLD. Une autre est ensemencée dans une boîte coulée à la gélose Hektoen. La même opération est réalisée à partir de la culture dans le milieu Sélénite cystine. Les boîtes sont incubées ensuite à 37°C pendant 18 à 24 heures. Elles peuvent être réincubées si nécessaire. Les colonies suspectes sont rouges avec un précipité noir de sulfure de fer au centre sur XLD et colonies verte à centre noire sur Hektoen qui deviennent entièrement noires en fin d'incubation (**Dennaï et al., 2001**).

Après lecture ; les colonies suspectes obtenu ont subi des tests confirmatifs suivants : Test à l'oxydase, le test à l'ONPG (**Annexe 02**) et coloration de Gram.



**Figure 09** : Schéma récapitulatif des étapes de recherche des salmonelles.

#### ✓ Coloration de Gram

Elle a pour but la taxonomie ou la classification bactérienne. Cette technique reposant sur les caractéristiques membranaires et de parois des bactéries (**Guezlane et al., 2013**).

Cette coloration se traduit par les étapes suivantes :

- Réaliser un frottis bactérien : sur une lame propre on dépose une goutte d'eau distillée, puis à l'aide de l'anse à ensemencement on prélève un peu de la crème bactérienne (culture jeune), on sèche la lame avec la flamme bleue du bec bunsen et on la fait passer deux à trois fois au sein de la flamme ;
- Colorer au violet de gentiane (1 minute) : est un colorant basique qui se fixe sur les

composants du cytoplasme bactérien, à ce moment toutes les bactéries sont de couleur violette. Laver à l'eau distillée ;

- Mordançage au lugol (30 secondes) : est un mordant qui renforce l'adhésion du violet de gentiane au niveau du cytoplasme bactérien. Laver à l'eau distillée.
- Décoloration rapide avec de l'éthanol à 95° (10 secondes) : les bactéries Gram ont une paroi mince et riche en lipide, ce qui permet le passage de l'alcool qui va entraîner avec lui le violet de gentiane et les cellules vont devenir transparentes. Laver rapidement avec de l'eau distillée.
- Colorer avec la fuchsine (1minute) : cette étape sert à colorer les bactéries (Gram-) qui se sont décolorées lors du traitement précédent, de ce fait les bactéries Gram- seront colorées en rose et les Gram+ en violet. Laver à l'eau distillée.

Après séchage de la lame observer avec l'ajout d'huile à immersion (objectif xl00).

#### IV.1.4 Recherche des *Staphylococcus aureus*

Pour la recherche des *Staphylococcus aureus*, on a suivi la méthode d'enrichissement sélectif sur milieu Giolliti Cantoni (Bouillon d'enrichissements sélectif).

##### IV.1.4.1 Enrichissement à 37°C

A l'aide d'une micropipette on prélève aseptiquement 1ml de la solution mère pour la transférer dans des tubes contenant 25ml de bouillon Gioliti Cantoni.

##### IV.1.4.2 L'isolement à 37°C

A partir des tubes contenant le milieu d'enrichissement, on ensemence aseptiquement en stries serrées la surface du milieu Chapman. Ce dernier est un milieu sélectif permettant l'isolement des *staphylococcus* pathogènes. Il est préalablement coulé en boîtes pétri et solidifié.

Lecture : présence de colonies typiques ou caractéristiques (colonie avec un halo jaunes lumineux, mannitol positif) sur le milieu Chapman (**Afnor, 2004**).

On peut procéder à des tests confirmatifs (Catalase '**Annexe 03**' et coloration de Gram) pour s'assurer qu'il s'agit bien de *staphylococcus aureus*.

#### IV.2 Analyses microbiologiques des repas chauds

Les analyses microbiologiques des repas chauds visent à évaluer : la flore mésophile aérobie totale (**FMAT**), les coliformes fécaux (*Escherichia coli*), les staphylocoques présumés pathogènes (*staphylococcus aureus*), les spores des anaérobies sulfito-réducteurs et les salmonelles.

#### IV.2.1 Préparation de la solution mère (SM)

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

Dans une boîte Pétri stérile, peser au minimum 10 g de l'échantillon puis ajouter une quantité de diluant TSE égale 9 x m (g) pour éviter d'endommager les micro-organismes par de brusques changements de température, la température du diluant pendant les opérations décrites ci-après, doit être proche de la température ambiante (**JORA N° 38 2014**) (**Annexe 04**). La SM est laissée au repos pendant 15 à 30 mn pour la revivification des bactéries. La densité de cette solution est voisine de  $10^{-1}$  (ce qui correspond à 1 g d'aliment dans 1ml de solution).

#### IV.2.2 Dilutions décimales

A partir de la solution mère (dilution  $10^{-1}$ ), des dilutions plus petites sont réalisées pour faciliter le dénombrement. Les dilutions successives sont obtenues en introduisant 1 ml de la solution précédente à l'aide d'une pipette pasteur stérile dans un tube à essai contenant 9 ml de TSE.

De ce fait, il faut mettre :

-1ml de la solution à  $10^{-1}$  dans 9 ml de TSE pour obtenir la dilution  $10^{-2}$

-1ml de la solution à  $10^{-2}$  dans 9 ml de TSE pour obtenir la dilution à  $10^{-3}$

-1ml de la solution à  $10^{-3}$  dans 9 ml de TSE pour obtenir la dilution à  $10^{-4}$  ...

Après homogénéisation, la dilution est prête à l'emploi (**JORA N° 38 2014**).

#### IV.2.3 Dénombrement de la flore mésophile aérobique totale (FMAT)

Le protocole expérimental de recherche des flores mésophiles aérobies totaux à 30°C (FMAT) se fait préférentiellement à partir de la dilution  $10^{-5}$  (**JORA N° 39 2017**). Le reste des étapes sont les mêmes utilisées pour le dénombrement de FMAT dans les analyses de surfaces.

#### IV.2.4 Dénombrement des coliformes fécaux (*Escherichia coli*)

La méthode utilisée est le dénombrement de coliformes thermotolérants par comptage directe de colonies sur un milieu solide obtenues à 44°C (**JORA N° 75 2017**).

Le milieu de culture utilisé est la gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) qui inhibe la croissance des bactéries gram positif et celle des autres bactéries gram négatif. Les boîtes de pétri sontensemencées en se servant de pipettes stériles.

L'une avec 1 ml de la dilution  $10^{-1}$  et l'autre avec la dilution  $10^{-2}$ . Les boîtes sont coulées en double couche avec la gélose VRBL.

La lecture est faite après 24 à 48 heures d'incubation à 44°C par dénombrement des colonies rouges violacés d'un diamètre supérieur ou égal à 0,5 mm.

#### **IV.2.5 Dénombrement des Staphylocoques présumées pathogènes (*staphylococcus aureus*)**

L'isolement se fait à partir de la solution mère à  $10^{-1}$  le reste du protocole est le même suit au dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans les analyses de surfaces.

#### **IV.2.6 Recherche des spores de Clostridium sulfito-réducteur à 46°C**

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

##### **IV.2.6.1 Activation de spores**

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

##### **IV.2.6.2 Ensemencement**

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

#### **IV.2.7 Recherche des salmonelles**

Les étapes de la recherche des Salmonelles dans les repas chauds sont les mêmes suit au analyses de surfaces, sauf que la solution mère est composée obligatoirement de 25g d'aliment préalablement broyée additionné dans un flacon de TSE de 250ml (JORA N°44 2017).

### **IV.3 Analyses microbiologiques de l'eau de consommation (Annexe 05)**

La technique utilisée est la technique de filtration sur membrane ; c'est une technique de numération adaptée pour la recherche des bactéries présentes à des concentrations très faibles dans l'eau. Les bactéries présentes dans l'eau à analyser sont retenues sur un filtre dont

les pores sont inférieurs à la taille des bactéries (pore de 0,45 µm sur un milieu de culture approprié). Ces analyses visent à dénombrer les coliformes totaux, les coliformes thermotolérants (*E.coli*), les entérocoques, les spores des anaérobies sulfito-réductrices et *Pseudomonas aërogénosa*.

#### IV.3.1 Dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants

Les membranes obtenues après filtration de 250ml d'échantillon sont déposées sur des boîtes pétri préalablement coulé de gélose lactosé au TTC et au Tergitol. Les boîtes de pétri sont incubées à  $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$  pendant  $(21 \pm 3)$  h pour les coliformes totaux et  $(44 \pm 4)$  h pour les coliformes thermotolérants (*E. coli*). La détection d'*E.coli* doit être suivie par des tests confirmatifs : test d'oxydase, test d'indole et coloration de Gram (**ISO 9308**).

#### IV.3.2 Dénombrement des entérocoques

Il est réalisé par filtration sur membrane de 250ml de l'eau en utilisant la gélose de Slanetz et Bartley à  $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$  pendant  $(44 \pm 4)$  h (**ISO 7899**).

#### IV.3.3 Dénombrement des spores anaérobies sulfito-réductrices

Il est réalisé par filtration sur membrane de 50ml de l'eau en utilisant la gélose glucosé viande-foie à  $(44 \pm 2) ^\circ\text{C}$  pendant 24 ou 48h. Il est à noter qu'avant de procéder à l'analyse, l'eau doit être chauffée afin de tuer les cellules végétatives et d'activer les spores (**ISO 14189**).

#### IV.2.4 Recherche de *Pseudomonas aëroginosa*

Il est réalisé par filtration sur membrane de 250ml de l'eau en utilisant la gélose Cetrimide à  $36 ^\circ\text{C}$  pendant 21 à 44 h. Il est à noter que la détection de *Pseudomonas aëroginosa* doit être suivie par des tests confirmatifs. Ces tests de confirmation utilisés sont : le test d'oxydase et la coloration de Gram (technique détaillée précédemment) (**ISO 11133**).

L'étude réalisée sur les échantillons des différents types de surfaces (qui ont un contact direct avec les denrées alimentaires avant et après cuisson), les repas chauds et l'eau de consommation, qu'il a pour objectif principal l'évaluation de la qualité microbiologique et hygiénique de la restauration collective de la cité universitaire A.

## I. Résultats

### I.1 Analyse microbiologique de surfaces

Tenant compte des germes recherchés et comme il s'agit d'équipement de surface, ou des mains qui peuvent être en contact direct avec l'aliment (surface alimentaires), les critères microbiologiques seront : présence ou absence des germes (**Tableau 03**).

**Tableau 03** : Critères bactériologiques, surfaces et mains après nettoyage et désinfection (JORF, 1979 ; Innorpi, 1988 Cité par Abouda, 2011).

| Germes<br>appréciation       | Propre  |                       | Non propre |                       |
|------------------------------|---------|-----------------------|------------|-----------------------|
|                              | mains   | Locaux et équipements | mains      | Locaux et équipements |
| Entérobactéries              | Absence | Absence               | Présence   | Présence              |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Absence | Absence               | Présence   | Présence              |
| <i>salmonella</i>            | Absence | Absence               | Présence   | Présence              |

#### I.1.1 Mains

Les résultats des cultures réalisées à partir des écouvillons des différents types de mains analysées sont consignés dans le (**Tableau 04**).

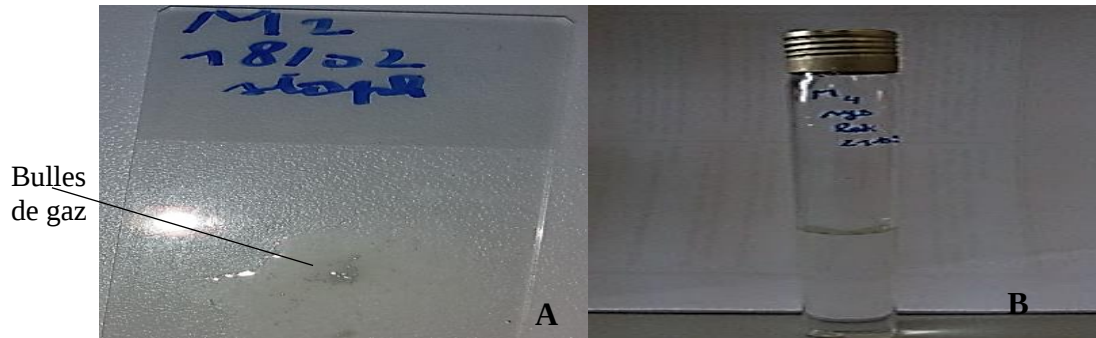
**Tableau 04** : Résultats des cultures du contenu des écouvillons de mains.

| Germes                       | Mains                   |                         |                         |                         |
|------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                              | M01<br>(Chef-cuisinier) | M02<br>(Aide-cuisinier) | M03<br>(Aide-cuisinier) | M04<br>(Aide-cuisinier) |
| <b>FTAM</b>                  | -                       | -                       | -                       | -                       |
| <b>Entérobactéries</b>       | 01C                     | -                       | 03C                     | 01C                     |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | -                       | +                       | -                       | +                       |
| <i>Salmonella</i>            | -                       | +                       | -                       | +                       |

C : colonies, (-): Absence, (+) : Présence.

A partir des colonies considérées comme positive, nous avons procédé aux tests biochimiques :

- Figure 10 A : résultat positif de test de catalase qui montre la présence de staphylococcus par la dégradation  $H_2O_2$  traduit par la formation des bulles.
- Figure 10 B : Teste ONPG le milieu ne présente aucune décoloration ce qui indique l'absence du la  $\beta$ -galactosidase dans cette souche de salmonella (**annexe 06**).



**Figure 10 :** Testes de confirmation : **A** teste de catalase (+) (*Staphylococcus aureus*)  
**B** teste OMPG (-) (*salmonella*)

### I.1.2 Equipements

Les analyses du contenu des écouvillons obtenus à partir des différents types d'équipement utilisés, ont donné les résultats suivants (**Tableau 05**).

**Tableau 05 :** Résultats des cultures du contenu des écouvillons des équipements.

| Germes                              | Equipements                     |                                   |                        |                                 |
|-------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|------------------------|---------------------------------|
|                                     | E1<br>plat pour<br>présentation | E2<br>marmite pour<br>viande cuit | E3<br>plat pour salade | E4<br>plat pour<br>présentation |
| <b>FTAM</b>                         | -                               | 27C                               | 313C                   | -                               |
| <b>Entérobactéries</b>              | 1C                              | 2C                                | 13C                    | -                               |
| <b><i>Staphylococcus aureus</i></b> | 47C                             | -                                 | 01C                    | -                               |
| <b><i>Salmonella</i></b>            | +                               | +                                 | -                      | -                               |

C : colonies, Absence, (+) : Présence.

### I.1.3 Paillasse

Après lecture des cultures réalisées à partir du contenu des écouvillons des différents types de paillasse ; on a obtenu les résultats qui sont représentées dans le (**Tableau 06**).

**Tableau 06 :** Résultats des cultures du contenu des écouvillons de paillasse.

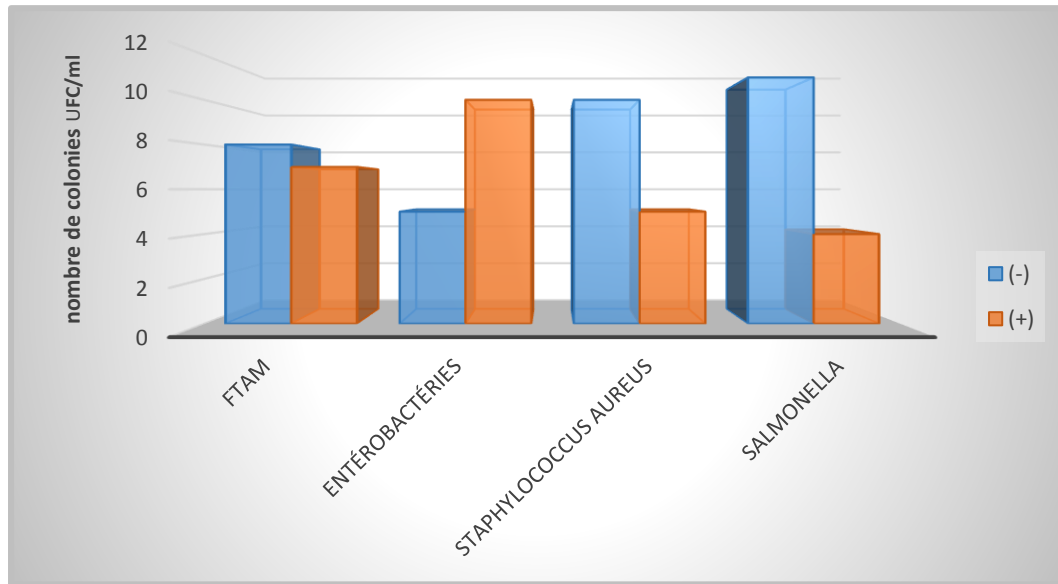
| Paillasse                                                                                         | Germe |                 |                              |                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-----------------|------------------------------|-------------------|
|                                                                                                   | FTAM  | Entérobactéries | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Salmonella</i> |
| <b>S1</b><br><b>Paillasse pour</b><br><b>servire 01</b>                                           | 109C  | 87C             | -                            | -                 |
| <b>S2</b><br><b>Paillasse pour</b><br><b>préparation</b><br><b>viande</b>                         | 0     | 0               | 01C                          | -                 |
| <b>S3</b><br><b>Paillasse pour</b><br><b>préparation</b><br><b>légumes</b>                        | 03C   | 0               | -                            | -                 |
| <b>S4</b><br><b>Paillasse pour</b><br><b>préparation</b><br><b>salades</b>                        | 01C   | 02C             | -                            | -                 |
| <b>S5</b><br><b>Paillasse de</b><br><b>préparation de</b><br><b>carcasses de</b><br><b>viande</b> | 0     | 0               | -                            | -                 |
| <b>S6</b><br><b>Paillasse pour</b><br><b>servire 02</b>                                           | 72C   | 43C             | -                            | -                 |
| <b>S7</b><br><b>Paillasse</b><br><b>de préparation de</b><br><b>légumes 02</b>                    | 17C   | 4C              | -                            | -                 |

C : colonies, (-): Absence, (+) : Présence.

A partir des 15 prélèvement de surface réalisé on a obtenu les résultats suivants :

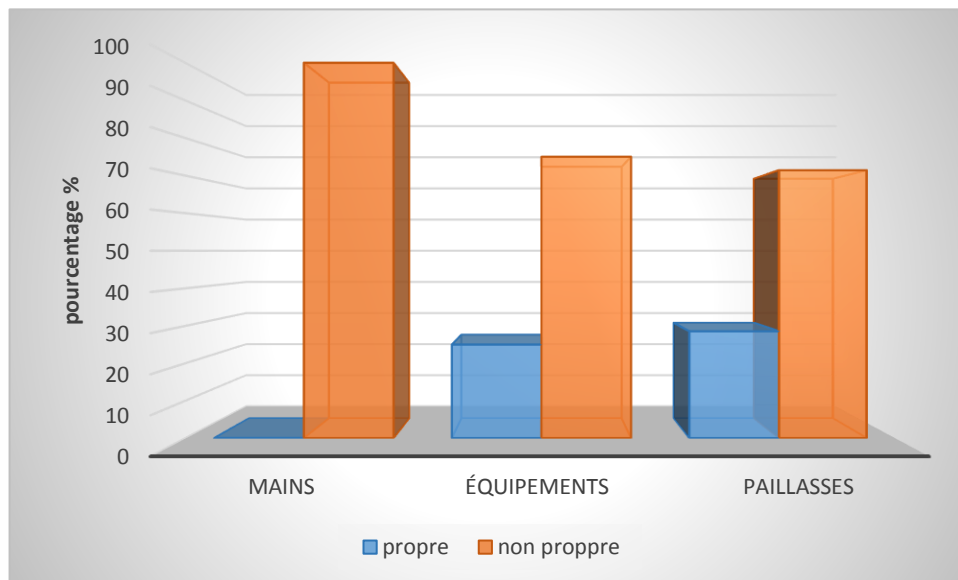
Parmi les 15 résultats du dénombrement des FTAM on a obtenu 07 résultats positif et 08 résultats négatifs. Les cultures de recherche des entérobactéries donnent 10 résultats positif, et 05 négatifs ; par contre les résultats de recherche de *Staphylococcus* donnent 05 positifs et enfin la recherche des salmonelles dans les différents types de surfaces donnent 04 résultats positifs.

L'évaluation globale des résultats des analyses de surfaces sont représentées dans le diagramme suivant (**Figure 11**).



**Figure 11 :** Evaluation globale de la qualité hygiénique des surfaces (mains et équipements).

Le niveau de contamination des surfaces varie selon le type de surfaces ; dont les surfaces vivantes (mains) ont le niveau de contamination le plus élevé suivie par les équipements et paillasses qui présente des pourcentages rapprochés. La **figure 12** résume le niveau de contamination par type de surfaces.



**Figure 12 :** Niveau de contamination par type de surfaces.

## I.2 Analyse microbiologique de repas chauds

L'interprétation des résultats d'analyse des repas chaud est une conclusion sur la qualité des denrées alimentaires, quant à leur acceptabilité pour la santé des consommateurs, conformément aux critères définis dans le (Tableau 07).

**Tableau 07 :** Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires (repas chaud).

| Germes                            | Limites microbiologiques (ufc/g) |                   | Référence                                                                    |
|-----------------------------------|----------------------------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------|
|                                   | m                                | M                 |                                                                              |
| Germes aérobies à 30°C            | 3.10 <sup>5</sup>                | 3.10 <sup>6</sup> | Journal Officiel De<br>La République<br>Algérienne du 2<br>juillet 2017 N°39 |
| <i>Escherichia coli</i>           | 10                               | 10 <sup>2</sup>   |                                                                              |
| <i>Stphylocoque à coagulase +</i> | 10 <sup>2</sup>                  | 10 <sup>3</sup>   |                                                                              |
| Anaérobies sulfito- réducteurs    | 50                               | 5.10 <sup>2</sup> |                                                                              |
| <i>Salmonella</i>                 | Absence dans 25 g                |                   |                                                                              |

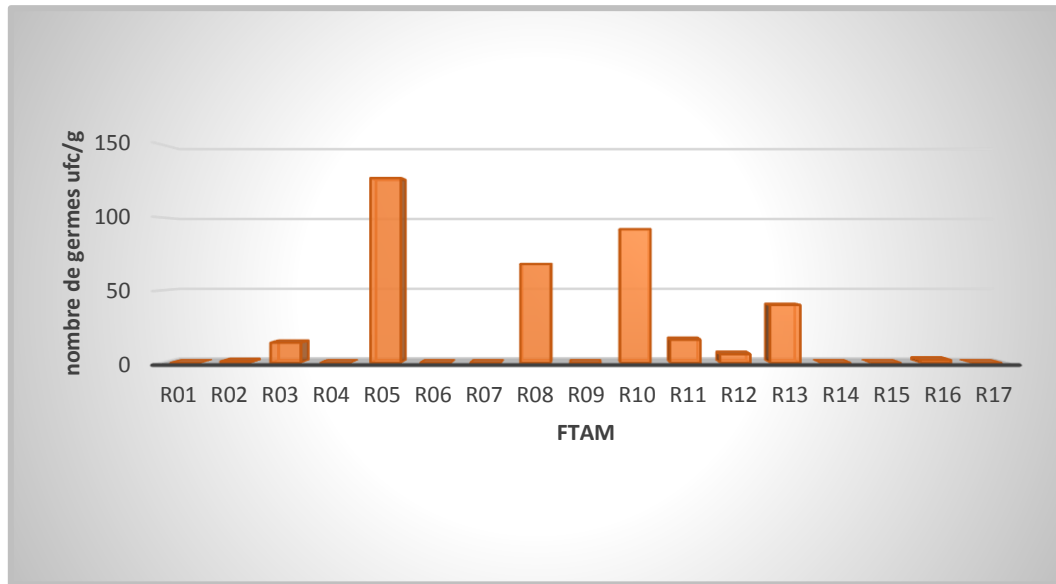
**Interprétation :** Plan à trois classes

- **m : seuil minimale** du nombre de germes présent dans un gramme de produit analysé, résultat trouvé inférieure ou égale m, la qualité microbiologique du produit est considérée comme **Satisfaisante**.
- **M : seuil maximale** du nombre de germes présent dans un gramme de produit analysé ; au-dessus de laquelle la qualité microbiologique du produit est considérée comme **Non Satisfaisante**.
- **Résultats trouvés entre m et M :** Qualité microbiologique **Acceptable**.

**N.B :** la présence de *Salmonella* rend l'aliment Impropre à consommation humaine.

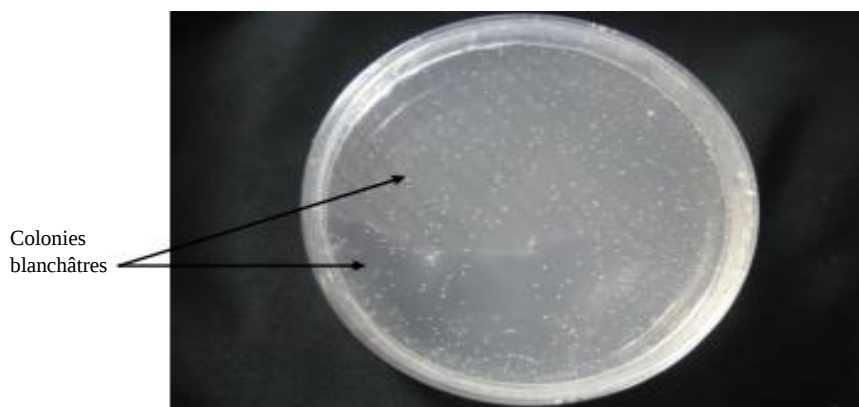
### I.2.1 Dénombrement des germes aérobie à 30°C (FTAM)

Le diagramme suivant, montre les résultats obtenus du dénombrement des germes aérobie à 30°C des repas chauds effectués.



**Figure 13 :** Niveau de contamination des repas chauds par FTAM.

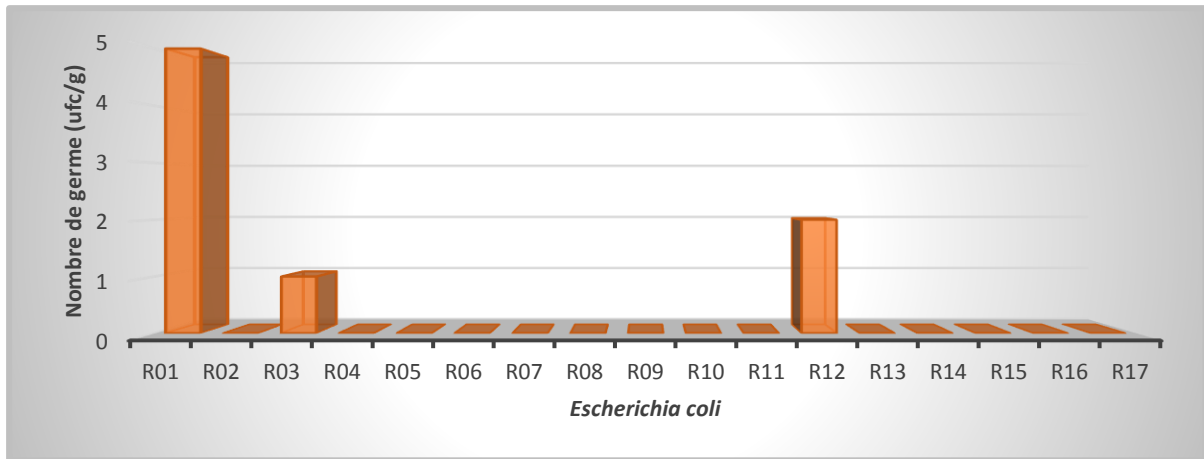
Selon le diagramme représenté par le Figure 14, on observe cinq (05) résultats positifs (R03, R05, R08, R10, R11, R12, R13). Le R05 présente la valeur maximale de 127ufc/g ; cette dernière n'a pas atteint la valeur *m* (3.105 ufc/g) mentionnée dans Tableau 07.



**Figure 14 :** Aspect des colonies de FTAM sur milieu PCA

### I.2.2 Dénombrement des *Escherichia coli*

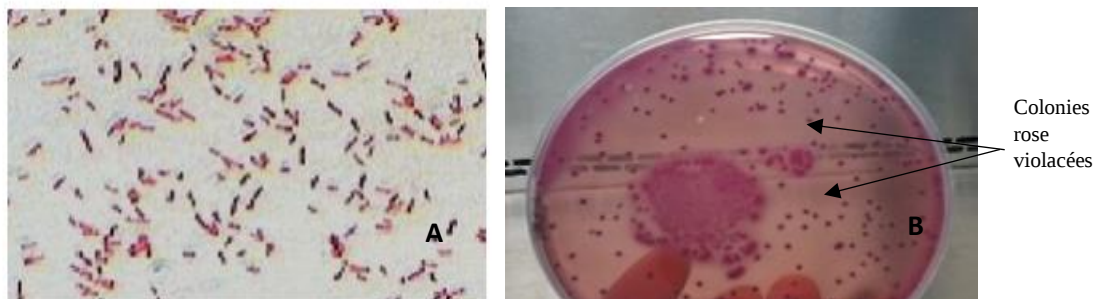
Les résultats obtenus du dénombrement des *Escherichia coli* dans les repas chauds sont présentés dans le diagramme suivant (**Figure 16**).



**Figure 15 :** Niveau de contamination des repas chauds par *Escherichia coli*.

Selon le diagramme présenté dans la Figure 16, Le dénombrement des *Escherichia coli* sur tous les repas chauds analysé, donne trois (03) résultats positif ; dont R01 présente la valeur majeure de 5 ufc/g ; cette valeur n'attend pas la valeur m (10 ufc /g).

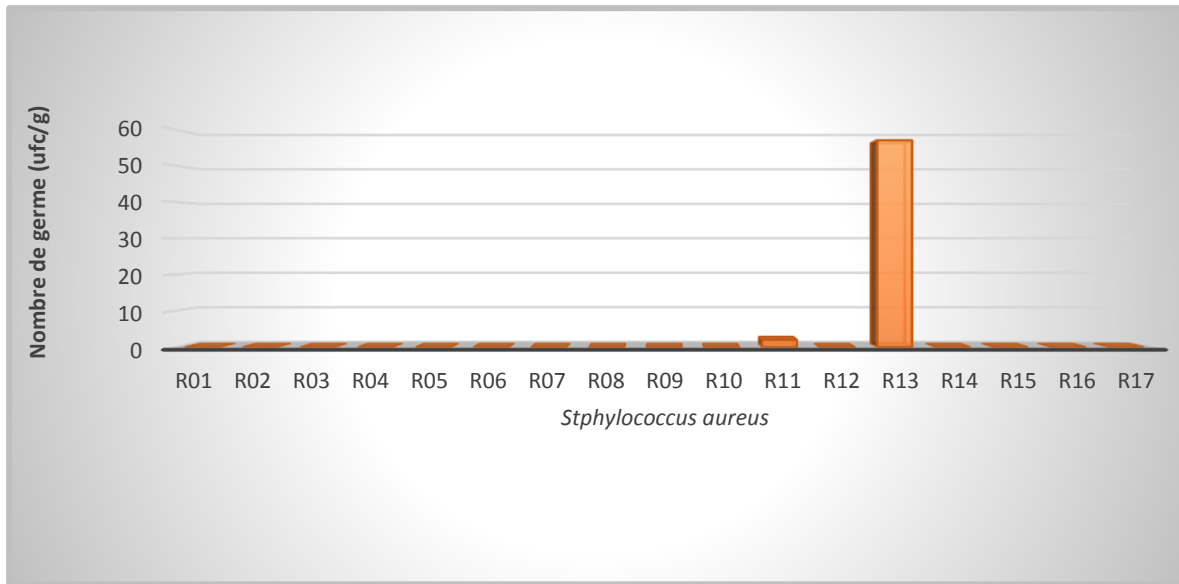
A partir des colonies d'*E. Coli* obtenu sur VRBL (**Figure 17 B**), on a réalisé une coloration de GRAM, et par observation microscopique (grandissement X 100) on a obtenu l'aspect microscopique, comme le montre la **figure 17 A**.



**Figure 16:** Aspect d'*E. Coli* : **A** : Aspect Microscopique d'*E. Coli* (Coloration de Gram G X100). **B** : aspect des colonies d'*E. Coli* sur milieu VRBL

### I.2.3 Dénombrement des *Staphylococcus aureus*

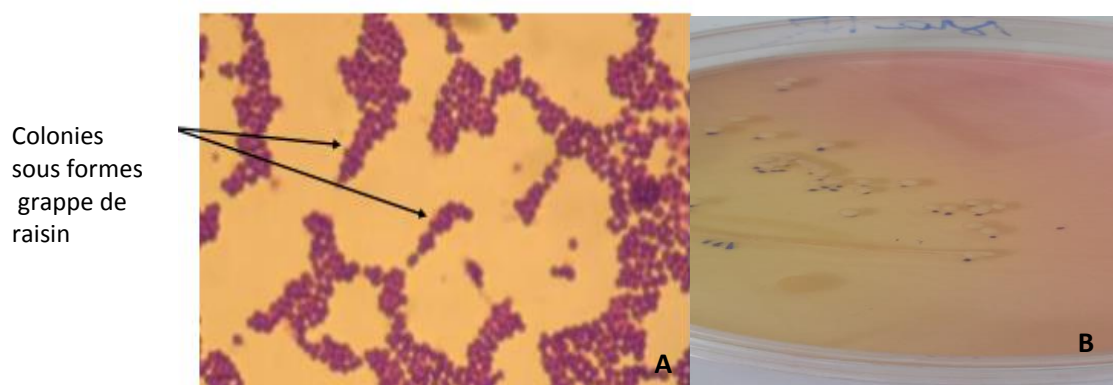
Le niveau de contamination de tous les repas chauds analysés par la *Staphylococcus aureus*, est résumé dans le diagramme suivant (**Figure 17**).



**Figure 17 :** Niveau de contamination des repas chauds par *Stphylococcus aureus*.

Parmi les 17 repas chauds analysés, on a obtenu deux (02) résultats positifs, qui correspondent aux échantillons R11 (02 ufc/g) et R13 (57 ufc/g). D’après les limites microbiologiques données, les valeurs obtenues sont inférieures au seuil minimal.

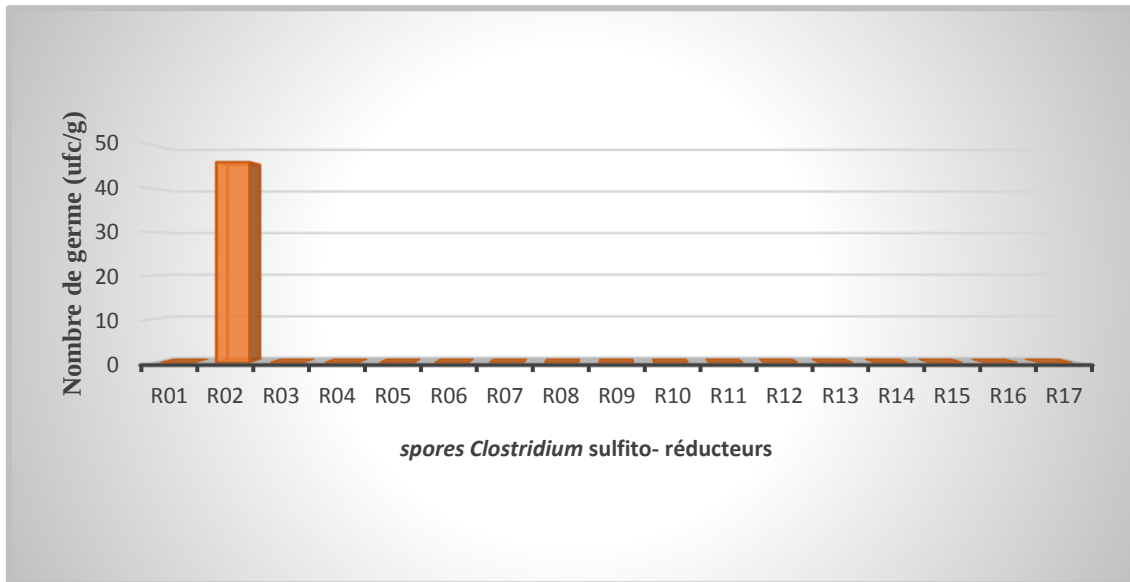
Les boites contenant le milieu sélectif Chapman, présentant des colonies de taille moyenne, lisses, brillantes et pigmentées en jaunes seront considérées comme positives (**Figure 19 B**). A partir des colonies jaunes on a effectué une coloration de GRAM ; et on a obtenu l’aspect microscopique montré dans la **figure 18 A**.



**Figure 18 :** Aspect du *Staphylococcus aureus*. **A** Aspect Microscopique de *Staphylococcus aureus* (Coloration de Gram GX100). **B** aspect des colonies de *Staphylococcus aureus* sur milieu sélectif Chapman

#### I.2.4 Recherche des spores de *Clostridium* sulfito-réducteur

Les analyses réalisées pour la recherche des spores de *Clostridium* sulfito-réducteur ont données un seule résultat positif (+). Les résultats obtenus sont présentés dans le diagramme suivant (**Figure 19**).



**Figure 19 :** Contamination des repas chauds par les spores *Clostridium* sulfito- réducteurs.

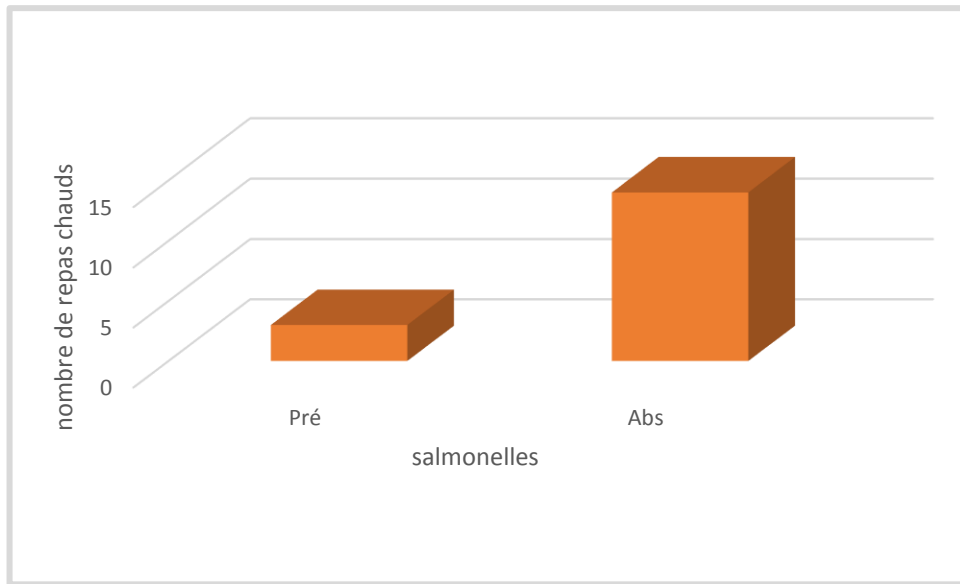
Le R02 est le seule échantillon positif, avec une valeur de 57ufc/g ; cette dernière est inférieure à celle de m ( $10^2$  ufc /g).



**Figure 20 :** Aspect des colonies des clostridium sulfito-réducteur.

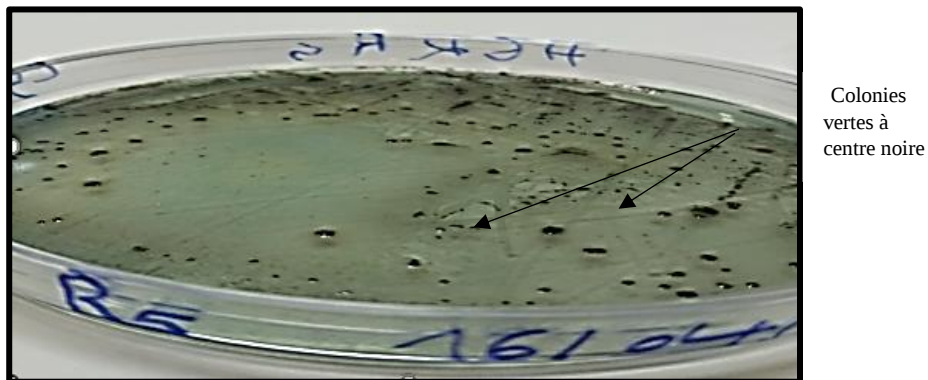
#### I.2.5 Recherche des salmonelles

Les résultats de la recherche des salmonelles dans les différents échantillons de repas chauds sont exprimées par présence (Pré) ou absence (Abs). Parmi les 17 échantillons on a marqué la présence de *salmonella* dans 3 échantillons, qui sont R5, R6, R11. Ces résultats sont présentés dans le diagramme suivant (**Figure 21**).



**Figure 21 :** Contamination globale des repas chauds par les Salmonelles.

Les boîtes présentant des colonies vertes à centre noire qui deviennent entièrement noire en fin d'incubation (réduction du citrate ferrique ammoniacal, absence de fermentation du lactose) sont considérées positif et correspondent probablement à la *salmonella typhimurium* (Figure 22).

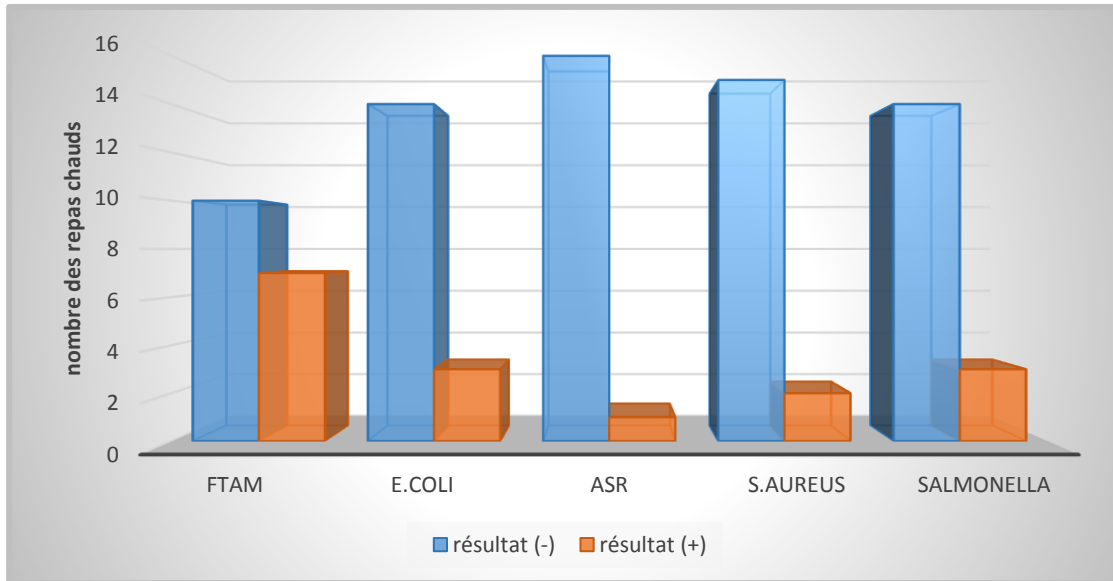


**Figure 22 :** Aspect de colonies suspectes de Salmonella sur milieu Hektoen.

A partir des 17 échantillons de repas chauds analysées ; et selon les paramètres recherchés, les résultats obtenus été comme suite :

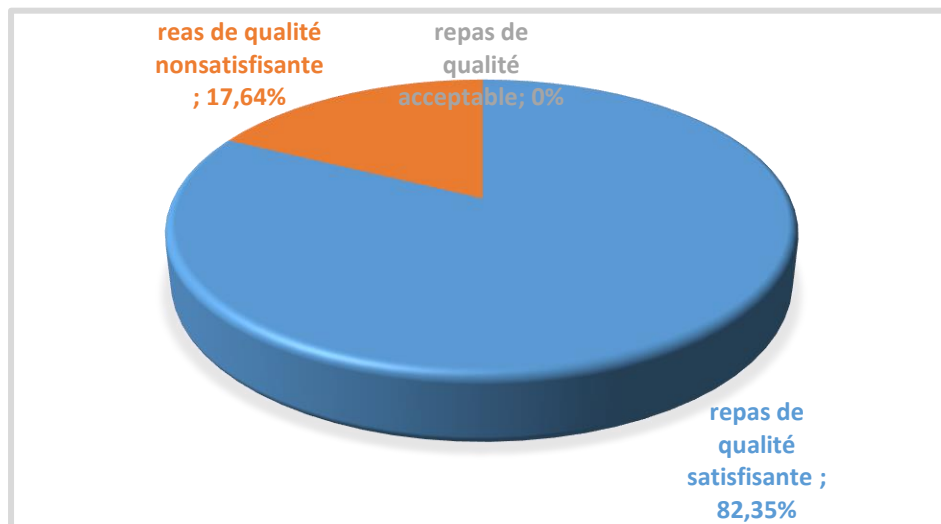
Pour les FTAM : parmi les 17 résultats obtenus, on a 07 qui sont positif et 10 résultats négatifs. Ce pendant les résultats de la recherche des *E.coli* ont montré 03 positif et 14 négatifs. Mais la recherche des spores de *Clostridium* sulfite-réducteur a donné un (01) seul résultat positif. En ce qui concerne la recherche des *Staphylococcus aureus* on a 02 échantillons qui montrent des résultats positifs parmi les 17 échantillons analysés .et en fin la recherche salmonella a donné 03 résultats positif.

Le diagramme représenté dans la **figure 23** montre le niveau de contamination globale par type de germes par rapports aux repas chauds.



**Figure 23 :** Niveau de contamination globale par type de germes par rapports aux repas chauds.

D'après tous les données et résultats obtenus à partir des analyses effectuées sur les différents échantillons de repas chauds, nous pouvant conclure que parmi les 17 échantillons analysés 03 sont impropre à la consommation à cause de leur qualité microbiologique considérés non satisfaisantes.



**Figure 24 :** Interprétation globale des résultats d'analyses des repas.

### 1.3 Analyse microbiologique d'eau de consommation

L'interprétation des résultats d'analyse bactériologique d'eau de consommation, est une conclusion sur sa qualité bactériologique, quant à leur acceptabilité pour la santé des consommateurs, conformément aux critères définis dans le **tableau 08**.

**Tableau 08** : Critères microbiologiques applicables à l'eau de consommation.

| Germes                                | Limites microbiologiques (ufc/ml) | Référence                                                                              |
|---------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i>               | Absence dans 250 ml               | <b>Journal Officiel De<br/>La République<br/>Algérienne du 2<br/>juillet 2017 N°39</b> |
| Entérocoques                          | Absence dans 250 ml               |                                                                                        |
| Spores anaérobies sulfito-réductrices | Absence dans 50 ml                |                                                                                        |
| Coliformes totaux                     | Absence dans 250 ml               |                                                                                        |
| <i>Pseudomonas Aéruginosa</i>         | Absence dans 250 ml               |                                                                                        |

**Interprétation** : Plan à deux classes

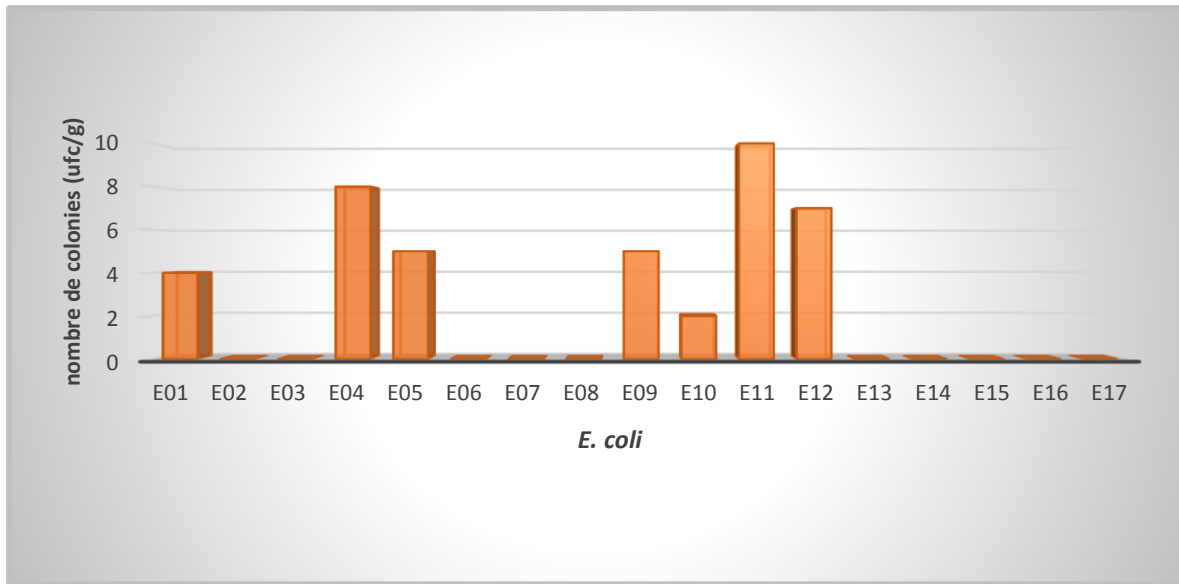
- ✓ Absence : **Propre** à la consommation humaine.
- ✓ Présence : **Impropre** à la consommation humaine.

#### 1.3.1 Dénombrement des coliformes totaux

Après examen des membranes présentant des colonies typiques (coloration jaune), et réalisation des tests de confirmation, on a constaté l'absence totale des coliformes totaux dans les différents échantillons d'eau de consommation analysés.

#### 1.3.2 Dénombrement des coliformes *Escherichia coli*

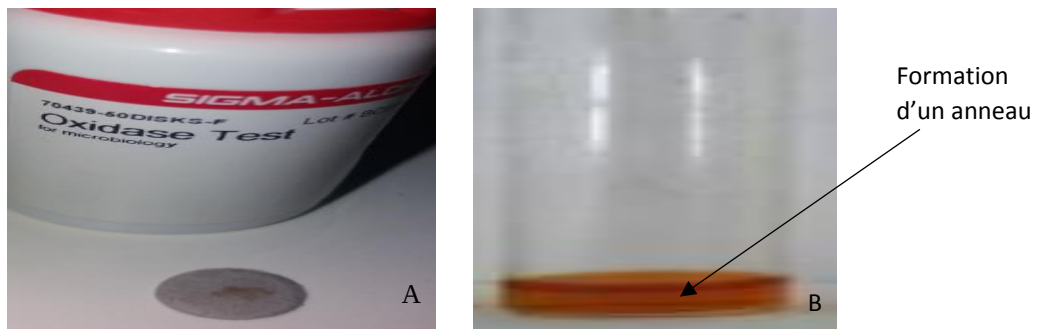
Le digramme suivant résume les résultats des analyses du dénombrement *E. coli* dans les échantillons d'eau de consommation.



**Figure 25 :** Contamination de l'eau de consommation par *E. coli*.

On observe selon le présent diagramme, la présence d'*E. coli* sur 07 échantillons parmi les 17 échantillons analysés (E01, E04, E05, E09, E10, E11 et E12). donc on constate que les échantillons qui présentent des résultats positifs sont impropre à la consommation (Tableau 09).

Les colonies isolées ont subi des tests de confirmation pour s'assurer de la présence d'*E. coli* (Figure 26).



**Figure 26 :** Test de confirmation d'*E. coli*. **A** teste d'oxydase (-). **B** teste indole (+) aspect après incubation et addition de Kovacs

### 1.3.3 Dénombrement Entérocoques

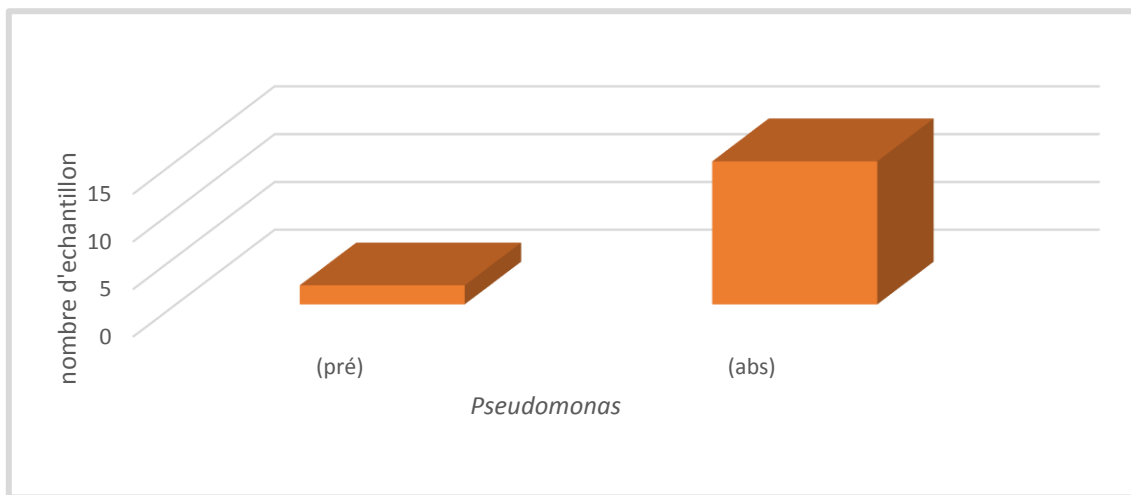
Les analyses réalisées pour le dénombrement des entérocoques ont montré l'absence totale des entérocoques sur tous nos échantillons d'eau de consommation.

### 1.3.4 Dénombrement de spores des anaérobies sulfito-réductrices

Les résultats du dénombrement des spores *clostridium* sulfito-réducteur, sont tous négatifs, alors on constate l'absence totale des spores de *clostridium* sulfito-réducteur.

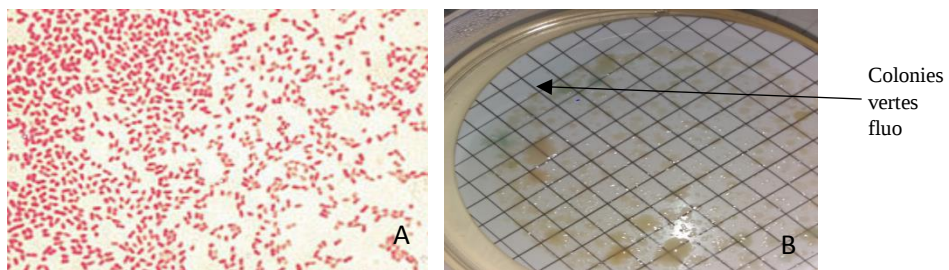
### 1.3.5 Dénombrement *Pseudomonas aeruginosa*

Les résultats de la recherche de *Pseudomonas aeruginosa* dans les différents prélèvements de d'eau de consommation sont exprimés par présence (Pré) ou absence (Abs). Ces résultats sont présentés dans le diagramme suivant :



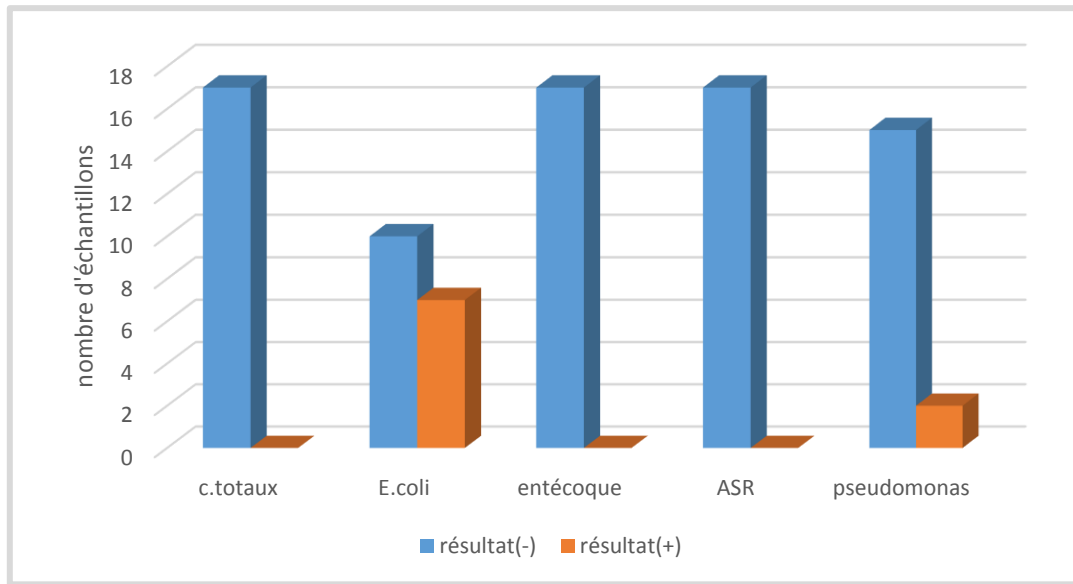
**Figure 27 :** Contamination de l'eau de consommation par *Pseudomonas*.

Parmi les 17 échantillons analysés on a marqué la présence de *Pseudomonas* dans deux (02) échantillons, qui sont E12 et E06. Donc les échantillons qui présentent des résultats positifs sont impropres à la consommation (**Tableau 09**).



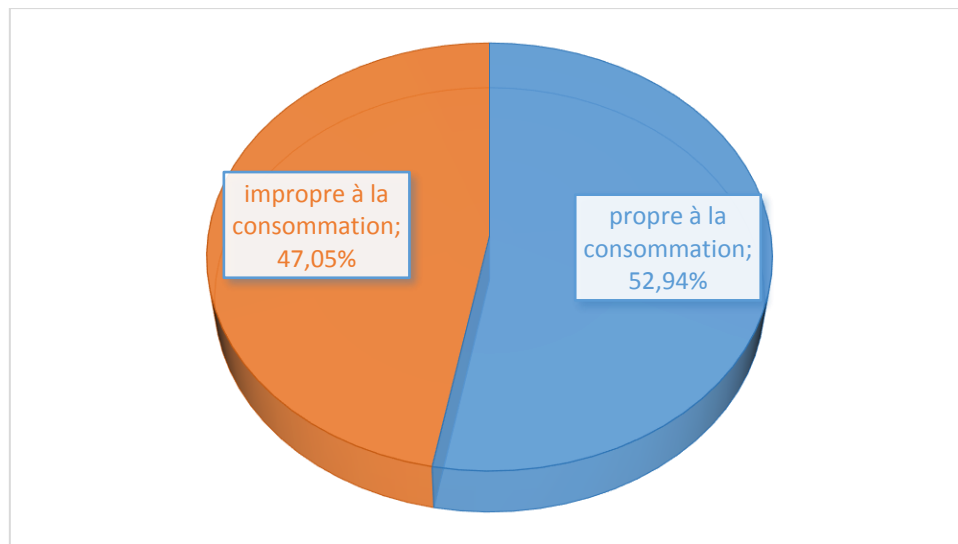
**Figure 28 :** Aspect de *Pseudomonas* A : Aspect Microscopique de *Pseudomonas* (Coloration de Gram GX100). B : aspect des colonies suspectes de *Pseudomonas*

D'après tous les résultats obtenus, on a remarqué l'absence totale des coliformes totaux, des entérocoques, et les spores de *clostridium* sulfito-réducteur ; par contre on a observé la présence des *E. coli* et *Pseudomonas* dans certains échantillons analysés. Une évaluation globale du niveau de la contamination par type de germes est présentée par le diagramme suivant :



**Figure 29 :** Niveau de contamination globale par type de germes par rapports aux échantillons d'eau de consommation.

En conclusion, d'après toutes les données et résultats d'analyses d'eau de consommation obtenus, on peut déduire que parmi les 17 échantillons analysés, 07 échantillons sont impropres à la consommation. La **figure 30** présente interprétation globales des résultats d'analyses d'eau de consommation.



**Figure 30 :** Interprétation globale des résultats d'analyses de l'eau de consommation

## II. Discussion générale

La plupart des maladies d'origine alimentaire (TIAC) sont dues à la mauvaise qualité de la matière première ainsi qu'au processus de fabrication dans les établissements de production alimentaire, mais une proportion importante peut également résulter d'une mauvaise manipulation (**Ismail et al., 2013**). Un niveau élevé d'hygiène dans le milieu de travail, en particulier sur les surfaces, les équipements et les installations de contact avec les aliments, est une condition fondamentale pour la prévention de la contamination microbienne des aliments (**Osimani et al., 2014**).

Sur 15 prélèvements de surface réalisés, nous avons noté la présence des germes dans 10 cas, ce qui correspond à un pourcentage de contamination de 80%. Nos résultats obtenus sont similaires à celle trouvée par **Mejrhrou (2017)**, ils ont noté un pourcentage de contamination de 80%. Alors que celle de **Garayoa et al (2017)** est de 40%.

Cette contamination élevée pourrait tirer la sonnette d'alarme sur le mode d'entretien appliqué. Ce pourcentage varie d'une surface à l'autre, Dans notre étude les mains (surfaces vivantes) présentent le degré de contamination le plus élevé qui correspond à un pourcentage de contamination de 100%. Les analyses microbiologiques ont montré la prédominance des entérobactéries suivie par les FTAM qui sont des germes témoins de la qualité hygiénique. Le nombre des échantillons contenant la *salmonella* est relativement limité, cela correspond à un pourcentage de 26.66%, en effet à cause de leur pouvoir pathogène important la présence minimales des salmonelles ne néglige pas le risque.

L'eau de consommation utilisée dans la cuisine de la cité A, présente un niveau de contamination moins important que celui des surfaces, cela correspond à un pourcentage de 47.05%. En absences totale des coliformes totaux, entérocoques et spore des *clostridium* sulfite réducteurs ; la non-conformité des échantillons non propre à la consommation est causée par la présence d'*E.coli* qui est présente dans 41.17% du nombre totales des échantillons et *Pseudomonas* qui est présente dans 11.76% des échantillons. La détection d'*E.coli* dans l'eau doit donc être considérée comme reflétant la présence possible de micro-organismes pathogènes d'origine fécale ou entérique (**WHO, 2011**). L'homme reste la source potentielle de ces deux germes opportunistes pathogènes.

Dans un restaurant collectif, tous les efforts sont faits pour obtenir un produit fini qui est le repas servi. Au niveau de la cité A, et Sur les 17 échantillons prélevés des repas chauds

servis, 03 ont été non conformes, soit un pourcentage de l'ordre de 17.64%. Cette non-conformité est due à la présence des salmonelles.

Ce résultat est inférieur à celle trouvée par **Mahmouh (2015)** qui est de 27% et aussi inférieure à celui de **Ahoyo et al (2007)**, qui ont révélé une fréquence élevée de contamination des aliments vendus sur le campus de l'université d'Abomey Calavi au Bénin (74%) et inférieure aussi aux résultats obtenus par **Mouloudi (2013)** qui est de 47.92%.

En comparant le niveau de contamination des surfaces (80%) et eau (47.05%) par celles des repas chaud (17.64%) ; on peut dire que le traitement thermique effectué au cours de la cuisson a été suffisant pour réduire d'une manière remarquable le risque de contamination des repas chaud servis. En effet, selon les résultats des repas chauds qui montrent que les salmonelles sont les seuls germes incriminés dans la non-conformité des raps analysées, et le niveau de contamination important des mains (100%) on peut déduire que la source potentielle de contamination des repas chauds dans le restaurant de la cité A est le personnel.

En revanche, le **JO de l'Union Européenne** a recommandé que la température des plats chauds après service doit être supérieure à 63°C, ce qui ne pas le cas de nos échantillons, qui présentent des températures inférieures à celle recommandée. Alors que, le niveau de contamination des repas chauds peut être affecté directement par ce dérèglement.

A la lumière des résultats obtenus et des observations effectuées, il ressort, de façon globale, que les conditions d'hygiène au niveau de la cuisine de la cité A, sont dans l'ensemble non satisfaisantes. C'est pourquoi il est impératif qu'un plan de nettoyage et de désinfection précis et adéquat soit établi. On doit aussi veiller au respect d'hygiène vestimentaire du personnel (porte des blouses propres) et leur hygiène sanitaire et corporel. Parmi toutes les mesures de prévention préconisées contre les TIAC, l'une des plus efficaces est d'enseigner au personnel de la chaîne alimentaire, les règles de bonne pratique en la matière (**WADE, 1996**).

La préparation des repas de bonne qualité microbiologique exige le respect de règles d'hygiène à plusieurs niveaux : matières premières mises en jeu, environnement de préparation (matériel, conservation, locaux, personnel...) et savoir-faire afin de prévenir la survenue de toxi-infections alimentaires collectives en milieu universitaire.

Dans cette étude, 15 échantillons de surfaces, 17 échantillons de l'eau de consommation, et 17 échantillons de repas chauds prélevés de restaurant d'une cité universitaire au niveau de la wilaya d'El Oued, ont subi des analyses microbiologiques au laboratoire pédagogique de l'université de HAMMA LAKHDAR El Oued selon les normes algériennes en vigueur et autre normes internationales.

Les échantillons de surfaces ont été les plus contaminés avec un pourcentage de 80%, suivie par les échantillons de l'eau de consommation de 47.05%. Suite au traitement thermique, la contamination importante de surfaces et de l'eau de consommation avait un impact peu important sur la conformité de plats cuisinés analysés ; qui présentent un niveau de contamination de 17.64%. La non-conformité des repas chauds été due spécifiquement à la présence des salmonelles. La présence de ces germes a témoigné d'une contamination fécale des denrées alimentaires suite à leur manipulation. Ainsi, l'hygiène de ces aliments peut être améliorée grâce à des programmes de sensibilisation des manipulateurs et des distributeurs aux règles d'hygiène.

Cette étude a permis de mettre en évidence l'importance du contrôle microbiologique en restauration. Compte tenu du rôle central de l'application des règles l'hygiène en restauration collective, des améliorations peuvent être apportées, des protocoles et des procédures doivent être rédigés, validés et régulièrement évalués

## Références bibliographiques

- Abouda.** (2011). La qualité bactériologique en restauration hospitalière, un paramètre de gestion de risque infectieux. Science Lib éditions Toulouse Mersenne, Centre ISSN France,. 2111-4706.
- Adams MR et Mousse MO.** (2000). Microbiologie alimentaire ; 2<sup>ème</sup> édition. Université de Surrey, Guildford, Royaume-Uni. La société royale de chimie. ISBN 0-85404-611-9,. 479p.
- AFNOR (Association Française de Normalisation).**(2000). ISO 22000 Présentation de la norme. Éd., 14p.
- Ahoyo TA., Ahissou H., Kounon F., Aminou T., Dramane K.** (2007). Etude de la qualité bactériologique des aliments vendus sur le campus de l'Université d'Abomey Calavi au Bénin.
- Alassane A.** (1998). Contribution à l'étude de l'hygiène dans la restauration collective au centre des œuvres universitaire (COUD). Thèse de médecine vétérinaire, Dakar, n° 26,. 150p.
- Azzoug A., Madagh B.** (2013). Contribution à l'élaboration d'un système HACCP au niveau des centres de collecte « Exemple DANONE Djurdjura Algérie ». Mémoire d'ingénieur d'état en contrôle de qualité et analyses, Université Abderrahmane Mira de Bejaia,. 49p.
- Barakat SM. Mahmoud.** (2012). Salmonella – A dangerous foodborne pathogen. Croatia: IntechOpen, USA 978-953-307-782-6,. 438p.
- Barcellona N.** (2019). 15 different types of restaurant concepts, [en ligne]. Disponible sur : <https://www.forketers.com/>. (Consulté le 25/03/2019).
- Becila A.** (2009). Préventions des altérations et des contaminations microbiennes des aliments. mémoire de stage pour obtenu diplôme de post-graduation spécialisée. Université des frères Mentouri Constantine,. 34-35p.
- Billette de Villemeur et al.,** (2012). Guide des conduites à tenir en cas de maladies infectieuses en collectivité, Rapport du groupe de travail 28 septembre 2012).
- Bonnefoy C., Guillet F., Leyral G., Verne E ., Bourdais.** (2002). Microbiologie et qualité dans l'industrie agroalimentaires, Paris : CRDP d'aquitaine,. 101p.
- Bourgeois C. M., Mescle J. F., Zucca J.** (1996). La microflore de la viande. In : Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Paris : Lavoisier, TOME 1,. 336-345p.

## Références bibliographiques

- Bouskraoui M., Zouhair S., Soraa N., Benaouda A., Zerouali K., Mahmoud M.** (2017). Guide pratique des bactéries pathogènes, Société Marocaine d'infectiologie Pédiatrique et de Vaccinologie (SOMIPEV),. 99p.
- Bousseboua H.** (2005). Elément de microbiologie, 2<sup>ème</sup> édition. Algérie : édition compus-club,. 282-283p.
- Carbonel X.** (2007). Problématique de la sécurité des aliments en phase de création d'une chaîne de restauration rapide, thèse de doctorat vétérinaire. École Nationale Vétérinaire d'Alfort,. 27-31-35p. Disponible sur : [http://theses.vet\\_alfort.fr/telecharger.php?id=918](http://theses.vet_alfort.fr/telecharger.php?id=918). (Consulté le 09/04/2019).
- Carip C.** (2008). Microbiologie hygiène, Base microbiologique de la diététique, Paris : Lavoisier,. 69 p.
- Carrère R., Jaffré-Le Bouquin L.** (2014). La marche en avant. Fiche pratique n° 3419. Hôtellerie Restauration, Disponible sur : [www.lhotellerie-restauration.fr](http://www.lhotellerie-restauration.fr). (Consulté le 09/04/2019).
- Cavalli S.** (2003). Application de la méthode HACCP en établissement d'abattage : modèles théoriques et essai de mise en place. Th. : Med.vet. : Lyon. E.N.V.L. These n°14,. 132 p.
- Centre d'expertise en Analyse Environnementale du Québec (CEAEQ).** (2016). Recherche et dénombrement des coliformes totaux : méthode par filtration sur membrane. MA. 700 – Col 1.0, Rév. 4, Ministère du développement durable de l'environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec,. 20 p.
- Centre D'expertise En Analyse Environnementale Du Québec. (CEAEQ).** (2014). Recherche et dénombrement des coliformes thermotolérants (fécaux) et confirmation à l'espèce *Escherichia coli* : méthode par filtration sur membrane. MA. 700 – Fec. Ec 1.0, Rév. 5, Ministère du Développement durable de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec,. 20 p.
- Chambre de Commerce et d'Industrie Aveyron (CCI A).** (2014). Les règles d'hygiène en restauration. Fiche pratique. France,. 7-8p. Disponible sur : <https://www.aveyron.cci.fr/wp-content/uploads/2010/12/Fiche-regles-dhygiene-en-restauration.pdf>. (Consulté le 17/04/2019).
- Colin P.** (2009). Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments : Salmonella. Afssa.

## Références bibliographiques

**Collins DS., Gracey JF.** (1992). Food poisoning and meat microbiology. In : Meat hygiene, ninth edition. London : Baillière Tindall,. 222-250p.

**Corpe D.** (2014). Maîtrise des dangers: HACCP, photocopié. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Unité pédagogique de l'hygiène et l'industrie des denrées alimentaires d'origine animale,. 1- 14p.

**Corpet D.** (2005). Maîtrise de l'hygiène (restaurant et industrie) hygiène en restauration hors foyer. photocopié. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Unité pédagogique de l'hygiène et l'industrie des denrées alimentaires d'origine animale,. 12-26p.

**Corpet D.** (2014). Maîtrise de l'Hygiène en Industries Agro-alimentaires (Nettoyage et Désinfection). Hygiène en Restauration collective.[en ligne]. Toulouse, Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, Unité pédagogique de l'hygiène et l'industrie des denrées alimentaires d'origine animale, cours,. 26 p. disponible sur : <http://fcorpet.free.fr/Denis/W/Cours-Hygiene-Iaa-Rhf-ppt.pdf>. (Consulté le 17/04/2019).

**Courthiat M., Boitel L., Chau N., Julliard G.** (1996). Conditions de travail et risques professionnels dans la restauration. Documents pour le médecin du travail,. 43, 315- 322p.

**Custovic A., Ibrahimagic O.,** (2005). Prevention of food poisoning in hospitals. Medicinskiarhiv,. 303- 305 p.

**Dajon JL.** (2004). Guide de visite d'entreprise de restauration, mémoire pour la délivrance du diplôme d'études spécialisées de médecine du travail. Université de Montpellier I,. 36, 41-43p.

**Dalmas G., Gallay A., Espie A., Haeghebaert S., Pihier N., Weill F., De Valk H., Vaillants V., Desenclos J.** (2006). Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 1996 et 2005,. 51-52p.

**Decade C., Marty L., Demontrond D., Manuel C., Cabrit R., Mann G.** (2005). Gestion du risque infectieux d'origine alimentaire dans les unités de soins. XVI<sup>ème</sup> Congrès National de la Sfh. Reims.

**Dennaï N., Kharrati B., El Yachoui M.** (2001). Appréciation de la qualité microbiologique des carcasses de bovins fraîchement abattus. Médecine Vétérinaire,. 145, 270-274p.

## Références bibliographiques

- Diallo M. L.** ( 2010) . Contribution a l'étude de La qualité bactériologique des repas servis par Dakar Catering selon les critères du groupe Servair. Thèse de médecine vétérinaire. DAKAR,. 4 p.
- Diouf L.** (2013). Appréciation du niveau d'Hygiène et proposition d'un système de traçabilité en restauration collective : cas de KIKI traiteur SARL. Thèse de médecine vétérinaire, DAKAR,. 6 -7p.
- Durieux H.** (1978). Aspects hygiénique de la production et de la transformation des aliments d'origine animale. R.T.V.A, n° 133,. 29- 36p.
- Duriez Simon., Pierre., Marie.** (2012). Management par l'hygiène en restauration collective, [en ligne]. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire, Alfort,. 11p. Format PDF. Disponible sur : <http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=1726>. (Consulté le 20/03/2019).
- Fafih Observatoire de l'Hôtellerie (OPCA).** (2011). La restauration et des activités de loisirs, Portrait Sectoriel, [en ligne]. Disponible sur : [www.additiv.fr](http://www.additiv.fr).( Consulté le 02/03/2019).
- FAO.** (2015). Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture : Statistiques de sécurité alimentaire.
- Faye D.** (2007). La maitrise de la qualité en restauration. Brevet de technicien supérieur. Dakar, Sénégal.
- Fédali Y.** (2014). Contribution au management des risques dans certains secteurs d'activité en Algérie, cas de l'agroalimentaire. En vue de l'obtention d'un doctorat en hygiène et sécurité industrielle. Batna : université d'El hadj lakhdar,. 108p.
- Fosse J., Magras C.** (2004). Dangers biologiques et consommation des viandes. Paris : Lavoisier,. 220 p.
- Gallou et Lopelletien.** (2017). Contrôles particuliers et microbiologiques de l'air et contrôles microbiologiques des surfaces dans les établissements de santé.
- Garayoa et al .,** (2017). Essential tools for food safety surveillance in catering services: On-site inspections and control of high-risk cross-contamination surfaces. Food science, Vol. (75),. 48-54p.

## Références bibliographiques

- Guezlane-Tebibel N., Bouras N., Mokrane S., Benayad T., Mathieu F.** (2013). Aflatoxigenic strains of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from marketed peanuts (*Arachis hypogaea*) in Algiers (Algeria). *Annals of Microbiology*, 63, 295-305p.
- Guirand JP., Rosec JP.** (2004). *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*, édition Afnor,. 165, 200p.
- Hafiz C.** (2008). Algérie : Législation sur la protection du consommateur.[en ligne]. Disponible sur : <https://blogavocat.fr/space/chems-eddine.hafiz>. (Consulté en 02/04/2019).
- Hance P., Teyssou R., Nicand E., Buisson Y.** (1998). Sources alimentaires des diarrhées bactériennes. *Toxi-infections alimentaires collectives. Médecine thérapeutique/pédiatrie*. Vol . (01),. 25-26p.
- Institut national de recherche et de sécurité (INRS).** (2015). *La restauration collective. Aide au repérage des risques professionnels*.[en ligne]. Paris,. 5p. Disponible sur : [www.inrs.fr](http://www.inrs.fr). (Consulté le 10/02/2019).
- Ismail R et al.,** (2013). Methods for recovering microorganisms from solid surfaces used in the food industry: A review of the literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, Vol. (34),. 16- 25p.
- Izoard P. (1988).** *Guide de la bio contamination*. 1<sup>ère</sup> éd. Lavoisier, Paris.
- Jean-louis CUQ.** (2007). *Microbiologie alimentaire ; contrôle microbiologique des aliments, Science et technologies des industries alimentaire* 4<sup>ème</sup> année, Université Montpellier 2,. 4-5p.
- Kabir S.M.L.** (2010). Avian Colibacillosis and Salmonellosis: A Closer Look at Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, Control and Public Health Concerns. *International Journal of Environmental Research and Public Health*,. 7, 89, 114p.
- L’Institut national de recherche et de sécurité (INRS).** (2007). *Conception des cuisines de restauration collective ; repères en hygiène et prévention des risques professionnels*. 1<sup>re</sup> édition. Paris. ISBN 978-2-7389-1456-9,. 62p.
- La direction départementale de la protection des populations du Var (DDPPV).** (2010). *Hygiène de la restauration*.[en ligne ]. Document de présentation des principales de l’agroalimentaire et de la forêt. France,. 6p. Format PDF. Disponible sur : [http://www.var.gouv.fr/IMG/pdf/HYGIENE\\_RESTAURATION\\_V13\\_cle51b82a.pdf](http://www.var.gouv.fr/IMG/pdf/HYGIENE_RESTAURATION_V13_cle51b82a.pdf), (Consulté le 20/03/2019).

## Références bibliographiques

**Lacombe B.** (2016). Place de la restauration collective dans l'activité diététique libérale. [ en ligne]. ADL. Présentation journée de formation,. Disponible sur : <https://prezi.com/pnuzfnptzpzu/journee-de-formation-du-4-avril-2016/>. (consulté le 20/03/2019).

**Le Gallou F., Lepelletier D.** ( 2017). Contrôles particuliers et microbiologiques de l'air et contrôles microbiologiques des surfaces dans les établissements de santé.

**Legnani P., Leoni E., Berveglieri M., Mirolo G., Alvaro N.** (2004). Hygienic control of mass catering establishments, microbiological monitoring of food and equipment. Food Control,. 15p.

**Lessirard J., Patier C., Perret A., Richard M-A.** (2019 ). Sociétés de restauration collective en gestion concédée, en restauration commerciale et approvisionnements de proximité. Rapport n° 16060. France. Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt/CGAAER. Janvier 2017,. 11p. Disponible sur : <https://agriculture.gouv.fr>. ( Consulté le 12/02/2019).

**Mahmouh K.** (2015). Evaluation de la qualité hygiénique des aliments desservis en milieu universitaire -Fes-2015.

**Malvy D., Djossou F., Le Bras M .** (1996). Les toxi-infections alimentaire collective aspects cliniques et épidémiologiques, Vol.(33),. 14p.

**Mathé T., Francou A.** (2014). La Restauration collective au travail conforte le modèle alimentaire français. Cahier Credoc n° 317. Français,. 5, 19-22p. Format PDF. Disponible sur : <https://www.credoc.fr>. (consulté en 12/ 02/2019).

**Mejrhirou A.** (2017). Evaluation microbiologique des surfaces en contact des aliments dans un restaurant), Projet de Fin d'Etudes. Licence Sciences et Techniques « Bioprocédés, Hygiène et sécurité alimentaires ». Université sidi Mohamed ben Abdellah faculté des sciences et techniques de Fès,. 29-30-31-32 p.

**Mfoapon njueya M L.** (2006). Etude de la contamination des surfaces dans la restauration collective universitaires de Dakar. Thèse de doctorat vétérinaire d'état. Dakar. Sénégal,. 28p.

**Ministère de L'agriculture de L'agroalimentaire et de la forêt (MAAF).** (2016). Activités de commerce de détail et de transport de produits d'origine animale et denrées alimentaires en contenant, l'arrêté du 21 décembre 2009 relatif aux règles sanitaires applicables aux activités de commerce de détail, d'entreposage et de transport de produits d'origine animale et denrées

## Références bibliographiques

alimentaires en contenant. [en ligne ]. Journal officiel française. Disponible sur : <https://agriculture.gouv.fr/>. ( Consulté le 12/02/2019).

**Mission Santé-sécurité au travail dans les fonctions publiques (MSSTFP).** (2010). Hygiène alimentaire, INTEFP – MSSTFP. Disponible sur : <http://www.intefp-sstfp.travail.gouv.fr/>. (Consulté le 01/04/2019).

**Morere I.** (2015). Gestion d'une Toxi-infection Alimentaire Collective (TIAC) en restauration scolaire. Acteurs et logiques d'actions, [en ligne ]. Thèse de master alimentation. Toulouse - jean Jaurès,. 13p. Format PDF. Disponible sur : <https://docplayer.fr/21131117-Gestion-d-une-toxi-infection-alimentaire-collective-tiac-en-restauration-scolaire-acteurs-et-logiques-d-actions.html>. (Consulté le 23/02/2019).

**Mouloudi F.** (2013). La qualité Hygienne et Microbiologique de la restauration collective : cas de restaurants universitaires d'Oran. Mémoire magister en Microbiologie fondamentale et appliquée. Université d'Oran,. 23-24-88-89-90-91-93-94p.

**Naïtali M., Guillier L., Dubois-Brissonnet F.** (2017). Risques microbiologiques alimentaires ; Chapitre 17 : *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC). Paris : Lavoisier. ISBN : 978-2-7430-2106-1,. 438-453p.

**NF S 90-351.** (2013). Établissements de santé - Zones à environnement maîtrisé - Exigences relatives à la maîtrise de la contamination aéroportée.

**NF T72-101(AFNOR).** (1981). Norme a pour objet de définir des termes couramment utilisés se rapportant à l'antisepsie et à la désinfection.

**NM ISO 9308-1.** (2006). Normes marocaine ISO 9308 -1 indice de classement NM 03.7.003.

**Osimani A et al.,** (2014). Bioluminescence ATP monitoring for the routine assessment of food contact surface cleanliness in a university canteen. International Journal of Environmental Research and Public Health, Vol. (11),. 9, 17p.

**Ouvrir un Restaurant.** (2019). Les 3 grands types de restaurants en France, [ en ligne]. Disponible sur : <https://www.ouvrir-un-restaurant.com>. (Consulté le 28/03/2019)

**Pilet C., Bourdoin J.L., Toma B., Marchal N., Balbastre C., et Person J.M.** (1987).

**Prescott L.M., Harly JP., Klein DA., Willey J.M., Scherwood L.M., Woolverton C.J.** (2010). Microbiologie ; 3<sup>ème</sup> édition. Pari: Edition de boeck,. 126p.

## Références bibliographiques

**REJSEK F.** (2002). Analyse des eaux. Aspects réglementaires et techniques. ISBN 2-86617-420-8.

**RODIER J.** (2009). L'analyse de l'eau: Eaux naturelles, Eaux résiduaires, Eau de mer. 9<sup>ème</sup>. Paris: édition Dunod.

**Rosset D.** (1982). Hygiène de la préparation, règle générale In la restauration sociale et commerciale. Paris, ISTV,. 423p.

**Rosset R., Lebert F., Poumeyrol G., Morelli E.** (1983). Aptitude au nettoyage des matériels utilisés en restauration collective. I.T.S.V,. 235 – 239p.

**Rozier J., Carlier V., Bolnot F.** (1980). Plats cuisinés et l'avance R.T.V.A. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. Paris,. 6 p.

**Rozier J., Carlier V., Bolnot F.** (1985). Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. Paris : Edition SEPAIC,. 230p.

**Service des Affaires Scolaires de la Collectivité Territoriale de Corse et Services Techniques des Directions Départementales des Services Vétérinaires de Corse, Collectivité Territoriale de Corse (SASCTC et STDDSV).** (2009 ). Livret d'hygiène restauration collective, collèges et lycées,. 28p. Disponible sur : <http://nuticiel.ac-corse.fr/resto>. (Consulté le 17/04/2019).

**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'études approfondies, Université cheikh anta diop de DAKAR,. 5-6-7p.

**Seydi M., Syllak S., Musabyemyemarya B.** (2004). Niveau de contamination bactérienne des cuisses de poulets congelés importés au Sénégal. Revue. RASPA, 2(3-4) : 24 1-244.

**Singleton P.** (2005). Cours bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies, 6<sup>ème</sup>. Paris : édition DUNOD,. 13p.

**Skovgaard N.** (1996). Vertical and horizontal contamination of meat with aeromonas, campilobacter, yersinia, listeria, staphilococci and salmonella. In: Microbial Control in the Meat Industry: factors affecting the microbial quality of meat: 2. slaughter and dressing, Perugia, Italy. Langford, Departement of Clinical Veterinary science,. 47-57p.

## Références bibliographiques

**Syndicat national de la restauration collective (SNRC).** (2019). La restauration collective concédée. Une restauration sociale.[ en ligne]. Disponible sur : <http://www.snrc.fr/4-une-restauration-sociale.html>, (Consulté le 02/02/2019) .

**Tayou-Fils MC.** (2007). Etude de l'hygiène dans la restauration collective commerciale moderne à Dakar. Thèse doctorale, Dakar, Sénégal,. 7p.

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

**Varnam LR., Evans MG.** (1996). Food had borne Pathogens, Manson Publishing Ltd, London.

**Wade M.** (1996). Etude de la qualité microbiologique des repas servis au niveau des Restaurants du centre des œuvres universitaires de Dakar (COUD) Th. Med. Vet. , Dakar, n° 39.

**WHO.** (2011). Guidelines for drinking-water quality. Third edition incorporating the first and second addenda, Vol.(01).Recommendations.

## ANNEXE 01

**VRBG (gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre)****Domaine d'utilisation :**

Il est utilisé pour la recherche et le dénombrement des entérobactéries dans les produits laitiers, les viandes, les charcuteries et les autres produits alimentaires.

**Composition :** Pour 1litre de milieu

|                                               |         |
|-----------------------------------------------|---------|
| - Digestat enzymatique de tissus animaux..... | 7,0 g   |
| - Extrait autolytique de levure.....          | 3,0 g   |
| - Glucose .....                               | 10,0 g  |
| - Sels biliaires .....                        | 1,5 g   |
| - Chlorure de sodium.....                     | 5,0 g   |
| - Rouge neutre .....                          | 30,0 mg |
| - Cristal violet.....                         | 2,0 mg  |
| - Agar agar bactériologique .....             | 13,0 g  |

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

**Milieu VRBL (Violet Red Bile Lactose)****Domaine d'utilisation :**

C'est un milieu sélectif utilisé pour la recherche et dénombrement des coliformes dans l'eau, le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires.

**Composition:** Pour 1litre de milieu

|                          |        |
|--------------------------|--------|
| Peptone de viande .....  | 7g     |
| Extrait de levure .....  | 3g     |
| Lactose .....            | 10g    |
| Sels biliaires .....     | 2g     |
| Chlorure de sodium ..... | 5g     |
| Cristal violet .....     | 0.002g |
| Rouge neutre .....       | 0.03g  |
| Agar .....               | 18g    |

pH = 7.3

**Gélose de Chapman au mannitol****Domaine d'utilisation :**

Il permet l'isolement sélectif, la recherche et le dénombrement des staphylocoques pathogènes dans le lait, les produits carnés, les produits de la mer, les autres produits

alimentaires, les produits pharmaceutiques, les produits cosmétiques et les prélèvements biologiques d'origine animale.

### **Composition**

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

pH = 7,4

### **PCA (Plate Count Agar)**

#### **Domaine d'utilisation :**

La gélose glucosée à l'extrait de levure ; il est utilisé en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies psychrotrophes, mésophiles dans le lait, les viandes, les produits à base de viande, les autres produits alimentaires, ainsi que pour l'analyse des produits pharmaceutiques, des produits cosmétiques et de leurs matières premières.

#### **Composition :**

|                                    |        |
|------------------------------------|--------|
| Tryptone .....                     | 5,0 g  |
| Extrait autolytique de levure..... | 2,5 g  |
| Glucose .....                      | 1,0 g  |
| Agar agar bactériologique .....    | 12,0 g |

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

### **Gélose de Slanetz et Bartley**

#### **Domaine d'utilisation :**

La gélose de Slanetz et Bartley est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux d'alimentation, les boissons, les eaux usées et divers produits biologique d'origine animale, par la technique de filtration sur membrane.

#### **Composition :** Pour 1 litre de milieu

|                                      |        |
|--------------------------------------|--------|
| - Tryptose .....                     | 20,0 g |
| - Extrait autolytique de levure..... | 5,0 g  |

- Glucose.....2,0 g
  - Phosphate dipotassique.....4,0 g
  - Azide de sodium .....0,4 g
  - Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium .....0,1 g
  - Agar agar bactériologique.....10,0 g
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2.

### Gélose XLD

#### **Domaine d'utilisation :**

La gélose XLD (Xylose-Lysine-Désoxycholate) est utilisée pour l'isolement des entérobactéries pathogènes et notamment des *Shigella* et des *Salmonella* dans les produits pharmaceutiques et les produits alimentaires.

#### **Composition :** Pour 1 litre de milieu

- Extrait autolytique de levure.....3,0 g
- L-Lysine .....5,0 g
- Lactose .....7,5 g
- Saccharose .....7,5 g
- Xylose .....3,5 g
- Désoxycholate de sodium.....2,5 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Thiosulfate de sodium.....6,8 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....0,8 g
- Rouge de phénol.....80,0 mg
- Agar agar bactériologique.....13,5 g

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

### Gélose Hektoen

#### **Domaine d'utilisation :**

La gélose Hektoen est un milieu sélectif permettant les isolement et différenciation des entérobactéries pathogènes à partir des prélèvements biologiques d'origine animale, des eaux, des produits laitiers et des autres produits alimentaires.

#### **Composition :** Pour 1 litre de milieu

- Peptone pepsique de viande..... 12,0 g

- Extrait autolytique de levure..... 3,0 g
  - Lactose..... 12,0 g
  - Saccharose ..... 12,0 g
  - Salicine..... 2,0 g
  - Sels biliaires ..... 9,0 g
  - Chlorure de sodium..... 5,0 g
  - Thiosulfate de sodium ..... 5,0 g
  - Citrate ferrique ammoniacal ..... 1,5 g
  - Bleu de bromothymol ..... 65 mg
  - Fuchsine acide ..... 40 mg
  - Agar agar bactériologique ..... 13,5 g
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,6 \pm 0,2$ .

### Gélose VF (viande-foie)

#### **Domaine d'utilisation :**

Il est utilisée pour le dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfito-réducteurs dans les matières premières et ingrédients entrant dans la composition des conserves non acides (pH>4,5) ainsi que les prélèvements de surface et dans les eaux de process des conserveries.

#### **Composition :** Pour 1 litre de milieu

- Peptone viande-foie ..... 30,0 g
  - Glucose ..... 2,0 g
  - Extrait de levure ..... 2,0 g
  - Amidon soluble ..... 2,0 g
  - Sulfite de sodium ..... 2,5 g
  - Citrate de fer ammoniacal ..... 0,5 g
  - Agar agar bactériologique ..... 12,0 g
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,6 \pm 0,2$ .

### Gélose lactosée au TTC et au Tergitol 7

#### **Domaine d'utilisation :**

La gélose lactosée au TTC et au Tergitol 7 permet d'effectuer les recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes dans les eaux, notamment celles destinées à la consommation humaine, par la méthode des membranes filtrantes.

#### **Composition :** Pour 1 litre de milieu

- Peptone pancréatique de viande .....10,0 g
- Extrait de viande .....5,0 g
- Extrait autolytique de levure.....6,0 g
- Lactose .....20,0 g
- Tergitol 7 .....0,1 g
- Bleu de bromothymol .....50,0 mg
- Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium .....25,0 mg
- Agar agar bactériologique.....10,0 g

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

### Bouillon Sélénite-Cystine

#### **Domaine d'utilisation :**

Le bouillon sélénite-cystine est utilisé pour l'enrichissement sélectif des salmonelles dans les produits pharmaceutiques, le lait et les produits laitiers, les autres produits alimentaires, ainsi que dans le domaine de l'eau.

#### **Composition :** Pour 1 litre de milieu

- Tryptone.....5,0 g
- Lactose .....4,0 g
- Phosphate disodique .....10,0 g
- Hydrogénosélénite de sodium.....4,0 g
- L-cystine.....10,0 mg

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

### Bouillon Tryptone-sel (TSE)

#### **Domaine d'utilisation :**

Le bouillon Tryptone-sel est un diluant destiné à la préparation des suspensions mères de laits en poudre et concentrés, de produits laitiers et d'autres produits alimentaires en vue de leur analyse microbiologique. Il est également utilisé pour effectuer les dilutions décimales.

#### **Composition :** Pour 1 litre de milieu

- Tryptone.....1,0 g
- Chlorure de sodium.....8,5 g

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

### Bouillon de Giolitti et Cantoni

#### **Domaine d'utilisation :**

Le bouillon de Giolitti et Cantoni avec Tween 80 est un milieu d'enrichissement sélectif utilisé pour la recherche et dénombrement des staphylocoques à coagulase positive dans les produits alimentaires.

#### **Composition :** Pour 1 litre de milieu de base

- Tryptone..... 10,0 g
- Extrait de viande ..... 5,0 g
- Extrait de levure ..... 5,0 g
- Glycine ..... 1,2 g
- Mannitol ..... 20,0 g
- Pyruvate de sodium ..... 3,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g
- Chlorure de lithium..... 5,0 g
- Tween 80 ..... 1,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $6,9 \pm 0,2$ .

### Bouillon au tryptophane

#### **Domaine d'utilisation :**

Le bouillon au tryptophane permet la culture des germes ne présentant pas d'exigences particulières. Ce milieu est surtout employé dans le contrôle des eaux pour l'identification d'*Escherichia coli* par la production d'indole.

#### **Composition :** Pour 1 litre de milieu

- Tryptone.....10,0 g
- L-Tryptophane.....1,0 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,5 \pm 0,2$ .

### Gélose au Cetrimide

#### **Domaine d'utilisation :**

Le gélose au Cetrimide est un milieu sélectif destiné à l'isolement et le dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* dans les produits biologiques d'origine animale, les produits pharmaceutiques et cosmétiques.

#### **Composition :** Pour 1 litre de milieu ( avec glycérol )

- Peptode pancréatique de gélatine.....20,0g
- Cétrimide .....0,3g
- Chlorure de magnésium .....1 ;4g
- Sulfate de potassium .....10 ;0g
- Agar agar bactériologique .....13 ;6g
- Glycérol .....10.0mL

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

## ANNEXE 02

## Annexe II

**Technique de prise d'essai et d'interprétation des résultats d'analyses microbiologiques :****I. Technique de prise d'essai :**

- Pour une denrée alimentaire de même nature, l'échantillon doit être réparti, au moins, en cinq (5) unités issues d'un même lot.
- Le laboratoire doit disposer d'environ 500g de produit, soit 5 fois 100g. Ces 100g peuvent être fournis par une ou plusieurs pièces. Ces prélèvements doivent, respecter les règles d'asepsie et les règles de représentativité.
- Pour les conserves, l'échantillon doit être réparti, au moins, en six (6) unités issues d'un même lot.
- La prise d'essai destinée à la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales porte :
  - Sur les parties superficielles et profondes, notamment pour les produits en tranches, hachés et les plats cuisinés à l'avance ;
  - Sur la partie profonde après cautérisation de la surface du produit, notamment pour les viandes (pièces), les volailles (pièces), les produits carnés (pièces) et les poissons entiers ;
  - Sur le produit homogénéisé ou sur les parties superficielles et profondes, selon la nature du produit liquide ou semi-liquide, notamment les produits laitiers.

• Dans le cas des examens microbiologiques effectués à la suite de toxi-infections alimentaires, il est nécessaire de pratiquer la recherche des germes pathogènes, toxigènes et/ou de leurs toxines, aussi bien en surface qu'en profondeur.

**II. Interprétation des résultats d'analyses microbiologiques :****1. Interprétation selon un plan à trois classes :**

L'interprétation des résultats s'effectue selon un plan à trois classes, dans le cas où la valeur « c » est différente de zéro (0).

Les résultats s'expriment de la façon suivante :

- si le résultat de l'analyse est inférieur ou égal à « m », le résultat du critère microbiologique est satisfaisant ;
- si le résultat de l'analyse n'excède pas « M » et si le nombre d'unités de l'échantillon donnant un résultat supérieur à « m » et compris entre « 1 » et « c », le résultat du critère microbiologique est acceptable ;
- si le résultat de l'analyse excède « M » ou si le nombre d'unités de l'échantillon donnant un résultat compris entre « m » et « M » est supérieur à « c », le résultat du critère microbiologique est non satisfaisant.

**Arrêté du 21 Moharram 1434 correspondant au 5 décembre 2012 rendant obligatoire la méthode de détection et de dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'eau par filtration sur membrane.**

Le ministre du commerce,

Vu la loi n° 05-12 du 28 Joumada Ethania 1426 correspondant au 4 août 2005, modifiée et complétée, relative à l'eau ;

Vu le décret présidentiel n° 12-326 du 17 Chaoual 1433 correspondant au 4 septembre 2012 portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes ;

membrane. Cette méthode peut également être appliquée à d'autres types d'eau présentant une faible flore interférente, par exemple les eaux de piscine et les eaux destinées à la consommation humaine.

**1. DÉFINITION**

Pour les besoins du présent document, la définition suivante s'applique.

**1.1 *Pseudomonas aeruginosa***

Micro-organismes se développant sur des milieux sélectifs contenant du cétrimide et produisant de la pyocyanine ou micro-organismes se développant sur des milieux sélectifs contenant du cétrimide, oxydase positive, donnant lieu à une fluorescence sous rayonnement ultraviolet ( $360 \pm 20$ ) nm et également capables de produire de l'ammoniac à partir

❖ Cas particulier pour l'histamine dans les produits de la pêche et de l'aquaculture provenant d'espèces de poissons associées à une grande quantité d'histidine, sauf dans la sauce de poisson produite par fermentation de produits de la pêche et de l'aquaculture.

Les résultats s'expriment de la façon suivante :

- Le résultat du critère microbiologique est satisfaisant lorsque les exigences suivantes sont remplies :

1. la valeur moyenne observée est inférieure ou égale à « m » ;

2. un maximum de c/n valeurs observées se situent entre « m » et « M » ;

3. aucune valeur observée ne dépasse la limite « M ».

- Le résultat du critère microbiologique est non satisfaisant lorsque la valeur moyenne observée dépasse « m », lorsque plus de c/n valeurs se situent entre « m » et « M » ou lorsqu'une ou plusieurs valeurs observées sont supérieures à « M » ;

## 2. Interprétation selon un plan à deux classes :

L'interprétation des résultats s'effectue selon un plan à deux classes, dans le cas où la valeur « c » est égale à zéro (0).

Les résultats s'expriment de la façon suivante :

- Pour l'expression "absence dans" :

- le résultat du critère microbiologique est satisfaisant lorsqu'il y a absence du micro-organisme dans toutes les unités de l'échantillon ;

- le résultat du critère microbiologique est non satisfaisant, lorsque la présence du micro-organisme est détectée dans, au moins, une unité de l'échantillon. Dans le cas des micro-organismes suivants : *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Campylobacter spp* (thermotolérants), le résultat révèle que le lot contrôlé est impropre à la consommation.

- Pour la valeur limite "m=M" :

Si le résultat de l'analyse est inférieur ou égal à « m », le résultat du critère microbiologique est satisfaisant ;

Si le résultat de l'analyse excède « m », le résultat du critère microbiologique est non satisfaisant. Dans le cas de *Listeria monocytogenes*, le résultat révèle que le lot contrôlé est impropre à la consommation.

## 3. Cas particulier :

L'échantillon est considéré toxique si la limite est supérieure ou égale à  $10^5$  pour les bactéries : Anaérobies sulfite-réducteurs, staphylocoques à coagulase+ et *Bacillus cereus*.

## III. Evaluation de la qualité microbiologique du lot contrôlé :

Les résultats des analyses microbiologiques de l'échantillon révèlent la qualité microbiologique du lot :

- Qualité satisfaisante, si les résultats de tous les critères microbiologiques sont satisfaisants ;

- Qualité non satisfaisante si, au minimum, un résultat sur un des critères microbiologiques est non satisfaisant ;

- Qualité acceptable si, au minimum, un résultat sur un des critères est acceptable, aucun résultat n'étant par ailleurs, non satisfaisant ;

- Le lot est considéré toxique si la limite est supérieure ou égale à  $10^5$  pour les bactéries : Anaérobies sulfite-réducteurs, staphylocoques à coagulase+ et *Bacillus cereus*.

**Arrête :**

Article 1er. — En application des dispositions de l'article 19 du décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, susvisé, le présent arrêté a pour objet de rendre obligatoire la méthode de dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44 °C.

Art. 2. — Pour le dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44 °C, les laboratoires du contrôle de la qualité et de la répression des fraudes et les laboratoires agréés à cet effet, doivent employer la méthode jointe en annexe du présent arrêté.

Cette méthode doit être utilisée par le laboratoire lorsqu'une expertise est ordonnée.

Art. 3. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 21 Safar 1439 correspondant au 11 novembre 2017.

Mohamed BENMERADI.

**3. Principe :**

**3.1** Ensemencement en profondeur du milieu gélosé à la bile, au cristal violet, au rouge neutre et au lactose, coulé dans une boîte de Petri :

— avec une quantité déterminée de l'échantillon pour essai si le produit à examiner est liquide ;

— ou avec une quantité déterminée de la suspension mère dans le cas d'autres produits.

Recouvrement avec une couche du même milieu.

Dans les mêmes conditions, ensemencement d'autres boîtes de Petri avec les dilutions décimales obtenues à partir de l'échantillon pour essai ou de la suspension mère.

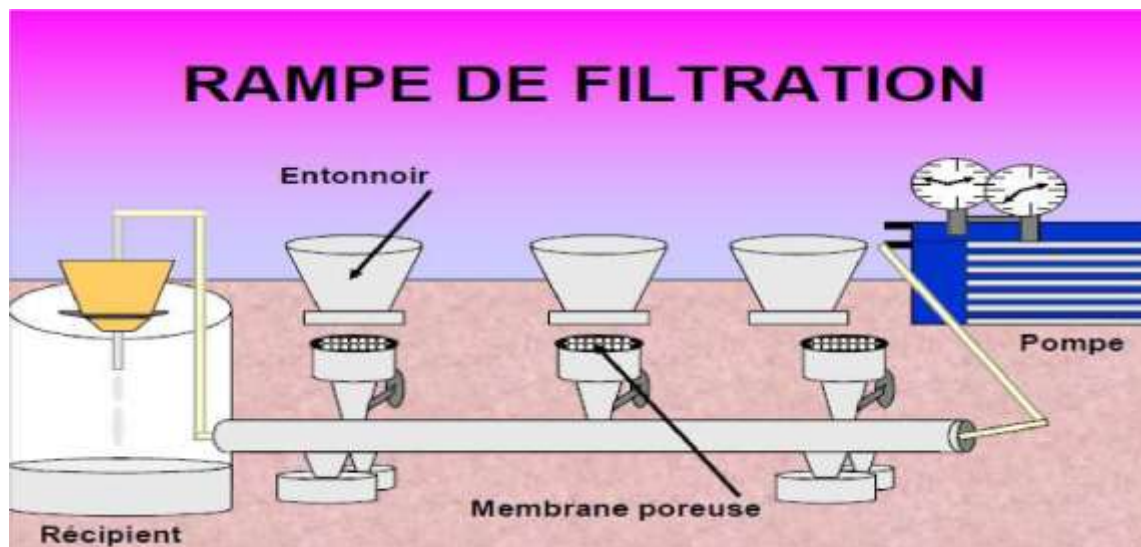
**3.2** Incubation des boîtes de Petri à 44 °C pendant 24 h.

**3.3** Calcul du nombre de coliformes thermotolérants par millilitre ou par gramme d'échantillon pour essai, à partir du nombre de colonies caractéristiques dénombrées par boîte de Petri.

**4. Diluants et milieu de culture :**

Au cours de l'analyse, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déionisée stérilisée.

## ANNEXE 03

**Technique sur membrane filtrante :****Rampe de filtration**

L'eau qu'on veut analyser doit être filtrée sur une membrane en nitrate de cellulose de porosité bien définie (0.45  $\mu$ m) capable de retenir les bactéries.

- ✓ Flamber la face supérieure de l'appareil.
- ✓ Poser les membranes filtrants entre l'entonnoir et la pince : le côté poreux au-dessous.
- ✓ Installer le dispositif d'assemblage.
- ✓ Agiter bien le flacon d'eau à analyser et le verser dans l'entonnoir jusqu'à son remplissage.
- ✓ Ouvrir le robinet du support entièrement afin de laisser l'eau s'écouler sous l'action d'aspiration d'eau.
- ✓ Après l'aspiration de toute la quantité d'eau, fermer les robinets puis enlever les dispositifs d'assemblage et avec une pince flambée prélever les membranes saisies par leur extrémité.
- ✓ Transporter chaque membrane de titration soigneusement sur un milieu de culture solide additionné de Tergitol 7, et Tergitol TTC puis Incubation 37 C° pendant 24 h

## ANNEXE 04

### Teste ONPG

Ce test est pratiqué pour toute bactérie lactose - en 24 h, et peu exigeantes.

#### Technique

On utilise l'ONPG ou Ortho-Nitro-Phényl-Galactopyranoside

Le test se pratique uniquement chez les bactéries lactose - en 24 h sur milieu solide.

A partir : de Kligler ou milieu lactosé BCP ou CLED...

- Réaliser une suspension épaisse des bactéries testées en eau distillée.
- Ajouter avec une pince flambée mais refroidie un disque imprégné d'ONPG.
- Incuber 30 min à 37°C.
- Lire

Cupule de la galerie API 20 E ONPG -thio-galactoside\*

- Ensemencer avec la suspension d'une colonie en eau distillée (en général)
- Lecture identique à la technique classique

#### Caractères recherchés

- une  $\beta$ -galactoside-perméase membranaire

- une  $\beta$ -galactosidase

#### Résultats

Milieu jaune : ONPG +

Milieu sans couleur : ONPG -



Aspect du test positif



Aspect du test négatif

## Test Indole

Se fait sur milieu urée tryptophane, appelé improprement milieu Urée Indole le milieu Urée Tryptophane est un milieu synthétique (milieu dont la composition est connue exactement tant qualitativement que quantitativement). C'est un milieu complexe qui fournit un ensemble de résultats utiles à l'identification de nombreux germes bactériens, notamment parmi les *Enterobacteriaceae*.

### Technique

Faire une suspension en milieu Urée-tryptophane Etuver

### Caractères recherchés

La tryptophanase, après addition du réactif de Kovacs. Le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole, produit de l'activité de la tryptophanase, et forme un composé coloré en rouge.

### Résultats

- Formation d'un anneau rouge : **indole +**
- Absence de coloration rouge : **indole -**



Aspect du  
test positif



Aspect du  
test négatif

## Teste d'oxydase

Test de détection de l'enzyme cytochrome oxydase chez les bactéries Gram négative qui produisent cette enzyme, telles que *Neisseria* ou *Pseudomonas*.

### Composition

Le Disques Oxydase est un disque de papier absorbant imprégné de N'-Tetramethyl-phenylenediamine dihydrochloride.

### Technique

A l'aide de pinces placer un disque d'oxydase sur une lame porte objet.



Teste oxydase

Choisir une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester. Prélever la colonie choisie à l'aide d'un bâtonnet, frotter doucement la colonie sur le disque et observer l'apparition d'une coloration violette dans un délai de 30 secondes

### **Test de la catalase**

#### **Technique**

- Sur une lame propre et sèche déposer une goutte eau oxygénée à 10 volumes,
- A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien
- Observer immédiatement.
- Au contact d'une colonie isolée ou sur la pente d'une culture en gélose, déposer une goutte d'eau oxygénée
- Observer immédiatement.

#### **Résultats**

- Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : catalase +
- Pas de bulles : catalase –



**Aspect du test positif**