

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES-BLIDA

معهد العلوم البيطرية - البلدية



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

Thème

**RECHERCHE D'ESCHERICHIA COLI ET SALMONELLA SPP.
DANS LES DENREES ALIMENTAIRES**

Présenté par :

Koriba Adila et Kiche Mounia

Devant le jury:

Présidente : Tazrart Fataeh	MAA	ISV Blida
Examineur : Besbaci Mohamad	MAA	ISV Blida
Promoteur : Sadi Madjid	MAA	ISV Blida
Co-promoteur : Alamir Hanane	Maitre de Recherche	Institut Pasteur Alger

Année universitaire : 2017/2018

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES-BLIDA

معهد العلوم البيطرية - البلدية



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

Thème

**RECHERCHE D'ESCHERICHIA COLI ET SALMONELLA SPP.
DANS LES DENREES ALIMENTAIRES**

Présenté par :

Koriba Adila et Kiche Mounia

Devant le jury:

Présidente : Tazrart Fataeh	MAA	ISV Blida
Examineur : Besbaci Mohamad	MAA	ISV Blida
Promoteur : Sadi Madjid	MAA	ISV Blida
Co-promoteur : Alamir Hanane	Maitre de Recherche	Institut Pasteur Alger

Année universitaire : 2017/2018

Remerciement

C'est grâce à **Allah** le miséricordieux qui nous a donné réservons nos remerciement, que l'aube du savoir à évacuer l'obscurité de l'ignorance et le soleil de la science à éclairer notre chemin pour obtenir à ce stade.

A notre prophète **MOHAMED** QUE **DIEU** LUI SALUT ET BENIR.

Nos remerciements chaleureux ne doivent exclure plusieurs ne que cette petite famille ne peut en contenir tous notamment Notre encadreur **SADI MADJID** qui à nous suivi et dirigé tout au long de nos recherches et n'as pas manqué de nous aider par des orientations et des renseignements scientifiques.

Notre Co-Promoteur **Dr ALAMIR HANANE** nous en conseillé et veillé notre progression et entraîné notre voie vers la réussite.

Nous remercions également les employés de service des *entérobactéries* Institut Pasteur-Dally Brahim particulièrement Nadjat et

Sidi-Ahmed, Karim.

Nous aussi remercier chaleureusement tous ceux qui nous enseigné durant nous années d'études.

Pour terminer nous souhaitions exprimer nos remerciements ainsi que nous respect à tout le personnel de l'institut vétérinaire Blida.

Je dédie ce Mémoire à...

Mon très cher père Mohamed : *J'espère que tu es Satisfait et Fier de moi. Merci pour l'amour, la tendresse, la patience, les sacrifices, et l'encouragement. Merci d'avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Mille merci pour Tout « papito ». Qu'ALLAH t'apporte une longue vie, afin que nous puissions jouir de ta présence. Ce modeste travail est le tien. Je t'aime très fort.*

Ma mère, mon deuxième souffle : Maman. Tu as comblé ma vie de tendresse, d'affection et de compréhension. Puisse Dieu, te procurer santé, bonheur et longue vie. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consenti pour mon éducation et ma formation.

Mes très chers frères : Merouane, Bilel, abed-Latif : *Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, santé et réussite.*

Ma très chère sœur : « Nadia », et son mari : « Abdelkader » : *Vous m'avez accueilli à bras ouverts dans votre famille. En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, santé et réussite.*

Mes sœurs mes fleurs de vie « Zina » « Imen » « Nawal » « Maria » « Aya » : *chaque merveilleux souvenir, passé ou à venir, font que vous aurez toujours une place de choix dans mon cœur. La vie m'a fait un très beau cadeau en faisant de vous mes chères sœurs.*

Mes adorables : *Faycel, Mira, Nacer-dine, Mounir, Anoussa, Mohamed.*

Tous les membres de ma famille, petits et grands : *Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.*

Mon binôme, ma sœur et ma complice. Merci pour ta patience, ton soutien et ta présence dans ma vie. Tu étais, pour moi, plus qu'une amie et tu le resteras pour toujours...«Mounia».

Toutes mes amies : *Lamia, Isma, Fairouz, Salma, Khaoula*

KORIBA Adila

Je dédie ce Mémoire à ...

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut. Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance. Aussi, c'est tout simplement que je dédie ce projet de fin d'étude...

Ames chers parents : Abdellah et Nouara

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soient –elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance .Vous avez su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie .Vos conseils ont toujours guide mes pas vers la réussite .votre patience sur fin ,votre compréhension et votre encouragement sont pour moi e soutien indispensable que vous avez toujours su m'apporter .je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que j serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous decevoir.QUE dieu, le tout puissant, vous préserve, vous accorde sante ,bonheur, quiétude de l'esprit et vous protège de tout mal . Je vous aime

A mes chers frère et sœur : Imen , Mohmed, Rayan , Abel moumen

Merci d'être toujours a mes cotes, par votre amour dévoue e vote tendress, pourdonner u gout et du sens a ma vie .En témoignage de mon amour et de ma grande affections, je vous prie de trouver dans ce travail l'expression de mon estime et mon sincère attachement .Je prie Dieu le tout puissant, pour qu'il vous donne bonheur et prospérité.

A mes chères grand parents : Ahmed, Ahcen ,Ouzna.

A tous les membres de ma famille, petits et grands : *Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.*

A la mémoire de ma grand-mère yemma Zohra et ma tante Hedjila.*J'aurais tant aimée que vous soyez présentes .Que Dieu ait vos mes dans son vaste paradis.*

A mon binôme, *ma sœur et ma complice. Merci pour ta patience, ton soutien et ta présence dans ma vie. Tu étais, pour moi, plus qu'une amie et tu le resteras pour toujours...«Adila».*

A toutes mes amies : *Lamia, Isma, Fairouz, Salma, Khaoula*

Kiche Mounia.

Résumé

La sécurité sanitaire des aliments constitue actuellement le cheval de bataille de toutes les industries agro-alimentaires. La qualité de celle-ci est primordiale pour la santé des consommateurs.

La présente étude a pour objectif général d'analyser les risques de contamination microbienne des denrées alimentaires par des *E. coli* et *salmonella* spp. Nos échantillons ont été identifiés : par des méthodes microbiologiques par isolement sur milieux spécifiques.

Sur un total de 100 échantillons (prélevés de centres d'Algérie) étudiés, nous avons pu isoler et identifier 40 souches d'*E. coli* et une absence de *Salmonella* spp.

La présente étude nous a permis de recueillir des données locales relatives à la présence de pathogènes et des indicateurs de contamination fécale tels qu'*E. coli*.

Mots clés : La sécurité alimentaire, *E. coli*, *salmonella*.

الملخص

تعتبر سلامة الأغذية حاليا قضية رئيسية بالنسبة لجميع الصناعات الغذائية الزراعية، حيث تعد جودة الأغذية ذات أهمية قصوى بالنسبة لصحة المستهلكين.

الهدف العام من هذه الدراسة هو تحليل مخاطر التلوث الجرثومي للوجبات الغذائية من قبل الإشريكية القولونية و السالمونيلا النيابة.

تم التعرف على عيناتنا من خلال طرق الميكروبيولوجية عن طريق العزلة في خلفيات محددة.

من مجموع 100 عينة (تم أخذها من وسط الجزائر)، تمكنا من عزل وتحديد 40 سلالة من الإشريكية القولونية وغياب السالمونيلا النيابة.

سمحت لنا هذه الدراسة بجمع بيانات محلية عن وجود مسببات الأمراض ومعدلات تلوث البراز مثل الإشريكية القولونية.

الكلمات المفتاحية: الأمن الغذائي ، الإشريكية القولونية، السالمونيلا.

Abstract

Food safety is currently the focus of all agri-food industries .The quality of food safety is essential for the health of the population consumers.

The general objective of this study is to analyse the risks of microbial contamination of foodstuffs by *Ecoli* and *salmonella spp.* our samples were identified by microbiological methods by isolation on specific media.

Out of a total of 100 samples (taken from central Algeria) studied, we were able to isolate and identify 40 strains of E. coli and an absence of Salmonella spp.

This study allowed us to collect local data on the presence of pathogens and indicators of faecal contamination such as E. coli.

Keywords: Food safety, E- coli, salmonella.

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I Hygiène et sécurité des aliments.....	2
I.L'hygiène et la sécurité des aliments :.....	3
I-1.Sécurités alimentaires :	3
I.2.Notion de qualité hygiénique :.....	3
I.3.Différences entre l'hygiène des aliments et l'hygiène alimentaire :	4
II.Difinition des bonnes pratiques d'hygiène :.....	8
II-1.Hygiène des locaux	8
II-2· Hygiène du matériel :.....	9
II-3 · Hygiène du personnel :	9
II-4· Le nettoyage et la désinfection :.....	10
II-5· La maîtrise de la qualité selon le système HACCP :	11
Chapitre II ILES ENTEROBACTERIE	13
I-1. Définition :.....	14
I-2.Taxonomie :.....	14
I-3.Habitat.....	14
I-4. Classification :.....	15
I -5. Caractères cultureux :.....	17
I -6.Caractérisation antigénique des espèces :.....	18
Chapitre III Erreur ! Signet non défini.Escherichia COLI	20
I-Historique :.....	21
II- Définition :.....	21
III-Classification :.....	22
IV-Caractères bactériologiques :	22
IV-1--Caractères morphologiques et cultureux :	22
IV-2- Caractères biochimiques :	22
IV-3-Caractères antigéniques :	23

V- Habitat (Réservoir) :	25
VI-Mode de transmission :.....	25
VII- Commensalité et pathogénicité :.....	26
VII-1- Les pathogènes intestinaux :	28
VII-2-.Les Escherichia coli entérotoxigènes (ETEC) :.....	28
VII-3-.Les Escherichia coli entéroinvasives (EIEC) :	28
VII-4-.Les Escherichia coli à adhésion diffuse (DAEC) :	29
VII-5-.Les Escherichia coli entéro-agrégatives (EaggEC, ou EAEC) :.....	29
VII-6-Les Escherichia coli entéro-pathogènes (EPEC) :.....	29
VII-7-Les Escherichia. Coli enterohémorragiques (EHEC) :	30
VIII-La colite hémorragique :.....	31
VIII-Le syndrome hémolytique et urémique (SHU) :.....	32
X-Purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) :.....	32
XI-Sources et mode de transmission des EHEC :	33
XI-1-Produits d'origine animale :.....	34
XI-2. Produits d'origine non animale :.....	34
XI-3. Contact avec des animaux de ferme et leur environnement :.....	34
XI-4. Transmission inter-humaine :	35
XI-5Réservoir animal :.....	35
XI-6-Les ruminants domestiques :.....	35
XI-7-Les non ruminants :.....	36
XI-9-. Animaux sauvages :	37
XI-10-Présence des souches EHEC dans l'environnement :	38
Tableau 5 : Épidémies à EHEC survenues depuis 2006 et publiées dans la littérature internationale	40
XII-Les « Shiga-toxin producing enteroaggregative E. coli » (STEAEC):.....	40
XIII-Les E. coli pathogènes extraintestinaux (ExPEC) :	41
CHAPITRE IV : Salmonella SPP.	42

I-Historique :	43
II-Taxonomie :	43
III-. Caractères morphologiques :	44
IV-. Les caractères phénotypiques :	45
IV--1.les caractères de la famille du genre Salmonella :	45
VI-2Les caractères différentiels du genre Salmonella :	46
V-antigéniques :	46
V-1.Antigène somatique O (Ag O) :	46
V-2-Antigène flagellaire (Ag H) :	47
V-3. L'antigène de virulence (Ag Vi) :	47
VI--RESERVOIRE :	48
VII- Sources de Contamination et Prévention :	48
VII-.1.Salmonella et les produits alimentaires :	48
VII-2-Les volailles et les œufs :	49
VII-3-Les produits de charcuterie :	49
VII-4-Les produits laitiers :	50
VII-5-Les viandes et produits carnés :	50
VII-6-Le poisson :	50
VII-7-Pouvoir pathogène de Salmonella :	50
MatérielEtMéthodes.....	53
I. Objectif de l'étude :	54
V-2 : Matériel et méthodes :	54
V-1-1 : Type et période de l'étude :	54
V-1-2. Echantillonnage :	54
V-2-3. Outils de l'étude :	55
V-2-4. Méthodes :	55
RESULTATS ET DISCUSSIONS	61
I-1. Critère macroscopique :	62

Pour Ecoli:.....	62
Pour salmonella :	62
I-2.Résultat microscopique (coloration de gram) :	62
I-3. Résultat critère biochimique :.....	63
I-3-1. Recherche de l'utilisation du glucose, lactose, production de gaz et H2S sur le milieu TSI :.....	63
I-3-2. Recherche de l'indole :	64
I-3-3. Recherche de l'oxydase :	65
I-4. Résultats <i>Ecoli</i> dans milieu chromogène :	65
II. Analyse des données :.....	65
II-1. Etude des caractéristiques des échantillons étudiés :.....	65
II-1-2. Pourcentage des échantillons contaminés et non contaminés:.....	66
II-1-3. Pourcentage des plats cuisiniers contaminés:	67
II-1-4.pourcentage de la viande et les abats contaminés :	68
II-1-5. Pourcentage du poisson contaminé:.....	69
II-1-6. Pourcentage de la charcuterie contaminés :.....	69
II-1-7. Pourcentage du beurre contaminé:	70
II-1-8. Pourcentage des bonbons contaminés:	71
II-1-9. Pourcentage des pâtisseries contaminés par Ecoli :.....	71
ConclusionEtRecommandation	73
Conclusion	74
Recommandations.....	75
Référence bibliographique.....	77
ANNEXE	90
Annexe2 : milieu chromogène.....	93
PRÉPARATION :	93
LES USAGES :	94

Liste des tableaux

Tableau 1 : illustre les contaminations d'origine exogène (Carbonel, 2007).....	6
Tableau 2 : Modalité de mise en œuvre de démarche HACCP (JOUVEJ.L).....	12
Tableau3 : les principaux groupes des entérobactéries (Perriere,1992).....	16
Tableau 4 : Les caractères biochimiques d'Escherichia coli (AVRIL JL .2006).....	23
Tableau 5 : Épidémies à EHEC survenues depuis 2006 et publiées dans la.....	40
Tableau 6 : Pourcentages des échantillons en fonction de leur nature.....	67
Tableau 7 : Les dix commandements permettant le respect de l'hygiène alimentaire Préveni.....	77
Tableau8: Les résultats de la différente analyse microbiologique.....	92

Liste des figures

Figure1: Structure et aspect microscopique des <i>Enterobacteriaceae</i> (Denis F, all, 2007).	15
Figure 2: Sites de colonisation des <i>Escherichia coli</i> pathogènes (Mora, A 2011).....	27
Figure 3: Mode de transmission des EHEC à partir du réservoir animal (Crump, J. A et all 2002)	33
Figure 4 : frottis.....	58
Figure 5:technique coloration au violet de Gentiane.....	59
Figure 6 : Mordanzage au Lugol.....	59
Figure7 : Décoloration à l'alcool	59
Figure 8:coloration avec de la Fuchsine.....	60
Figure9 : milieu chromogène	61
Figure10 : <i>E .coli</i> sur Hektoen.....	63
Figure11 : résultat de salmonella sur Hektoen (souche de référence).....	63
Figure12: Escherichia coli (baccille a gram-)	64
Figure 13:Pseudomonas.....	64
Figure 14:Citrobacter.....	64
Figure15 : Proteus(baccille a gram-).....	64
figure16 : TSI avant l'incubation	65
Figure17 : TSI après l'incubation.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure18 : Milieu TSI	65
Figure19 :Aspects des colonies testées sur le milieu (Glu+, Lac+, H2S-,Gaz+)	65
Figure20 : Milieu urée-indole	65
Figure21 :	65
résultats urée-indole.....	65
Figure22 : Disque oxydase	66
Figure 23:Résultat Disque oxydase.....	66
Figure24 : Résultat positive présence d'E.coli	66
Figure 25:Résultat négative absence d'E.coli.....	67
Figure 26: pourcentage des échantillons en fonction de leur nature.....	67
Figure27 : Pourcentage des échantillons contaminés et non contaminés:	68
Figure 28 : Pourcentage de contamination des plats cuisinés	68

Figure29 : pourcentage l'abats contaminés.....	69
Figure 30 : pourcentage de la viande contaminée.....	69
Figure31 : pourcentage du poisson contaminé	70
Figure32 : pourcentage de la charcuterie en fonction de la présence e coli.....	71
Figure33 : pourcentage de beurre contaminés.	71
Figure34 : pourcentage de bonbon contaminés.....	72
Figure 35 : pourcentage des pâtisseries contaminées.....	72

Liste des abréviations:

FAO: Food and agriculture organization of the United Nations.

OMS : organisation mondiale de la santé

TIAC : Les toxi-infections alimentaires collectives.

STEC: *Shiga-toxin-Producing Escherichia coli*

EHEC : *E. coli* entérohémorragiques.

DAEC : *E. coli* à adhérence diffuse.

EIEC : *E. coli* entéroinvasives.

EPEC : *E. coli* entéropathogènes.

EAEC : *E. coli* entéroagrégatives.

ExPEC : *E. coli* à l'origine de maladies extra- intestinales.

ITU : infections du tractus urinaire.

NMEC: Neonatal Meningitis *E.coli*.

APEC : Avian Pathogenic *E. coli*.

AIEC : Adhérent Invasive *E. coli*.

STEAEC: Shiga-toxin-producing enteroaggregative *E. coli*.

ETEC : *Escherichia coli* entérotoxinogènes.

Stx : Shiga-toxines.

Vtx : vérotoxines .

VTEC : *Verotoxin-Producing Escherichia Coli* ou *E. Coli* produisant des vérotoxines.

SHU : Syndrome hémolytique et urémique.

PTT : purpura thrombotique, thrombocytopénique.

PAIs : pathogenicity islands.

LPS : lipo-polysaccharide.

AgVi : L'antigène de virulence.

SFB : Bouillon Sélénite F Broth .

TSI : Milieu Triple Sugar Iron Agar.

GN : Gélose Nutritif.

EPEI : Eau peptonée exempte d'indole.

Introduction

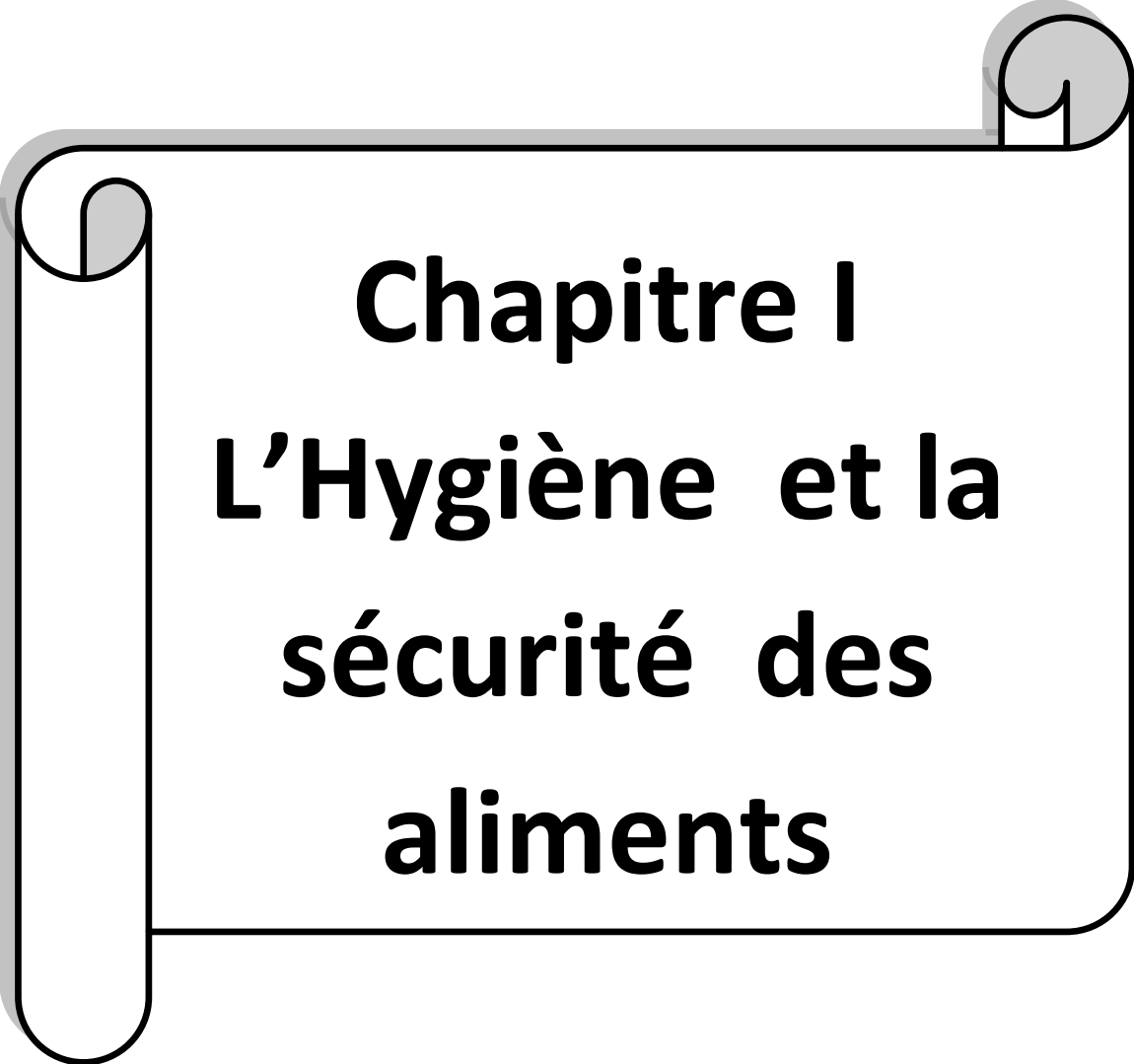
La nourriture est le premier bien de consommation servant à la satisfaction des besoins primaires de tout humain. La qualité de celle-ci est primordiale pour la santé des consommateurs. La sécurité sanitaire des aliments constitue un indice important pour évaluer la qualité de vie.

Les aliments constituent le premier élément de transmission des microorganismes. Les microorganismes présents dans les denrées alimentaires peuvent provoquer des modifications organoleptiques, altérer les qualités marchandes des produits ou constituer un danger pour la santé publique, en raison de leur pouvoir pathogène pour l'Homme. En 2012 Le taux d'incidence des TIAC, est 12,38 cas pour 100.000 habitants (**INSP, 2012**) en Algérie. Le plus souvent, ces intoxications sont dues à des défauts lors de la conservation ou de la préparation des aliments, alors contaminés par divers microorganismes, dont certains peuvent être pathogènes. Ceci constitue un exemple de manque d'hygiène alimentaire.

L'hygiène alimentaire repose sur trois actions : le nettoyage, la désinfection et la conservation. Ces différentes pratiques à adopter lors de la manipulation des aliments permettent de manger en toute sécurité et d'éviter les problèmes de santé, en limitant les risques de contamination des aliments lors des différentes étapes de la chaîne alimentaire (FAO/OMS, 2005).

L'objectif principal dans notre travail est de mettre en exergue l'importance de l'hygiène alimentaire, et évaluer l'intérêt des examens microbiologiques des aliments destinés à la consommation humaine.

Notre travail est réalisé pour répondre aux questions suivantes : nos aliments sont-ils sains ? l'algérien est-il à l'abri de intoxications alimentaires ?



Chapitre I
L'Hygiène et la
sécurité des
aliments

I.L'hygiène et la sécurité des aliments :

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

I-1.Sécurités alimentaires :

Sous le terme sécurité alimentaire est entendue : la garantie que les aliments n'entraînent pas de conséquences néfastes pour la santé du consommateur quand ils sont préparés et ingérés, en tenant compte du but et de la manière de les consommer (**Becila, 2009**). La sécurité alimentaire, dont la qualité microbiologique des aliments est une composante essentielle, représente un enjeu considérable. Sur le plan du commerce international, elle est très souvent invoquée pour renforcer les barrières aux importations. De plus elle a un rôle évident à jouer dans la prévention des maladies d'origine alimentaire et par voie de conséquence, elle participe à la maîtrise des dépenses de santé (**Leveau et al, 2010**). Selon (**Cosson et al, 2003**) à propos de la sécurité des aliments : les citoyens «mangeurs» n'acceptent plus de risques liés à l'alimentation, et le principe de précaution est compris comme la recherche du risque Zéro (difficile à obtenir).

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

I.2.Notion de qualité hygiénique :

La qualité hygiénique est la mesure dans laquelle un aliment ou un service répond aux besoins et attentes qui ont été communiquées, qui vont de soi ou qui ont été imposées par (le consommateur et la loi). Quant aux produits alimentaires, il s'agit en règle générale de la sécurité, de la santé et du bien-être du consommateur (**Becila, 2009**). C'est aussi l'aptitude d'un produit à bien nourrir l'homme. Cette dernière a trois composantes essentielles: la qualité hygiénique, la qualité organoleptique et la qualité nutritionnelle (**Bolnot, 2004**). Les

travaux de **(Corpet 2005)**, qualité hygiénique est aptitude d'un aliment à ne pas rendre malade les consommateurs. Cela comporte les maladies alimentaires liées aux bactéries, aux corps étrangers chimiques et physiques et à la présence de composants de la préparation en dose anormale (excès d'épices par exemple).

I.3. Différences entre l'hygiène des aliments et l'hygiène alimentaire :

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

I.3.1. Hygiène des aliments:

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

I.3.2. Maîtrise de la sécurité des aliments :

La garantie d'une sécurité des aliments irréprochable passe par la maîtrise de la qualité hygiénique des aliments. Les techniques appropriées de sécurité alimentaires et la manipulation des aliments doit être pratiquée afin de protéger le consommateur contre les conséquences graves. Les maladies d'origine alimentaire ont fait des milliers de décès et D'hospitalisations **(Yasuda, 2010)**. Davantage de recherche et l'étude et doivent être menées pour étudier à quel point la négligence généralisée de bonnes pratiques abusives de salubrité des aliments se produisent et quels types de remèdes peuvent être fournis pour rendre le service de traiteur un service de denrées alimentaires plus sûres pour le consommateur **(Ghezzei ; 2011)**.

I.3.2.1. les dangers :

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

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

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

Tableau 1 : illustre les contaminations d'origine exogène (Carbonel, 2007)

Vecteur	Modalités de transmission	Description et solution proposées
L'homme	Vecteur passif ou transporteur (main ; peau)	L'homme est au centre de la contamination. c'est un vecteur passif .les vêtements qu'il porte ; ses mains salies par des sources bactériennes en font un transporteur de germe ; présente à chaque
	Vecteur actif (individu infecté)	étape de la préparation. L'homme est aussi un vecteur actif. L'homme lui-même est l'hôte de nombreux germes. C'est le cas lors de maladies respiratoires (rhume, angine, sinusite à staphylocoque et streptocoque).les maladies respiratoires doivent être craintes parce que la transmission par voie aérienne est facile. C'est aussi le cas de maladies de l'appareil digestif. La méfiance doit être de rigueur pour les personnes en bonne santé : elles peuvent être porteuses de germes dangereux, notamment lorsqu'elles sortent d'un épisode de maladie.
Les animaux	Insectes	Les insectes (les mouches notamment) sont de très bons vecteurs de Shigelles et salmonelles
	Rongeurs	Les rongeurs (rats, souris) sont vecteurs de nombreux germes
	Animaux domestiques	pathogène Animaux domestiques sont vecteurs de nombreux germes pathogènes
Sol et terre	Légumes, chaussures	Le sol et la terre sont d'abord craints pour <i>Clostridium botulinum</i> mais peuvent être la source de contamination par le bacillus, moisissures et levure
L'eau		Pseudomonas et autres germes Gram- se retrouvent souvent dans les eaux potables. L'eau étant utilisée à la fois pour la préparation des produits et pour le nettoyage, on veillera à éviter de conserver de l'eau potable trop longtemps mais plutôt favoriser le renouvellement de la source.

L'aire	Poussières, vaporisation des liquides sales (nettoyage), vaporisation es liquides humaine	Trois facteurs majeurs détermine le microbisme de l'aire ambient : la densité de personnel, le type d'activité et la circulation de l'aire
	etemuements, ù mouchage)	
Vecteurs	Modalités de transmission	Description et solution proposées
Vecteurs animes		
Autre aliments	Contamination croisée	Contamination croisée sont des contaminations entre des aliments differents.ces contamination offrent aux bactéries de nouvelles condition de développement et ce nouveau milieu peut favoriser leur croissance. En particulier, il convient de prévenir tout croisement entre les matières premières vecteurs de microorganismes et les produits finis (cuits), decontamines.une bonne manière de s'en protéger est respecter les principes de marche en avant et de toujours filmer les aliments lors de leur stockage
Déchets		Les déchets et sous-produits doivent être enlèves des possible des zones de travaille et être conserves au frais avants leur enlevement.le principe de la séparation des flux permet d'éviter l'entrecroisement de déchets et des aliments
Surface		Les surfaces sont une donnée a prendre en compte au plus tôt, des la conception des batiments.les surfaces du sol et des murs ainsi que les surfaces de travail et les équipements doivent être pris en compte : la présence de fissures et de rugosités sont autant de nids bactériens.
Linge		Les tissus de par leur structure, constituent un milieu parfait pour les bactéries qui s'y installent .pour éviter ce problème des tabliers jetables sont fomis en cuisine et le linge de travail ne doit pas etre utilise en dehors de la zone travail les torchons et autre tissu multi-usages sont proscrits. On veillera a placer des torchons a base de papier et a usage unique.

Pour la réalisation ces concepts, nous devons suivre de bonnes pratiques d'hygiène

II. Définition des bonnes pratiques d'hygiène :

Les bonnes pratiques de fabrication correspondent à l'ensemble des mesures qui doivent être mises en œuvre au sein d'une industrie agro-alimentaire permettant d'aboutir à un produit fini de bonne qualité hygiénique. En effet selon BOURGEOIS et all, les bonnes pratiques de fabrication consistent essentiellement (**Bourgeois C. M., Leveau J. Y**) :

- * à conférer à l'aliment une protection intrinsèque contre la prolifération microbienne.
- * à réduire le plus possible le niveau de contamination du produit par un choix judicieux de la matière première et une surveillance constante de la fabrication. A cette égard, les bonnes pratiques de fabrication fournissent des recommandations générales applicables à l'ensemble des industries agroalimentaires pour assurer la qualité des produits transformés (**Canet .C**). Ces recommandations s'appliquent à un choix judicieux de la matière première, à l'hygiène des locaux, du matériel et du personnel avec un système de nettoyage *désinfection efficace et une démarche HACCP rigoureuse pour la maîtrise de la qualité.

II-1. Hygiène des locaux

Les locaux doivent être suffisamment spacieux et doivent permettre de distinguer nettement les secteurs souillés des secteurs sains. La conception du plan de masse doit assurer un acheminement continu des produits.

Les déplacements du personnel, le circuit de la matière, l'emplacement des vestiaires et des cabinets d'aisance, les portes d'entrée et de sortie des matières Comme du personnel sont à étudier dans ce sens.

Comme le préconise (**CANET .C**) et (**ROZIER J.1986**), les règles d'hygiène suivantes sont à respecter lors de la conception - construction des locaux:

- ✓ la marche en avant et le non entrecroisement des courants de circulation:
progression rationnelle du produit au cours des opérations successives de transformation

- ✓ la séparation rigoureuse des circuits souillés et des circuits propres. En d'autres termes, c'est une distinction nette entre les zones propres et des zones souillées.
- ✓ la mécanisation maximale des opérations avec des chaînes ou des bandes transporteuses
- ✓ l'utilisation précoce et généralisé du froid avec la climatisation des salles de fabrication, les chambres froides et des dispositifs de congélation~
- ✓ l'aménagement des installations et des équipements conçus pour faciliter le nettoyage.
- ✓ un système d'écoulement des eaux de lavage et d'égouttage avec un sol en pente et recouvert de matériaux imperméables et facile à nettoyer.

II-2· Hygiène du matériel :

Les matériaux et les ustensiles utilisés dans les industries doivent être non absorbants, résistants à la corrosion et capables de supporter les opérations répétées de nettoyage et de désinfection. Le matériel doit être de préférence en acier inoxydable pour éviter les phénomènes d'oxydation et de rouille. De ce fait, l'utilisation du bois ou d'autres matériaux poreux difficiles à nettoyer et à désinfecter est à proscrire. L'entretien physique et hygiénique du matériel consiste à éviter les bosses, les points de rouille, les rayures et les parties usées. Il faut appliquer régulièrement un nettoyage et une désinfection efficace pour éliminer la moindre souillure.

II-3· Hygiène du personnel :

Le personnel doit être indemne de maladies risquant de compromettre la salubrité des aliments. Des certificats médicaux à l'embauche et des visites médicales périodiques (1 à 2 fois par an) devront être instaurés pour s'assurer de la bonne santé du personnel. Le lavage et la désinfection des mains et des bras est obligatoire avant toute reprise de travail, après avoir touché du matériel ou des produits sales et après usage des cabinets d'aisance. Quant à l'hygiène vestimentaire, le personnel de production doit porter une tenue de travail appropriée et propre avec une Coiffe enveloppant complètement la chevelure, des masques

bucco nasaux, une blouse, un tablier, des gants et des bottes. La tenue de travail ne doit pas sortir de l'usine et doit être changée le plus fréquemment possible. Seules la formation, l'information et la sensibilisation continues peuvent donner aux ouvriers une motivation pour le respect des règles d'hygiène. Ce personnel doit être informé des exigences de l'hygiène alimentaire par une sensibilisation permanente (**PETIT M.1986**). Ces formations assurent la sécurité.recherchée sur le plan de la qualité des denrées alimentaires. En effet, en dehors des moyens et des installations adéquates, le personnel doit prendre conscience de ces responsabilités par rapport à la salubrité du produit.

II-4- Le nettoyage et la désinfection :

II-4-1- Importance :

Le sol, les murs, les plafonds, le matériel et les instruments utilisés pour le travail doivent être maintenus en bon état de propreté et d'entretien, de façon à ne pas constituer une source de contamination pour les produits. A cet effet, il est nécessaire de procéder de façon régulière, à un nettoyage, suivi d'une désinfection appropriée, en utilisant des détergents et des désinfectants reconnus pour leur efficacité et leur innocuité.En effet d'après GUERIN (**Guerin m.1986**), on ne fabriquera jamais un produit fini. d'excellente qualité hygiénique, s'il est manipulé, découpé, broyé etc... Avec des accessoires pollués sur des surfaces et dans les locaux sales.

II-4-2- Les étapes de nettoyage et de la désinfection :

Une opération de nettoyage et de désinfection efficace procède en cinq étapes (**Jouve J.L**) :

- ✓ un nettoyage général à sec, à l'aide de balais.
- ✓ un nettoyage avec un détergent approprié qu'on applique soigneusement à toutes les surfaces à nettoyer.
- ✓ un rinçage à l'eau pour évacuer le détergent.
- ✓ une désinfection à l'aide d'un désinfectant approprié qu'on applique à la concentration nécessaire sur les surfaces qui doivent être désinfectées.

✓ un rinçage éventuel pour évacuer le désinfectant. Il est recommandé de ne pas laisser un désinfectant, notamment les désinfectants chlorés, en contact avec Des surfaces métalliques plus de 15 minutes afin d'éviter leur corrosion. Il est important de rappeler qu'une désinfection n'est efficace que sur des surfaces propres. Donc la désinfection doit être toujours précédée d'un nettoyage approprié des surfaces à désinfecter.

II-5. La maîtrise de la qualité selon le système HACCP :

Dans chaque unité de production d'une usine agro-alimentaire, il est nécessaire de connaître avec précision les caractéristiques fondamentales à respecter depuis les matières premières à la réception et en cours de transformation, jusqu'à l'emballage final du produit fini (**CANET C**). Selon ISO 8402 (1994) cité par NDIAYE, la maîtrise de la qualité correspond aux techniques et activités à caractère opérationnel utilisées en vue de répondre aux exigences relatives à la qualité. Ainsi elle implique des techniques opérationnelles et des activités qui ont pour but à la fois de suivre un processus et d'éliminer les causes de défectuosité à toutes les phases de la chaîne de fabrication. La démarche recommandée pour la maîtrise de la qualité est celle du système HACCP (prévention des risques et maîtrise des points critiques). Selon Codex Alimentaires cité par ABABOUCHE (**Ababouch L.D.1995**), la démarche HACCP préconise:

- ✓ l'identification des dangers associés à la production, à la transformation et distribution d'un produit ainsi qu'à l'évaluation de leur sévérité et probabilité de leur manifestation.
- ✓ l'identification des moyens nécessaires pour la maîtrise de ces dangers.
- ✓ l'assurance que les moyens de maîtrise sont mis en œuvre de façon efficace.

La mise en œuvre d'une démarche HACCP est résumée par le tableau suivant:

Tableau 2 : Modalité de mise en œuvre de démarche HACCP (JOUVE J.L)

Mesures de maîtrise des points critiques	Disposition d'assurance de la sécurité	Vérification et documentation	Préalables	Analyse des dangers
<ul style="list-style-type: none"> - équipe HACCP - description du produit - diagramme de fabrication - identification de l'utilisation attendue 	Identification des conditions conduisant à: <ul style="list-style-type: none"> - la contamination - le développement - la non - élimination de chaque danger 	<ul style="list-style-type: none"> - mise en place et amélioration des bonnes pratiques de fabrication - identification des points critiques - identification des options de maîtrise à chaque point critique 	Pour chaque point critique détermination de: <ul style="list-style-type: none"> - limite critique - surveillance - suivi des procédés - actions correctives 	Revue, amélioration, mise à jour. ' . vérification des procédures et des enregistrements - entretien -documentation

Parmi les risques qui menacent la sécurité alimentaire sont *les entérobactéries*.



Chapitre II
LES
ENTEROBACTERIE

CHAPITRE II LES ENTEROBACTERIES :

I-1. Définition :

La famille des entérobactéries comprend d'environ 30 genres de bactéries et de plus de 100 espèces. Ce sont des bacilles à Gram négatif, immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche. Ils sont aéro-anaérobies facultatifs et se développent sur milieu ordinaire. Ils sont dépourvus d'oxydase et ont la faculté de fermenter le glucose, mais aussi de réduire les nitrates en nitrites.

Les différences entre les nombreux genres et espèces viennent de critères plus précis, comme la fermentation des différents sucres, la production ou non de sulfure, la présence ou l'absence d'enzymes du métabolisme (désaminases, décarboxylases) (https://doc.rero.ch/record/4188/files/1_these_MirabaudMI).

I-2. Taxonomie :

Les entérobactéries appartiennent au règne des Bacteria, à l'embranchement des *Protéobacteria*, à la classe des Gamma-protéobacteria à l'ordre des *Enterobacteriale* et à la famille des *Enterobacteriaceae*. Leur classification est basée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques (fermentation de différents sucres, production ou non de sulfures, présence ou absence de certains enzymes du métabolisme et ou génotypiques (ribotypage, hybridation ADN/ADN). Les entérobactéries qui intéressent la bactériologie médicale peuvent être regroupées en 4 tribus *Escherichia*, *Klebsiellae*, *Proteae* et *Yersinia* (Denis, 2007).

I-3. Habitat

Les Entérobactéries sont des hôtes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux où ils sont retrouvés soit à l'état de pathogène, soit à l'état de commensaux. Mais cette localisation digestive n'est pas exclusive (Drame, 2001). On les retrouve également dans l'environnement (sols, eau) où ils participent à la dégradation des matières organiques, à l'altération des plantes suite à des nécroses, à une dégénérescence ou à un ramollissement (Gueye, 2007).

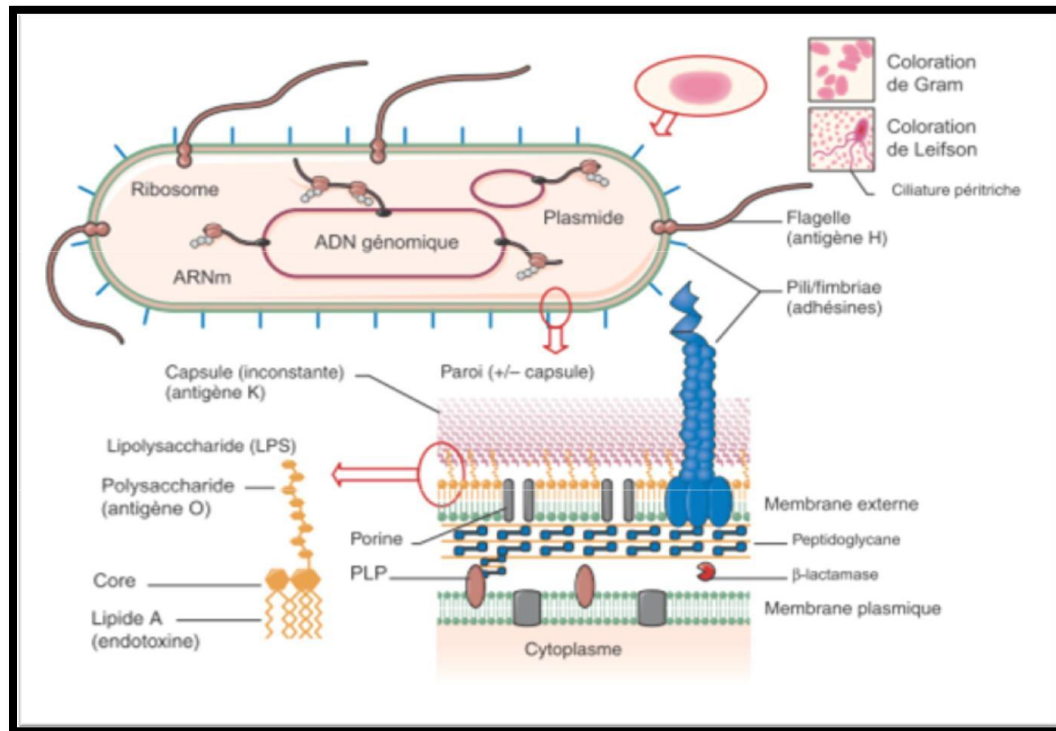


Figure1: Structure et aspect microscopique des *Enterobacteriaceae* (Denis F, all, 2007).

I-4. Classification :

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend actuellement 100 espèces répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*. Cette classification est résumée dans le tableau suivant :

Tableau3:les principaux groupes des entérobactéries (Perriere, 1992).

	Genres	Espèces
	<i>Escherichia</i>	Six espèces: <i>Escherichia coli</i> ...
	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella bongori, S. enterica, S. subterranean</i> ...
	<i>Shigella</i>	Quatre espèces : <i>Shigella dysenteriae, S. flexneri, S. sonnei, S. boydii.</i>
	<i>Citrobacter</i>	Douze espèces : <i>Citrobacter freundii, C. youngae, C. braakii, C. koseri</i> ...
	<i>Klebsiella</i>	Quatre espèces : <i>Klebsiella pneumoniae, K. pneumoniae subsp. ozaenae</i> ...
Entérobactères	<i>Enterobacte</i>	Quatorze espèces : <i>Enterobacter aerogenes, E. cloacae, E. sakazakii</i> ...
Courantes	<i>Hafnia</i>	Espèce unique : <i>Hafnia alvei</i>
	<i>Serratia</i>	Onze espèces : <i>Serratia marcescens subsp. marcescens, S. odorifera, S. rubidaea</i> ...
	<i>Proteus</i>	Six espèces : <i>Proteus vulgaris, P. mirabilis, P. penneri</i> ...

	<i>Morganella</i>	Une espèce : <i>Morganella morganii</i> subsp. <i>Morganii</i>
	<i>Providencia</i>	Cinq espèces : <i>Providencia alcalifaciens</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>P. rettgeri</i> ...
	<i>Yersinia</i>	Onze espèces : <i>Yersinia pestis</i> , <i>Y. enterocolitica</i> subsp. <i>enterocolitica</i> , <i>Y. pseudotuberculosis</i> ...
	<i>Erwinia</i>	Onze espèces

II-5. Caractères cultureux :

Les entérobactériaceae se développent bien dans un bouillon ou sur gélose ordinaire incubé 18 heures à 37°C. Sur gélose, on peut obtenir différentes formes :

*Les formes S (smooth) sont l'aspect habituel au sortir de l'organisme. Les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides elles ont 2 à 4 mm de diamètre.

*Les formes R (rough) s'observent surtout avec les souches ayant subi plusieurs repiquages. Les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers et de teinte mate.

En bouillon, les formes R donnent un aspect grumeleux. Les colonies rugueuses sont habituelles avec les *Klebsiella*. Leur diamètre peut dépasser 10 mm ; elles ont une tendance à la confluence. On peut les rencontrer aussi avec d'autres espèces, notamment *Salmonella paratyphi B*

Les colonies naines s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leur chaîne métabolique. Elles ne sont pas exceptionnelles chez *Escherichia coli* isolé d'infections urinaires (**Avrilet al.2000**).

II-6.Caractérisation antigénique des espèces :

L'identification des *entérobactériaceae* se fait par l'étude des caractères biochimique. La détermination du sérotype ne peut être entreprise que pour des souches dont l'identification est certaine. Toute autre façon de faire ne peut qu'entraîner des erreurs du fait d'agglutinations croisées non spécifiques (**Avrilet *al.*2000**).

Antigènes O :

Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistent à l'alcool ou l'acide.

Les réactions d'agglutination se produisent lentement et sont constituées d'agglutinats granulaires, difficilement dissociables par agitation.

La spécificité O est perdue par les souches R qui sont auto-agglutinables en eau distillée (**Avril *et al.*, 2000**).

Antigènes H :

Ce sont des antigènes flagellaires qui ne sont donc présents que chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine, la flagelline ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool.

Les réactions d'agglutination se produisent et sont constituées d'agglutinats floconneux, facilement dissociables par agitation. (**Avrilet *al.*,2000**).

Les Antigènes K :

Ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharide. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B d'*E. coli* et l'antigène Vi de certain *salmonella* ou *Citrobacter*. Ces antigènes peuvent rendre la souche qui les possède inagglutinable par les antisérums O ils sont détruits par une ébullition de 2 heures

Les antigènes d'adhérence ou adhésines, de nature protéique, en relation avec la présence de pili sont classés parmi les antigènes K (K88, K99) (**Avrilet *al.*,2000**).

L'antigène Kunin :

Cet antigène commun des *Enterobacteriaceae* n'est pratiquement retrouvé que dans cette famille et a un intérêt taxonomique (**Avrilet *al.* 2000**).

Nous avons décidé de prendre uniquement deux genre des entérobactéries:
Escherichia coli* ; *salmonella spp.



Chapitre III

Escherichia COLI

Chapitre III : Escherichia COLI

I-Historique :

En 1885, Theodor Escherich (1857-1911) découvre un bacille qu'il dénomma *Bacterium coli* commun dans les selles de nourrissons. **(LE Minor L et al)**. Médecin allemand, il fit une partie de ses études de médecine à Strasbourg et élabora Sa thèse de doctorat en pédiatrie en 1881 à Munich à propos des bactéries intestinales des nourrissons et de leur rapport avec la physiologie de la digestion.

* En 1904 : isolement de cette même bactérie dans un cas d'infection urinaire.

* En 1919 : donne le nom d'*Escherichia coli* à cette bactérie. **(LE Minor L et al)**.

II- Définition :

Le genre *Escherichia* comprend plusieurs espèces, dont seul *E.coli* (colibacille) est potentiellement pathogène pour l'homme. *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique. **(Avril J.L et al ,2000)**.

Il représente l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie, où il participe à la barrière intestinale en arrêtant la croissance d'espèces bactériennes nuisibles. La colonisation du tube digestif commence dès les premières heures après la naissance et le rythme de division d'*E.coli* lui permet de garder pendant toute la vie de l'individu sa place dominante dans la flore (une division toute les 20 min à 37°C et en conditions favorables). La présence de cette bactérie dans le sol, l'eau et /ou les aliments témoigne d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent. On considère que sa présence rend l'eau ou les aliments impropres à l'utilisation ou à la consommation **(Avril JL et al 1987)**.

III-Classification :

La classification d'*Escherichia coli* selon le Bergey's manual 2012

Règne : *Bacteria*.

Embranchement : *Proteobacteria*.

Classe : *Gamma Proteobacteria*.

Ordre : *Enterobacteriales*.

Famille : *Enterobacteriaceae*.

Genre : *Escherichia*.

Espèce : *Escherichia (E.coli)*.

IV-Caractères bactériologiques :

IV-1--Caractères morphologiques et culturels :

E.coli ou colibacille est une bactérie asporulée mesurant 2 à 4 µm de long sur 0.4 à 0.6 µm de large. C'est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche. Elle se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang, elles peuvent être hémolytiques (Avril J.L et al ,2000).

IV-2- Caractères biochimiques :

E.coli possède une catalase mais elle est dépourvue d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces dernières permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille (Avril JL .2006).

Ces caractères sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Les caractères biochimiques d'*Escherichia coli* (AVRIL JL .2006).

Test	Résultat	Test	Résultat
GLU	+	NIT	-
LAC	+	LDC	+/-
H2S	-	ODC	+/-
GAZ	+	ADH	+/-
CS	-	URE	-
ONPG	+	TDA	-
MAL	-	IND	+
GEL	-	RM	+
VP	-	ESC	-

Légende : + : caractère positive - : caractère négatif +/- : caractère inconstant

IV-3-Caractères antigéniques :

L'antigène somatique O, définissant le sérotype, est contenu dans les lipopolysaccharides présents sur la paroi bactérienne des souches à coloration de gram négative. L'antigène flagellaire H est de nature protéique entrant dans la structure du flagelle permettant la mobilité de la bactérie. L'antigène de surface K est présent de façon inconstante mais bloque l'agglutinabilité de l'antigène O et donc le sérogroupage lorsqu'il est présent. L'identification des antigènes et sérotypes a permis de différencier des souches pathogènes des souches commensales. En effet, certains sérotypes ne sont jamais, ou rarement, associés à des maladies tandis que d'autres le sont très fréquemment (Surveillance E).

IV-3-1- Antigènes somatiques O :

Les antigènes O sont des composés lipo-polysaccharidiques complexes qui contiennent une fraction protéique qui rend l'ensemble antigénique. Plus de 176 antigènes somatiques

différents ont été identifiés, la fraction polyosidique contient un grand nombre d'unités répétées d'oligosaccharides de 10 à 25 sucres dont la combinaison est responsable de la diversité et de la spécificité des antigènes O. Ces antigènes sont agglutinants en présence d'un immun sérum complémentaire et permettent le sérogroupage définissant un sérotype. La synthèse de l'antigène peut être interrompue en culture avec le passage des colonies du type S (smooth, lisse) au type R (rough, rugueux) n'exprimant plus l'antigène O. L'absence de cet antigène empêche donc le sérotypage par les méthodes classiques mais un typage génétique reste cependant possible ; les gènes codant pour les enzymes impliquées dans la synthèse de l'antigène O sont regroupés dans le « cluster de gène *rfb* » (Surveillance, E. 2010). L'amplification puis la restriction par l'endonucléase MbolI permet l'obtention de profils permettant l'identification du sérotype de ces souches R (93). Le sérotype ainsi identifié sera noté par exemple R157 par analogie au sérotype identique O157 obtenu par agglutination. Ce type d'identification permet en outre une caractérisation plus fine des souches que le sérogroupage classique. (Surveillance, E. 2010).

IV-3-2- Antigènes flagellaires H :

Les antigènes H ne servent pas à l'identification des *E. coli* pathogènes mais présentent un grand intérêt du point de vue épidémiologique : l'identité de l'antigène H constitue un élément pour assurer qu'il s'agit d'une même souche. L'antigène H est codé par le gène *fliC*. Les parties N et C terminales de la flagelline sont très conservées et c'est la partie médiane, qui est plus variable, qui donne la spécificité de l'antigène H. Les *E. coli* immobiles possèdent également le gène *fliC* mais sont incapables de synthétiser un flagelle, après restriction et amplification du gène *fliC* il est possible de typer l'antigène H en comparant le profil obtenu à une base de données de profil-type. Par exemple, le profil *fliC* (noté F) aura un numéro F8, correspondant au type H8 obtenu avec le sérum.

IV-3-3- Antigènes de surface ou d'enveloppe K :

Il existe 3 types de l'antigène K désignés par les lettres L, A ou B :

- **L'antigène L :** est le plus fréquent mais thermolabile (il est détruit en une demi-heure, à 100°C). Donc le chauffage provoque une perte de pouvoir antigénique, du pouvoir de fixer les anticorps et du pouvoir de masquer l'antigène O.

- **L'antigène A** : est rare ; c'est un antigène capsulaire (les *E.coli* encapsulés sont relativement fréquents dans les infections urinaires). L'Ag A est très thermostable (il faut un autoclavage pour le détruire).
- **L'antigène B** : est toujours présent chez les *E.coli* enteropathogènes de gastroentérite infantile. Il a une thermolabilité intermédiaire : après une demi-heure à 100°C, il reste toujours de l'antigène B mais l'antigène O peut entrer en contact avec le sérum par « trouage » de l'enveloppe. La fixation de l'anticorps est toujours positive mais le pouvoir antigénique se perd progressivement (en fonction de la durée de chauffage).

V- Habitat (Réservoir) :

Bactérie commensale du tube digestif, *E.coli* est l'espèce la plus importante des anaérobies facultatifs de l'intestin : 10⁸ par gramme de fèces (flore totale: 10¹¹ à 10¹² bactérie par gramme), < 1 % de la flore totale du colon, 99% représentés par les anaérobies strictes. La présence d'*E.coli* dans l'eau est témoin d'une contamination fécale qui la rend impropre à la consommation (recherche des coliformes), pathogène indiscutable pour l'homme et l'animal (**James B. Kaper, 2004**).

VI-Mode de transmission :

Les études d'épidémiologie analytique et les investigations d'épidémies ont permis d'améliorer les connaissances sur les modes de transmission et les sources de contamination des Shiga Toxin *Escherichia coli* (STEC). A l'heure actuelle, les quatre principales voies d'infection à EHEC sont l'ingestion d'aliments, la transmission hydrique (eau de boisson ou de baignade), la transmission interhumaine et le contact avec les animaux de ferme et leur environnement (**Savoie F. (2011)**).

La majorité des infections est le résultat d'une transmission alimentaire. En effet, un grand nombre des infections à *E. coli* O157:H7 a été relié épidémiologiquement à la consommation de denrées animales. La viande de bœuf constitue la source majeure de contamination suite principalement à une cuisson insuffisante. (**Vernozy-Rozand C. 2001**).

Les épidémies d'origine hydrique sont généralement associées à la consommation d'eau de boisson ou à l'ingestion accidentelle d'eau lors de baignades (**Savoie F. (2011)**).

Le portage sain humain de STEC existe mais semble rare et transitoire. La majorité des cas résulte d'une contamination indirecte mise en évidence chez les personnes en contact avec les malades (**Griffin P.M. (1995)**).

VII- Commensalité et pathogénicité :

Les souches *Escherichia coli* sont retrouvées dans le tractus gastrointestinal de nombreux animaux à sang chaud, dont l'homme, où elles jouent communément le rôle de bactérie commensale. Cependant, l'acquisition et la combinaison de facteurs de virulence chez les souches *E. coli* peuvent entraîner des modifications de leur comportement pouvant occasionner diverses infections telles des infections intestinales ou extra-intestinales (**Levine, M. al.1984**).

Les souches de *E. coli* peuvent être regroupées en huit pathovars Les *E. coli* à l'origine de maladies intestinales ont en commun de se multiplier dans l'intestin de leurs hôtes. Elles se retrouvent donc dans les fèces et par la suite dans les effluents animaux (élevages et abattoirs) et les effluents d'origine humaine. Ce premier groupe de pathovars est subdivisé en 6 pathovars majeurs (**Croxen, M. A., and B. B. Finlay. 2010**).

Selon le type de maladie engendrée et les facteurs de virulence associés : les ETEC (*E. coli* Entérotoxigènes), les EHEC (*E. coli* Entérohémorragiques), les EPEC (*E. coli* entéro-pathogènes), les DAEC (*E. coli* à adhérence diffuse), les EAEC (*E. coli* entéro-agrégatives) et les EIEC (*E. coli* entéro-invasives). Le deuxième groupe de *E. coli* à l'origine de maladies extra-intestinales (ExPEC) a acquis la capacité de déjouer les défenses immunitaires de l'hôte, et à se propager dans l'organisme (**Johnson, J. R., and T. A. Russo. 2005**). Elles peuvent induire chez leurs hôtes des infections du tractus urinaire (ITU) : UPEC, « Urinary Pathogenic *E. coli* » ; des méningites néonatales : NMEC, « Neonatal Meningitis *E. coli* » ; ou des septicémies (**Mokady, D.2005,**). Elles posent problème autant en médecine humaine, (notamment à cause des multiples résistances acquises portées le plus souvent par des plasmides), qu'en médecine animale. Cependant, il est important de noter que

différentes classifications coexistent. Diverses revuesfont état de l'existence de groupes distincts ; nous pourrions citer entre-autres le groupe desAPEC (« Avian Pathogenic *E. coli* ») rassemblant les *E. coli* qui engendre des maladies chezla volaille (**Dziva, F., and M. P.Stevens. 2008**). ainsi que les groupe des AIEC (Adherent Invasive *E. coli*) qui estassocié avec la maladie de Crohn(**Darfeuille-Michaud, A**) et des STEAEC (« Shiga-toxin-producingenteroaggregative *E. coli* ») dont la souche *E. coli* O104:H4 responsable de l'épidémie deSHU en 2011 en Allemagne (**Mora,A2011**).

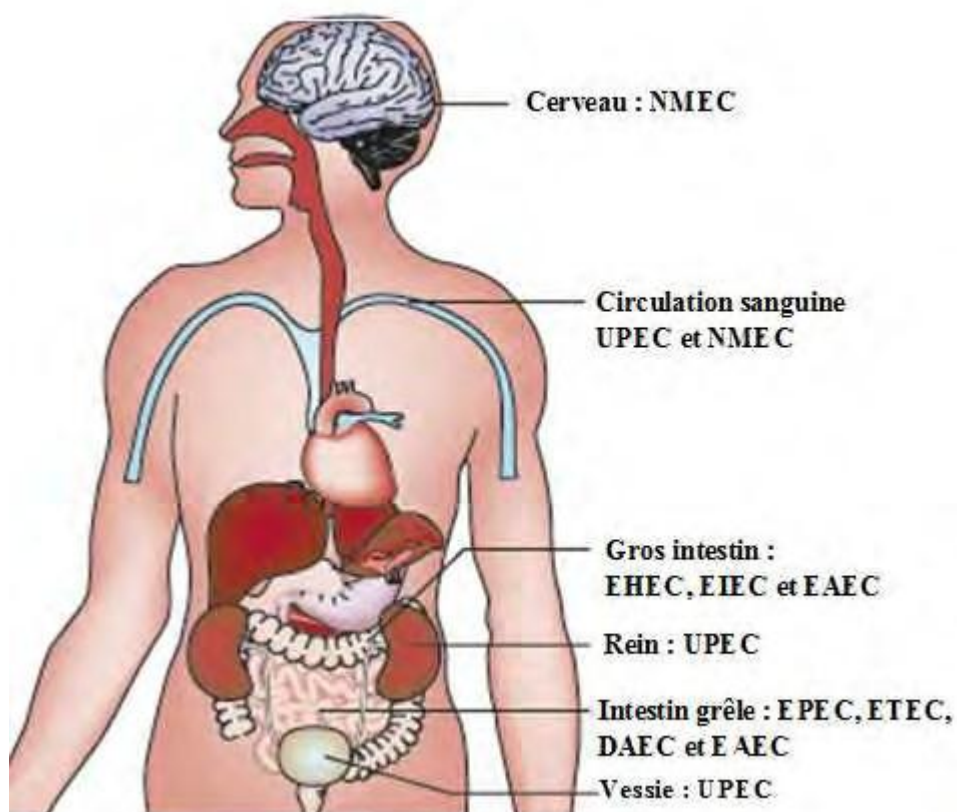


Figure 2: Sites de colonisation des *Escherichia coli* pathogènes (Mora, A 2011).

VII-1- Les pathogènes intestinaux :

Les pathogènes intestinaux de *E.coli* appartiennent pour la plupart aux groupes phylogénétiques A/B1/E (**Clermont, O.2011**) et sont reconnus comme des agents responsables de syndromediarrhéique d'origine alimentaire ou hydrique. Six principaux

pathovars classifiés en fonction des signes cliniques et des facteurs de pathogénicité exprimés sont inclus dans ce groupe.

VII-2.-Les *Escherichia coli* entérotoxigènes (ETEC) :

Les ETEC sont à l'origine d'épisodes de diarrhée aqueuse, modérée à sévère, peu fébriles, associés à des nausées et à des crampes abdominales. Dans les pays dits en voie de développement, les ETEC sont la cause majeure de cas de diarrhée aqueuse aiguë chez les enfants de moins de 5 ans et de « diarrhée du voyageur » ou « turista » (Kaper, J. B 2004), Des souches ETEC sont également importantes dans les fermes, les porcelets en post-sevrage sont fortement susceptibles à l'infection (326). Les ETEC appartiennent aux sérogroupes : O6, O8, O11, O15, O20, O25, O27, O78, O128, O148, O149, O159 et O173 (Stenutz, R.2006,).

VII-3.-Les *Escherichia coli* entéroinvasives (EIEC) :

Les EIEC et les shigelles sont souvent classés dans le même groupe de pathovar avec des caractères biochimiques, antigéniques, génétiques et fonctionnels très proches, et possèdent une stratégie d'infection similaire. Les EIEC sont responsables de syndrome dysentérique caractérisé par une forte fièvre, des crampes abdominales et des nausées, accompagnés d'une diarrhée aqueuse évoluant rapidement vers une dysenterie (diarrhée contenant du sang et du mucus). Cependant, *Shigella* est une bactérie à localisation intracellulaire qui n'a ni flagelles ni des facteurs d'adhésion. Elle est fortement infectieuse et est responsable de la dysenterie bacillaire avec diarrhée (Kaper, J. B .2004). Les souches d'EIEC appartiennent aux sérogroupes : O28ac, O29, O112ac, O124, O136, O143, O144, O152, O159, O164 et O167 (Stenutz, R.2006).

VII-4.-Les *Escherichia coli* à adhésion diffuse (DAEC) :

Les DAEC sont un groupe hétérogène qui produit une adhésion diffuse. Cette adhésion est favorisée par des protéines codées par une famille d'opérons, Les isolats de DAEC qui colonisent l'intestin grêle, engendrent des cas de diarrhée chez les enfants entre 5 et

18 mois d'âge. Par ailleurs, ils peuvent coloniser le tractus urinaire et être à l'origine d'infection urinaire récurrente chez l'adulte (Servin, A. L. 2005).

VII-5- Les *Escherichia coli* entéro-agrégatives (EaggEC, ou EAEC) :

Considérés comme des pathogènes émergents, les EAEC sont la deuxième cause de diarrhées des voyageurs après ETEC dans les pays développés et en voie de développement. Les EAEC sont également reconnues comme une cause de diarrhée endémique et épidémique dans le monde entier. La diarrhée provoquée par les EAEC est souvent aqueuse, mais elle peut être accompagnée de mucus ou de sang (Mora, A 2011).

La colonisation des EAEC peut se produire dans la muqueuse de l'intestin grêle et du gros intestin et évoluer vers une inflammation progressive dans le côlon (Nataro, J. P., and J. B. Kaper. 1998).

VII-6- Les *Escherichia coli* entéro-pathogènes (EPEC) :

Les EPEC sont responsables de cas de diarrhée sévère chez les enfants dans les pays en voie de développement (Croxen, M. A., B. B. Finlay. 2010). Par contre, dans les pays industrialisés, l'incidence des infections dues aux EPEC a fortement diminué. Mais des cas sporadiques sont encore recensés dans les communautés d'enfants. Les sérogroupes des souches EPEC les plus fréquemment associés à la diarrhée chez l'homme sont (Campos, L. C2004) et chez les bovins, le O26 (Mainil, J. G. 2000). En plus de l'homme et des bovins, les souches EPEC sont retrouvées chez d'autres animaux comme le chien, le chat, le lapin, le porcelet, ou bien encore chez la chèvre et le mouton (Krause, G 2005). Les EPEC font parties du groupe des pathogènes entraînant des lésions de type attachement/effacement (A/E) des cellules de l'épithélium intestinal. Dans ce groupe on retrouve aussi les EHEC, les RDEC (rabbit diarrhoeagenic *E. coli*), *Citrobacter redentium* pathogène chez la souris et *Escherichia albertii* identifié récemment et autrefois connu comme *Hafnia alvei* (Croxen, M. A. 2010).

VII-7-Les *Escherichia. Coli* enterohémorragiques (EHEC) :

Les *Escherichia coli* enterohémorragiques (EHEC) sont des bactéries pathogènes et zoonotiques qui se retrouvent dans l'eau et parfois dans les aliments. Elles sont responsables de diarrhée, de colite hémorragique et de syndrome urémique hémolytique chez l'homme mais peu ou pas de maladie perceptible chez les animaux considérés comme des réservoirs.

Le sérotype O157:H7 est le plus fréquent pour les souches EHEC chez l'homme (**Nataro, J. P., and J. B. Kaper. 1998.**) *Escherichia coli* O157:H7, le sérotype le plus souvent incriminé des EHEC a été isolé en 1982 lors d'une épidémie de colites hémorragiques à la suite de consommation de viande pas assez cuite dans des restaurants « fast food » (**Riley, L. W et al 1983**). EHEC O157 a été également isolé dans des cas sporadiques de colite hémorragique (**Riley, L. W et al 1983**). L'identification de la production de Shigatoxines (Stxs) à partir des souches EHEC O157 a mené à la découverte de leur rôle dans le développement du syndrome hémolytique et urémique (SHU) et une triade pathologique se composant d'une anémie microangiopathique hémolytique, d'une thrombocytopénie et d'une insuffisance rénale aiguë (**Johnson, W et al ;1983**). Bien qu'EHEC O157 soit le sérotype le plus connu et isolé chez des humains aux Etats-Unis, plus de 100 autres sérotypes, caractérisés collectivement comme EHEC non O157, sont reconnus par l'Organisation mondiale de la santé en tant que microbes pathogènes zoonotiques émergents. Les EHEC non O157 sont responsables d'épidémies associées à des cas de diarrhée, des colites hémorragiques et aux SHU chez l'homme (**Brooks, J. T et al 2005**).

VII-7-1-Shiga-toxines (Stx) ou vérotoxines (Vtx) des EHEC :

Les shigatoxines (Stx1 et Stx2) sont des toxines particulières codées par les gènes *stx* et sécrétées par certaines souches de *E. coli* : les STEC (« *Shiga-toxin-Producing Escherichia coli* » ou *E. coli* produisant des shiga-toxines), anciennement connues sous le nom de VTEC (*Verotoxin-Producing Escherichia Coli* ou *E. Coli* produisant des vérotoxines). La shigatoxine tient son nom du fait de sa grande similitude avec une toxine produite par *Shigella*

dysenteriae. Elle est également connue sous le nom de vérotoxine, en raison de sa toxicité pour les cellules Vero, des cellules de reins du singe vert d'Afrique utilisées en culture cellulaire.

VII-7-2. Manifestations cliniques des infections à EHEC :

L'infection par une souche EHEC chez l'homme peut revêtir plusieurs aspects allant du portage asymptomatique à l'infection mortelle. La manifestation clinique la plus fréquente est la colite hémorragique, évoluant parfois, en particulier chez l'enfant et le sujet âgé, vers un syndrome hémolytique et urémique (SHU) ou un purpura thrombotique, thrombocytopénique (PTT) ; (Bouvet, J 2003).

VIII-La colite hémorragique :

Au-delà d'une diarrhée banale, Elle constitue la forme la plus fréquente des affections humaines dues aux EHEC (Bouvet, J 2003). Elle survient généralement après une période d'incubation variant de 3 à 7 jours (Tarr, P. I 2005). Les cas de diarrhée hémorragique sont associés à des douleurs abdominales particulièrement sévères qui précèdent le plus souvent de quelques jours la survenue de la diarrhée elle-même dont le caractère hémorragique n'est pas strictement obligatoire. Ces entérocolites hémorragiques nécessitent le plus souvent une hospitalisation en raison de la sévérité des douleurs abdominales et de la grande quantité de sang émise dans les selles. Les formes non hémorragiques de gravité moindre ne sont classiquement pas dépistées. Il n'existe pas de traitement spécifique en dehors de la suppression des apports alimentaires et de la mise en route d'une nutrition parentérale jusqu'à l'évolution positive de l'état de santé du patient. A noter que l'utilisation d'antibiotiques reste à ce jour controversée. Il peut survenir à la suite de cette infection, dans 5 à 10 % des cas, un syndrome hémolytique et urémique ou SHU qui constitue la deuxième grande manifestation due aux EHEC.

VIII-Le syndrome hémolytique et urémique (SHU) :

Bien que longtemps considéré comme idiopathique, le SHU est actuellement reconnu comme « une complication d'entérocolite liée aux EHEC chez l'enfant de moins de cinq ans et chez les individus âgés ». Deux types de SHU ont été décrits. Le SHU dit typique apparaît classiquement après un épisode de diarrhée aiguë prodromique, souvent sanglante. Les symptômes associés au SHU débutent brutalement. Le SHU typique survient surtout en été, quelque fois par épidémies. Le tableau clinique est caractéristique et ne pose généralement pas de problème de diagnostic. Le SHU atypique, quant à lui, survient sans prodrome diarrhéique et sans prédominance saisonnière. Il apparaît après des symptômes respiratoires, de la fièvre ou des vomissements et son diagnostic n'est pas aussi aisé que pour la forme typique (**Amirlak, I., and B. Amirlak. 2006**). Il n'est pas associé à une infection par une souche EHEC. La manifestation clinique consiste en une atteinte rénale avec oligurie ou même anurie accompagnée d'une anémie hémolytique micro angiopathique et d'une thrombopénie. La gravité de l'affection entraîne presque toujours une hospitalisation et une dialyse dans un cas sur deux. Une atteinte d'autres organes (pancréas, foie et système nerveux central) est également possible (Kaper, J. B et al 2004). L'atteinte du système nerveux central est d'ailleurs actuellement la principale cause du décès, comme le montre une enquête Française dans laquelle 4 parmi 286 enfants atteints de SHU entre 1993 et 1996 sont décédés suite à une atteinte du système nerveux central (**Decludt, B et al 2000**).

X-Purpura thrombotique thrombocytopenique (PTT) :

Le PTT est une entité clinique décrite pour la première fois par Moschcowitz en 1925 (**Brain, M. C. 1978**). Cette affection touche essentiellement l'adulte et se caractérise par des symptômes comparables au SHU avec des lésions rénales de moindre importance, une anémie hémolytique micro-angiopathique, une thrombocytopenie, une fièvre, une atteinte neurologique prédominante mais des signes neurologiques beaucoup plus prononcés avec des tremblements généralisés, des myoclonies ou des troubles du comportement. La découverte du lien entre l'infection par une souche EHEC et l'apparition de ce syndrome est relativement récente (**Kovacs, M. J 1990**) et il semble que les EHEC ne soient pas la cause la

plus fréquente des PTT (**Pollock, K. G et all 2008**). La durée du PTT est habituellement de quelques jours à quelques semaines, mais il peut parfois se prolonger pendant des mois. Quand la maladie progresse, elle peut toucher le système nerveux central et les reins, et leur atteinte est, dans la plupart des cas, la cause principale de la mort. Des signes neurologiques sont observés dans 90 % des cas d'évolution fatale.

XI-Sources et mode de transmission des EHEC :

Ces vingt dernières années, les connaissances sur la complexité de l'épidémiologie et de l'écologie des EHEC ont évolué. Les infections à EHEC peuvent être sporadiques, se manifester en nombre réduit ou en une grande épidémie. Les études d'épidémiologie analytique et les investigations d'épidémies ont permis d'améliorer les connaissances sur les modes de transmission et les sources d'infections à EHEC. Ainsi, il paraît évident que *E. coli* O157:H7, et plus généralement les STEC, peuvent se transmettre par voie féco-orale et que la contamination se produit fréquemment par l'ingestion d'aliment ou d'eau souillée, par le contact direct avec les animaux, les humains porteurs, ou des objets contaminés, ou plus rarement par inhalation (**Crump, J.A et all 2002**).

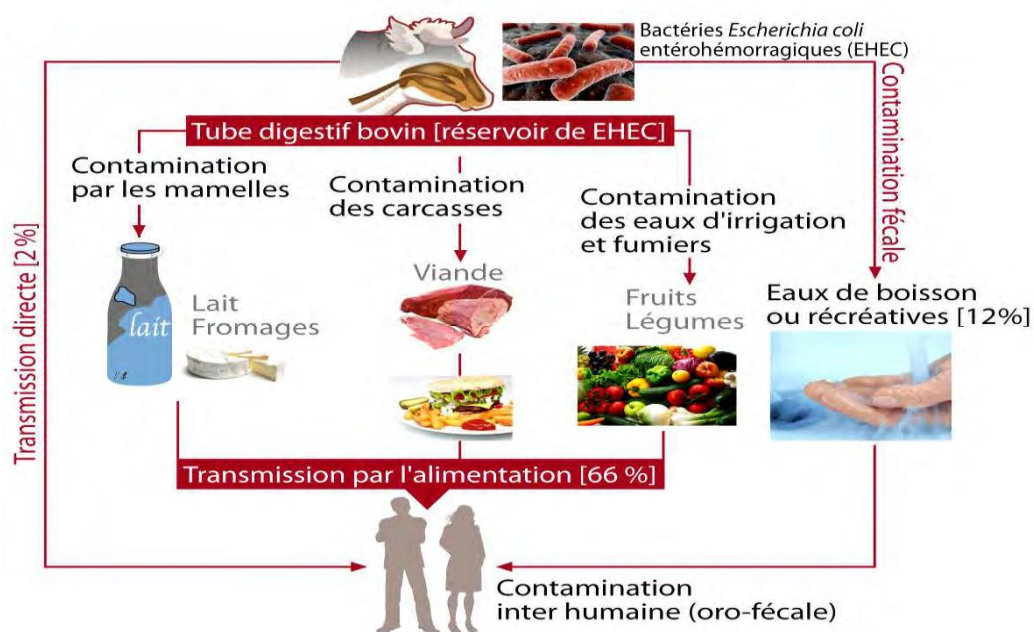


Figure 3 : Mode de transmission des EHEC à partir du réservoir animal (**Crump, J. A et all 2002**)

XI-1-Produits d'origine animale :

De nombreux véhicules alimentaires de STEC on été mis en cause au cours des différentes épidémies rapportées. Les plus fréquents sont d'origine bovine : viande de boeuf hachée ou préparation à base de viande de bœuf, rôti de bœuf. Les carcasses sont contaminées à l'abattoir lors de l'habillage, la manipulation par le personnel. Des règles d'hygiène doivent être appliquées de manière stricte à l'abattoir pour éviter la contamination des carcasses. *E.coli* O157:H7 a aussi été isolée à partir de viande de porc, de mouton, de dinde, de caribou. Certains produits laitiers ont aussi été incriminés dans la transmission de STEC : lait cru, beurre, yaourts, fromages frais ou à base de lait non pasteurisé... Une mauvaise hygiène de traite peut expliquer la contamination du lait.

XI-2. Produits d'origine non animale :

D'autres sources non animales ont été identifiées comme étant à l'origine de cas d'infection à STEC chez l'homme tel que le cidre et les jus de fruits (jus de pomme non pasteurisé), ainsi que les légumes consommés crus ou peu cuits: laitue, jeunes pousses (radis) et graines germées (luzerne, fenugrec, ...). L'application d'engrais et de fumier sur les productions végétales est souvent à l'origine de la contamination. Le respect de règles d'hygiène simples est primordial dans la lutte contre ces infections. D'autres sources non alimentaires peuvent également être incriminées.

XI-3. Contact avec des animaux de ferme et leur environnement :

Le contact direct avec des animaux de ferme ou avec leurs déjections peut être à l'origine de cas isolés, sporadiques ou d'épidémies. En Suède, en 1997, une exploitation laitière a été impliquée dans un cas d'infection à STEC. La même souche a été isolée sur un échantillon fécal de la personne malade et des bovins. La visite occasionnelle de fermes a été associée à de nombreux cas d'infections sporadiques à O157 en Angleterre (**O'Brien, S. J et all 2001**). Le risque est notable chez les personnes qui sont en contact non régulier avec une ferme ou son environnement, que ce soit pour une visite occasionnelle, des vacances, des visites professionnelles.

XI-4. Transmission inter-humaine :

Ce mode de transmission peut intervenir en milieu familial ou en collectivités (crèches, maisons de retraite ou institutions médico-sociales), par contact avec des personnes malades. Les individus infectés sont fortement contagieux et peuvent être considérés comme un risque pour la santé publique (**Ahn, C. K et al 2009**). Lors d'épidémie, environ 20% des cas d'infections à *Escherichiacoli* diagnostiqués sont le résultat de la transmission secondaire ; les taux d'une telle transmission sont particulièrement élevés dans les épidémies qui affectent des enfants avec un âge médian de moins de 6 ans (**Snedeker, K. G et al 2009**). La dose infectante d'EHEC O157 chez l'homme a été estimée de 4 à 24 bactéries, ce qui est similaire à *Shigella sp.* (**Strachan, N. J et al 2001**).

XI-5 Réservoir animal :

Les ruminants ont été identifiés comme le principal réservoir des STEC O157:H7 et non O157. Des souches STEC ont été isolées chez les bovins, les moutons, les chèvres, et occasionnellement chez d'autres animaux domestiques et sauvages, cependant, il semble que la présence des STEC chez ces animaux soit transitoire, acquis par la nourriture ou l'eau souillée par les fèces des ruminants. Dans tous les cas, ces animaux peuvent être des vecteurs de l'infection pour les humains.

XI-6- Les ruminants domestiques :

Le principal réservoir animal est représenté par les ruminants domestiques particulièrement les bovins (**Gyles, C. L. 2007**) et, à un moindre degré, les moutons et probablement les chèvres (**La Ragione, R. M et al 2009**). Les bovins sont la principale source des infections humaines (viande de bœuf hachée, produits laitiers, contamination fécale des végétaux et de l'eau) par les souches STEC O157 ou non O157. Ces souches STEC ne sont pas pathogènes chez les ruminants, exceptés quand les infections se produisent chez de jeunes animaux avant le sevrage pouvant entraîner des cas de diarrhée néonatale (**Blanco, J2003**). Une étude portant sur la prévalence des STEC O157 et non-O157 dans des cheptels bovins a montré que la prévalence de STEC O157 était de 0.3-19.7% dans les parcs d'engraissement et de 0.7-27.3% sur le pâturage, tandis que la prévalence de non-O157 était 4.6-55.9% et

4.7-44.8%, respectivement (**Hussein, H. S. 2007**). Une autre étude évaluant la prévalence des STEC dans les fèces des bovins laitiers a également montré des éventails de taux de prévalence qui sont de 0.2-48.8% pour O157 et de 0.4-74% pour les non-O157 (**Hussein, H.S., and L. M. Bollinger. 2005.**). Les données sur la prévalence des STEC O157 et non-O157 varient considérablement en fonction des cheptels laitiers (0.4-74%) et des bovins à viande (2.1-70.1%) suivant différents pays (**Mora, A 2011**). Environ plus de 435 sérotypes de STEC ont été retrouvés chez les bovins. Sur les 470 sérotypes rapportés chez les humains (**Bettelheim, K. A et all 2003**), la plupart provenait du bétail et plus particulièrement des bovins. En Amérique du Nord, les bovins restent le principal réservoir de STEC. Par contre dans les pays tels que l'Australie, les moutons sont le réservoir principal de STEC. Une étude réalisée en Allemagne montre une corrélation positive entre les infections provoquées par différents sérotypes de STEC et la densité des bovins par secteur. Ainsi, à partir des données issues de plus de 3000 cas d'infections à STEC, les analyses ont montré que le risque pour la survenue de l'infection augmente de 68% par 100 bovins additionnels/km² (**Friesema, 2010**).

XI-7-Les non ruminants :

Un portage de STEC ou de souches O157 a été observé chez les porcs, les chiens, les chats, les chevaux et les oiseaux. Les porcs sont connus comme étant des réservoirs de STEC et peuvent être colonisés par des souches *E. coli* O157. Des porcs inoculés sont capables d'héberger les souches *E. coli* O157 pour une durée allant jusqu'à 2 mois (**Booher, S. L et all 2002**). Cependant, EHEC O157:H7 est rarement trouvé chez ces animaux. Une enquête de deux ans menée dans plusieurs fermes aux États-Unis n'a rapporté aucun isolat (**382 Richards, H. A., et all 2007**). Aucune souche O157:H7 n'a été détectée parmi 106 souches de *E. coli* O157 isolées de porcs sains (**Feder, I., 2006**). En France, 48 souches STEC isolées de porcs étaient non O157:H7, (**Bouvet, J., et all 2002**). En Italie sur 5 souches de *E. coli* O157 isolées chez les porcs 4 étaient *stx* et *eae* négatives (**Bouvet, J., et all 2002**). En Suède, la prévalence d'*E. coli* O157:H7 dans cinq abattoirs porcins était inférieur à 0,01% (2/2446) (**Eriksson, E et all 2003**). Contrairement aux résultats précédents, une étude menée aux États-Unis sur quatre fermes de porcs montre la présence de *E. coli* O157:H7 dans 8,9% des écouillons rectaux (**Doane, C. A et all 2007**), mais l'étude n'a indiqué aucune

morbidité, et les bactéries pourraient être non virulentes. Une forte présence de *E. coli* O157 a été notée dans les fèces de porc en Afrique du Sud (26,3%, 20/76), *E. coli* O157:H7 typique a été trouvé dans 1.5% des échantillons de porc au Canada (**Doyle, M. P., and J. L. Schoeni. 1987**), 1% de carcasses de porcs en Nouvelle Zélande (**Wong, T. L et all 2009**), et dans 1/50 d'échantillons de viande de porcs en Grèce (**Dontorou, C et all 2003**). En Italy, pour une première fois, une épidémie d'EHEC O157 a été identifiée à la suite d'une consommation de viande et du salami de porc en Italie (Conedera, G et all 2007).

XI-9- Animaux sauvages :

La faune sauvage ne constitue pas une source significative d'EHEC O157; en revanche, l'isolement sporadique des bactéries chez ces animaux reflète probablement la transmission environnementale via des réservoirs d'humain et animaux. Les EHEC O157 ont été trouvés dans la faune autre que les cerfs (Low, A. S., et all 2006). une analyse de fèces d'un grand nombre de ruminants et d'oiseaux sauvages (n= 2228) a montré la présence de 5 isolats de *E. coli* O157:H7 dans 0.8% d'échantillons provenant des cerfs et un isolat de *E. coli* O157 : H7 dans 0.3% des fèces d'oiseau poolés (Rice, D. H.,et all2003). En Espagne, des souches EHEC O157:H7 ont été retrouvées dans 1.5% (3/206) des cerfs rouges (elaphus de Cervus)(**Garcia-Sanchez, A et all 2007**). Au Missouri une contamination humaine à O157:H7 via de la saucisse de cerfs fermentée a été identifiée (**Ahn, C. K et all 2009**). Une prévalence de 3.3% (7/212) de souches EHEC O157:H7 a été trouvé chez les sangliers en Espagne (**Sanchez, S et all 2009**).

XI-10-Présence des souches EHEC dans l'environnement :

La matière fécale est la principale source de contamination de l'environnement et l'apport régulier de STEC par le biais des fèces explique la persistance de ces pathogènes dans l'environnement. Les hommes et les animaux peuvent ensuite se recontaminer via le sol, les cultures, les eaux et les sédiments. Ce risque potentiel nécessite de prendre en compte le comportement des STEC dans l'environnement. En effet, étant donné la faible

dose infectieuse, toute survie ou toutecroissance dans l'environnement peut avoir des conséquences majeures en termes de santépublique.

XI-10-1. Dans les fèces :

Le temps de survie des STEC dans les fèces varie en fonction du niveau de contamination initial, de la température de stockage, de l'activité en eau (*Aw*). (**Fukushima et al**) ont étudié la survie de STEC dans des fèces de bovins artificiellement contaminés stockés à différentes températures. Les *E. coli* ont été retrouvés pendant 126 jours dans les échantillons après stockage à +15°C. La survie est plus longue pour des stockages à 5°C et 15°C qu'à 25°C.

XI-10-2. Dans les fumiers et les lisiers :

Les fumiers et les lisiers sont largement valorisés par épandage, ce qui est un bon moyen de recycler l'azote et le phosphore. Cependant, ces matières peuvent contenir des STEC. Ainsi, plusieurs cas d'infection ont été rapportés suite à l'ingestion de légumes fertilisés avec du fumier de bovin ou à des sources d'eau proches de champs fraîchement épandus.

Il semble que le fumier de bovins constitue un milieu favorable à la survie de ces organismes. D'après Bolton (Bolton, D. J et all 2009), les *E. coli* O157:H7 y résistent pendant plus de 20 jours à des pH < 4. Leur survie est de plusieurs mois dans le fumier et sur des prairies contaminées par du fumier. Dans les conditions naturelles, l'élévation de température suite à la dégradation aérobie de la matière organique par les microorganismes joue un rôle important dans l'inactivation des bactéries pathogènes. L'intérêt du compostage est donc évident. Quand une température de 45°C est atteinte, les bactéries ne sont plus isolées dans le compost au bout de 3 à 4 mois (Kudva et al). montrent que les *E. coli* O157:H7 survivent plus d'un an dans du fumier d'ovins. Des actions menées au niveau de l'élevage et des pratiques d'utilisation du fumier en valorisation agricole peuvent permettre de réduire l'exposition des personnes au risque présenté par les *E. coli* O157:H7. De même, l'application de règles d'hygiène strictes dans la production de légumes consommés crus et l'utilisation d'engrais animaux est nécessaire pour réduire la contamination des légumes.

Tableau 5 : Épidémies à EHEC survenues depuis 2006 et publiées dans la littérature internationale

Sérogroupe/sérotype	Pays (année)	Mode de transmission	Nombre de cas	Référence
O104:H4	France (2011)	Alimentaire (graines germées de fenugrec)	15	(153)
O104:H4	Allemagne (2011)	Alimentaire (graines germées de fenugrec)	3816	(138)
O145:H28	Norvège (2009)	Personne à personne (crèche)	16	(462)
O157	Angleterre(2009)	Contact avec des animaux de ferme (fermepédagogique)	36	(6)
O157: H-	Pays-Bas (2008-2009)	Alimentaire (viande de boeuf crue)	20	(6)
O157	États-Unis (2008)	Alimentaire (viande de boeuf)	99	(80)
O111	États-Unis (2008)	Alimentaire (aliment non précisé)	341	(68)
O157:H-	États-Unis (2008)	Alimentaire (lait cru)	14	(166)
O157:H-	États-Unis (2007)	Contact avec des animaux de ferme (fermepédagogique)	7	(6)
O157:H-	Pays-Bas ; Islande (2007)	Alimentaire (salade verte)	50	(6)
O26:H11	Danemark (2007)	Alimentaire (saucisse de viande bovine biologique)	20	(6)
O26 stx2 eae / O145	Belgique (2007)	Alimentaire (glace au lait pasteurisé)	12	(6)
O157	Angleterre (2007)	Alimentaire (sandwich au poulet et herbes)	12	(6)
O157:H7	États-Unis (2006)	Alimentaire (salade verte)	77	(416)
O157:H7	Japon (2006)	Contact avec des animaux de ferme (fermelaitière)	4	(6)
O157:H7	États-Unis (2006)	Alimentaire (épinards)	205	(6)
O103	Japon (2006)	Personne à personne (crèche)	8	(6)
O103:H25	Norvège (2006)	Alimentaire (saucisse de viande ovine)	17	(6)
O26:H11	Japon (2006)	Personne à personne (crèche)	6	(6)

XII-Les « Shiga-toxin producing enteroaggregative *E. coli* » (STEAEC):

Les STEAEC sont des *Escherichia coli* producteur de shigatoxine qui ont des facteurs de virulence caractéristiques des STEC et des EAEC. Ce pathovar appartenant au sérotype O104:H4, au groupe phylogénétique B1 et à la séquence type ST678, a été identifié récemment lors de l'épidémie d'infections à EHEC en 2011 en Allemagne et en France (Mora, A et al 2007). La souche épidémique avait la particularité d'avoir plusieurs facteurs de virulence et d'être résistante à un large éventail d'antibiotiques. De très rares rapports font état du sérotype O104:H4 chez les humains. Ce sérotype n'a jamais été détecté chez des animaux ou dans des aliments. Plusieurs groupes de recherche ont obtenu la séquence complète du génome à partir des isolats de la souche épidémique allemande ainsi que les séquences du génome du sérotype O104:H4 souches EAEC d'Afrique. Ces résultats suggèrent que le transfert génétique horizontal a permis l'émergence de la souche STEAEC O104:H4.

XIII-Les *E. coli* pathogènes extraintestinaux (ExPEC) :

Les souches ExPEC se caractérisent par leur pouvoir de coloniser d'autres systèmes en dehors du système gastro-intestinal (**Russo, T. A., and J. R. Johnson. 2000**) et elles représentent un risque sanitaire plus élevé que celui des *E. coli* pathogènes intestinales. Ce groupe comprend les *E. coli* uropathogènes (UPEC) responsables d'infections urinaires (cystites, pyélonéphrites), les *E. coli* associées à des méningites et des septicémies (neonatal meningitis *E. coli* ou NMEC) ainsi que le pathovar aviaire « *Avian Pathogenic E. coli* » (APEC). Les UPEC sont les bactéries les plus impliquées dans les infections du tractus urinaire (ITU) (70% des cas). Les infections urinaires sont très fréquentes, environ 150 millions de cas par an dans le monde (**Stamm, W. E., and S. R. Norrby. 2001**), dont près de 2 millions en France, représentant ainsi une préoccupation de Santé Publique (**Tostain J., A. C., et al 1999**).

A côté des UPEC, les NMEC sont la première cause de méningites (**Wang, Y et al 2004**). Le processus infectieux se fait en plusieurs étapes, de la colonisation et l'invasion des muqueuses jusqu'à la traversée de la barrière hémato-méningée. Les NMEC sont protégées du système immunitaire de l'hôte par une capsule de type K1. L'invasion des macrophages conduit à une niche de réplication pour les bactéries qui pourront par la suite traverser la

barrière hémato-méningée afin d'atteindre le système nerveux central. Ainsi, le pouvoir pathogène des ExPEC est caractérisé par de nombreux facteurs de virulence principalement codés par des gènes se trouvant dans des « pathogenicity islands » (PAIs). Ces facteurs de virulence codent des systèmes de captation du fer, des adhésines, les antigènes de capsules et des toxines.



CHAPITRE IV : **Salmonella SPP.**

CHAPITRE IV : *Salmonella SPP.*

I-Historique :

Les salmonelles sont des entérobactéries du genre *Salmonella*, nommées ainsi en l'honneur du médecin vétérinaire américain Daniel Elmer Salmon même si l'homme qui a découvert le genre était Theobald Smith, qui travailla sous la direction de Salmon au Bureau of Animal Industry (BAI) dès 1884. **(Brown JH)**.

Eberth (et al. 1880) découvre l'agent responsable de la fièvre typhoïde dont la culture de la bactérie a été possible en 1884 par Gaffky, le bactériologiste Daniel eut isolé une bactérie provenant du porc (maintenant connu comme *Salmonella Choleroesuis*) qui était considérée comme étant la cause de la fièvre porcine (choléra du porc).

En 1896 Widal a mis en évidence la diversité antigénique des souches de salmonelles (Grimont et al, 2000). Depuis les premières observations rapportées par Eberth jusqu'à nos jours, le genre *Salmonella* n'a pas cessé de présenter une importance considérable dans les domaines vétérinaires et sur le plan médical, tant par les pertes économiques dues à la maladie animale, que par la forte incidence chez l'homme des fièvres typhoïdes et des toxi-infections alimentaires collectives à salmonelles **(Bornert, 2000)**

II-Taxonomie :

Selon le **Bergey's Manuel (2001)**: le Genre *salmonella* fait partie de la Famille des *Enterobacteriaceae*, de l'ordre des Enterobacterales, Classe des Gammaproteobacteria et du Phylum des Proteobacteria **(Scariaj et all, 2008)**. Comme indique la dernière nomenclature, qui reflète les avancées récentes en taxonomie **(Popoff M.Y. et al, 2001)**.

Le genre *Salmonella* comprend seulement 2 espèces : *S. enterica* et *S. bongori*, et 2500 sérovars **(Le minor L. & Popoff M.Y. (1987), Popoff M.Y., Bockemuhl J. & Mcwhorter Murlin A. (1994))**. *Salmonella enterica* est divisée en 6 sous-espèces, qui se distinguent par certains caractères biochimiques et certaines d'entre eux correspondent aux anciens sous-genres. Ces sous-espèces sont :

La sous-espèce *enterica* est celle la plus fréquemment isolée (99,4%) (**Brisabois et al ,2002**) Nomenclature ancienne Nomenclature actuelle

Sous-espèces I = Sous-espèces *salamae*.

Sous-espèces II Sous-espèces *arizonae*.

Sous-espèces IIIb= Sous-espèces *diarizonae*.

Sous-espèces III Sous-espèces *houtenae*.

Sous-espèces IV Sous-espèces *indica*.

Sous-espèces V= Sous-espèces *enterica*.

Actuellement les salmonelles sont définies comme un groupe d'hybridation ADN/ADN, dont les membres ont des hybridant à 70%. Cette technique d'hybridation montre qu'il n'y avait que deux espèces génomiques ; *S. enterica* qui représente 99% des espèces

III-. Caractères morphologiques :

Salmonella est une bactérie en forme de bâtonnet, Gram négatif, anaérobie facultative, non sporulé, avec un diamètre de 0,7 µm à 1,5 µm, une longueur de 2 à 5 µm, et des flagelles péritriches. L'obtention de leur énergie se fait par les réactions d'oxydation et les réactions de réduction, à partir de sources organiques.

Les *salmonella* ont une paroi épaisse de 8 à 12 nm. En microscopie optique, elles apparaissent comme des bâtonnets à Gram négatif de 0,3 à 1 nm de largeur et longs de 1 à 6 µm.

Le constituant le plus essentiel dans une membrane des bactéries à Gram-, est un lipide complexe ; lipopolysaccharide (LPS). Ces lipopolysaccharides sont des complexes macromoléculaires toxiques présents de manière constitutive dans la membrane externe (**Avril et al, 1992**).

Les *salmonella* sont des bactéries mobiles grâce à de fins filaments protéiques capilliformes ; les flagelles. Ils présentent trois parties: (i) un Filament hélicoïdal rigide de 10nm de longueur.(ii)Le crochet, très courts (60|j,m). (iii)Le corpuscule basai, il correspond à la zoned'insertion du flagelle dans le corps cellulaire. Cette structure est doué d'un pouvoir

pathogène par l'intermédiaire de l'antigène flagellaire H, celui-ci est constitué de sous-unités protéiques : flagellines (Avril et al, 1992).

Les *salmonella* sont des bactéries mésophiles, ayant une température optimale de croissance de 35/37°C, cependant les Salmonelles peuvent se multiplier de 5°C à 45/47°C avec une croissance nettement retardée par les températures inférieures à 10°C. (Robinson et al; 2000).

Elles supportent une gamme de pH allant de 4,5 à 9,0 avec un optimum de 6,5 à 7,5.

Les *Salmonelles* résistent parfaitement à la dessiccation et se développent bien dans des valeurs d'*A_w* de 0,945 à 0,999, elles peuvent trouver dans des produits déshydratés (*A_w* = 0,20). Ces bactéries sont assez sensibles à NaCl, mais néanmoins leur présence a été reconnue dans des saumures à 3,2 %. La concentration maximale tolérée serait de 5,8 % (Wray et al. 2000).

IV-. Les caractères phénotypiques :

Les *Salmonella* possèdent les caractères généraux de la famille des Enterobacteriaceae et des caractères différentiels intrinsèques :

IV--1.les caractères de la famille du genre *Salmonella* :

Huit principaux caractères déterminent la famille d'Enterobacteriaceae : ces sont des bacilles à coloration de Gram négatif. Souvent mobiles grâce à leur ciliature péritriche (rarement immobiles), non sporulés. Ils cultivent sur les milieux ordinaires, ont un caractère aéroanaérobies facultatifs, ils sont capables de fermenter le glucose avec ou sans production de gaz, réduisent les nitrates en nitrites. Ces germes ne possèdent pas de cytochrome oxydase (Hanes, 2003; ICMSF., 1996).

Ils possèdent une catalase. Certaines souches n'obéissent pas à tous ces caractères, c'est le cas de : *Erwinia* qui ne réduit pas les nitrates, de *Shigella dysenteriae* sérotype 1 (SD1) qui ne possède pas de catalase, de *Salmonella gal inarum -pullorum* qui est immobile.

VI-2 Les caractères différentiels du genre *Salmonella* :

Les principaux caractères biochimiques permettant l'identification du genre *Salmonella* (Humbert *et al*, 1998) sont : L'absence d'une uréase active, de tryptophane ou de phénylalanine désaminase. L'absence de production d'indole et d'acétoïne (test de Voges-Proskauer négatif).

La production d'hydrogène sulfureux à partir du thiosulfate (présence d'une thiosulfate réductase). La décarboxylation fréquente de la lysine et de l'ornithine. La pousse fréquente sur le milieu au citrate de Simmons. L'absence de fermentation du lactose, (Grimont *et al*, 2000).

V-antigéniques :

Chez Les *Salmonella* on distingue trois types d'antigènes présentant un intérêt diagnostic (Dumas, (1958) :

V-1. Antigène somatique O (Ag O) :

L'antigène O est un antigène de la paroi. Les antigènes O sont portés par les chaînes spécifiques du lipopolysaccharide (LPS). L'antigène O possède des propriétés immunisantes, c'est un complexe contenant une protéine, un polysaccharide et un composé phospholipidique.

On distingue 67 facteurs O selon la nature des sucres entrant dans la constitution des unités oligo-saccharidiques du polysaccharide (Humbert *et al*, 1998). Les antigènes O sont formés d'une fraction lipidique appelée lipide A qui est responsable des effets toxiques, du corps ou partie basale et du polysaccharide support de la spécificité (Gledel and Corbion, 1991).

Les antigènes sont classés en facteurs O majeurs et en facteurs O accessoires. Les facteurs majeurs sont liés à la présence de certains sucres (abéquose pour O : 4, tyvélose pour O : 9) (**Humbert et al, 1998**).

L'antigène somatique est stable ; il résiste à l'alcool et au phénol pendant deux heures et demi à la température de 100°C (**Dumas, 1958**).

V-2-Antigène flagellaire (Ag H) :

C'est un polymère de flagelline (protéine de structure des flagelles). Cet antigène est thermolabile, détruit par la chaleur à 100°C, par l'action de l'alcool et par les ferments protéolytiques. Il résiste au formol et perd son agglutinabilité par les anticorps en présence d'alcool et d'acide phénique. Son développement optimum s'obtient sur les milieux liquides après un séjour de 8 heures à 37°C (**Dumas, 1958**). La grande majorité des sérovars possèdent deux systèmes génétiques et peut exprimer alternativement deux spécificités différentes pour leur antigène flagellaire. On dit que les antigènes flagellaires de *Salmonella* sont diphasiques (**Humbert et al. 1998**).

V-3. L'antigène de virulence (Ag Vi) :

C'est un antigène de l'enveloppe, il a été identifié chez trois types de sérovars : *Typhi, Paratyphi C et Dublin* mais toutes les souches de ces sérovars ne possèdent pas forcément cet antigène (**Humbert et al., 1998**). Cet antigène est considéré comme un antigène de surface (**Dumas, 1958**), il est distinct de l'antigène somatique et de l'antigène flagellaire. L'antigène Vi rend les germes inagglutinables par les anticorps O quand il est abondant. Il ne se développe pas si les cultures sont effectuées au dessous de 25°C et au dessus de 40°C. Un chauffage à 100°C pendant dix minutes le détruit et les germes deviennent agglutinables par les anticorps O. Il est de nature glucido-lipidopolypeptidique.

VI-RESERVOIRE :

Salmonella, présente dans le tube digestif des animaux et de l'Homme et pouvant être alors à l'origine de toxiinfections alimentaires très graves, est détruite par la cuisson. Cependant, les nombreuses espèces de *Salmonella* diffèrent entre elles, quant à leur pouvoir pathogène. Bien que la plupart des espèces puissent se retrouver dans les aliments, il est essentiel de prendre en considération celles qui sont à l'origine de toxiinfections plutôt celles qui sont à l'origine des maladies infectieuses graves (fièvres typhoïdes et paratyphoïdes).

VII- Sources de Contamination et Prévention :

Les sources de contamination par *Salmonella* sont le manque d'hygiène lors des manipulations, une contamination initiale de la matière première (surtout volailles, oeufs) et des contaminations croisées possibles par l'intermédiaire des manipulations et/ou des surfaces de travail. La prévention contre de telles sources de contamination serait de veiller au nettoyage des mains, du matériel et des surfaces de travail et de veiller à la qualité des matières premières (**site web**).

Par ailleurs, il est important de bien cuire les aliments, en particulier les viandes et les oeufs. Il faut aussi bien faire réchauffer les préparations déjà cuites, bien congeler et bien décongeler. Il faut toujours séparer les aliments non cuits des aliments cuits ou prêts à être consommés. Il faut toujours éviter les contaminations croisées, en veillant à laver correctement l'endroit où des préparations ultérieures seront effectuées. Sinon d'autres aliments risquent d'être contaminés quand ils seront déposés à cet endroit (**site web**).

VII-.1. *Salmonella* et les produits alimentaires :

Les données chiffrées ci-dessous sont issues du BEH 29/1996 " Inventaire des *Salmonella* d'origine non humaine en 1992-1993 ".

VII-2-Les volailles et les œufs :

Les principales sources sont les produits bruts tels que les œufs et la volaille (lors de l'éviscération) et ses produits (ovoproduits, crème pâtissière, mayonnaise, crème glacée). Dans le cas des œufs durs, il n'y a pas de problème car le traitement thermique suffit à détruire toutes les bactéries, par contre la cuisson des œufs au plat et des omelettes est insuffisante. Les milieux internes de l'œuf de poule sont exceptionnellement contaminés, par contre la contamination des coquilles n'est pas exceptionnelle, celle-ci peut être transférée aux blancs et jaunes d'œuf par le cassage, 550 souches ont été isolées d'œufs et ovo-produits dont 58 % appartenaient au sérovar *Enteritidis* et 24 % au sérovar *Typhimurium*. Le poulet, la dinde et les autres viandes de volailles constituent des sources importantes de protéine et d'autres nutriments pour la prolifération de salmonelle. Parmi les serotypes les plus fréquemment incriminés lors des toxi-infections à *Salmonella Enteritidis*, *Hadar* et *Virchow* sont considérés comme assez typiques de la filière aviaire. Quoique moins spécifique des volailles, le serotype *Typhimurium* est aussi très fréquemment rencontré dans les élevages de poulets, de dindes et de canards (Rajashekra et al, 2000). Le fort taux d'infection salmonellique des oiseaux d'élevage est la cause de la fréquente contamination des produits avicoles par les salmonelles (Bornert, 2000). Le nombre de souches isolées dans les viandes et abats de volaille continue de progresser (3 115 souches) dont les principaux sérovars sont *Virchow* (18,7 %), *Typhimurium* (15,8 %), *Newport* (11,4 %), *Enteritidis* (9,2 %), Saint Paul (8,7 %), Indiana (6,9 %).

VII-3-Les produits de charcuterie :

Les produits de charcuterie (saucisses, salaison, pâtés) véhiculent toujours un grand nombre de sérovars dont *Typhimurium* et *Derby* représentent respectivement 31,3 % et 15,3 % des souches isolées.

VII-4-Les produits laitiers :

Les produits laitiers non pasteurisés comme le lait cru et les fromages au lait cru, les

desserts fourrés à la crème et les garnitures à la crème. Le nombre de souches recensées dans les produits laitiers est de 169.

VII-5-Les viandes et produits carnés :

Les aliments peuvent être contaminés par *Salmonella* au cours de l'abattage d'un animal et de la transformation de sa viande (viande hachée), ou par une contamination croisée au cours de transformation. Le nombre de souches isolées des viandes de bœuf décroît modérément (901 souches) avec en tête le sérovar *Typhimurium* (21,2 %) : on note la progression du sérovar *Panama* (50 souches isolées). 1364 souches ont été isolées des viandes de porc dont les principaux sérovars sont *Typhimurium* (35,5 %), Derby (22,8 %) et *Bredenev* (7,4 %).

VII-6-Le poisson :

Salmonella agona était présente dans des farines de poisson en provenance du Pérou et à l'origine de toxi-infections alimentaires en Grande-Bretagne et aux USA.

VII-7-Pouvoir pathogène de *Salmonella* :

La salmonellose est une maladie infectieuse causée par un groupe de bactéries appelé *Salmonella*, Les personnes qui consomment des aliments contaminés par la *Salmonella* sont susceptibles de contracter la salmonellose. On a trois types de symptômes de la salmonellose :

VII-7-1-Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes :

Sont provoquées par quatre sérovars de *Salmonella*, strictement humains, antigéniquement distincts mais de pouvoir pathogène similaire : *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi A*, *Salmonella Paratyphi B* et *Salmonella Paratyphi C*. Les *Salmonella* sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé. La dose infectante serait de l'ordre de 10⁵ bactéries.

Les symptômes apparaissent après une période d'incubation entre 10 à 15 jours, selon l'état physiologique de l'hôte, la durée des symptômes est de 1 à 7 jours, les signes cliniques observés sont ; une fièvre continue accompagnée de maux de tête, d'anorexie, d'abattement et de douleurs abdominales avec diarrhée ou constipation (D'Aoust, 1989). Les *Salmonella* responsables des fièvres typhoïdes ayant l'homme pour seul réservoir, la contamination se fait par ingestion d'eau ou d'aliments ayant subi une contamination fécale d'origine humaine. Comme toutes les maladies à transmission oro-fécale, ces fièvres surviennent le plus souvent dans des zones où l'hygiène est précaire, et frappent principalement les pays en développement en Asie, en Afrique ou en Amérique Latine. Les données mondiales les plus récentes font état de 17 millions de cas annuels de fièvre typhoïde, et de 600 000 morts (Hu and Kopecko, 2003).

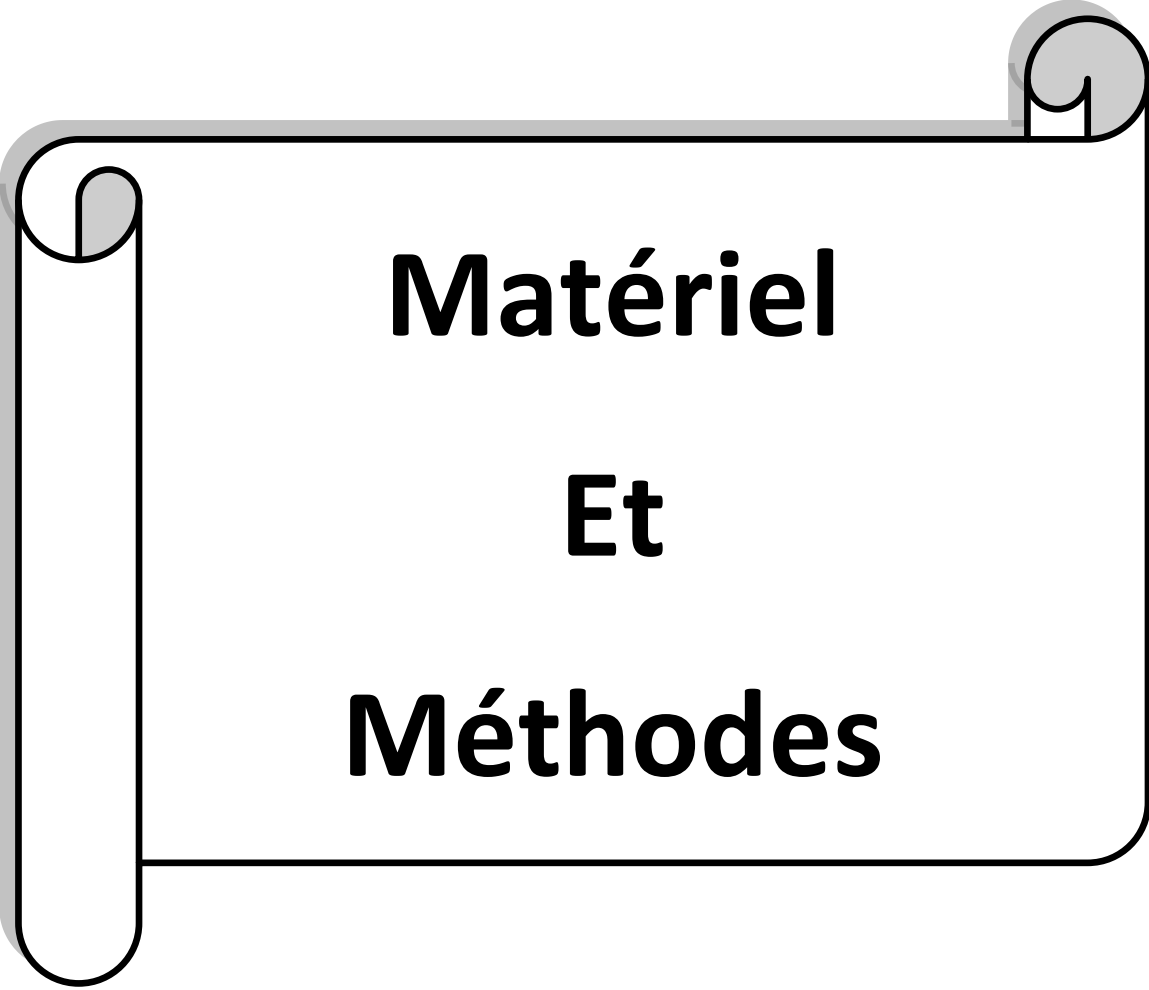
VII-7-2.-Les gastro-entérites :

Sont provoquées par des *Salmonella* ubiquistes présentes chez l'homme et les animaux. La durée d'incubation est généralement de 1 à 2 jours et dépend de la dose ingérée, de la santé de l'hôte et des caractéristiques de la souche de *Salmonella*. Les principaux symptômes de la salmonellose (infections non typhoïdiques) sont la diarrhée non sanglante, les douleurs abdominales, la fièvre, les nausées et des vomissements qui surviennent généralement 12-36 heures après l'ingestion. Chez des adultes de condition physique normale, une gastro-entérite disparaît sans traitement après 3 à 5 jours en moyenne. Le traitement employé repose essentiellement sur la réhydratation.

VII-7-3-Toxi-infections alimentaires collectives :

La consommation simultanée par plusieurs personnes d'un aliment massivement contaminé par des *Salmonella* «mineures» (*Salmonella typhi murium*, *S. enteritidis*, *S. dublin*, etc...) entraîne une cascade des cas de gastro-entérites, qui, simulant un véritable empoisonnement, est appelé toxi-infection alimentaire collective (TIAC). La période d'incubation est de 10 à 18 heures. Les troubles durent en général 2 à 5 jours. Les complications sont rares sauf chez les sujets à faibles moyens de défense (cf. gastro-

entérites). L'aliment responsable est identifié par enquête épidémiologique (enquête cas-témoin). Le diagnostic se fait par recherche de *Salmonella* dans les selles des malades et dans l'aliment incriminé (s'il est encore accessible). Le traitement est le même que celui des gastro-entérites (**Avril et al. 1992**). La prévention repose essentiellement sur l'hygiène des cuisines collectives (détection des porteurs sains, techniques de préparation, techniques de conservation : « chaîne du chaud » ou « chaîne du froid », etc...).



Matériel

Et

Méthodes

CHAPITRE V : PRESENTATION DE L'ETUDE

I. Objectif de l'étude :

Nos principaux objectifs sont les suivants:

- ✓ Mettre en exergue l'importance de l'hygiène alimentaire
- ✓ Evaluer l'intérêt des examens microbiologiques des aliments destinés à la consommation humaine.

V-2 : Matériel et méthodes :

V-2-1 : Type et période de l'étude :

Il s'agit d'une étude d'analyses microbiologiques, recherche de deux espèces des entérobactéries : *Escherichia coli* et *Salmonella spp.* Dans des aliments. Notre étude a été réalisée dans le laboratoire de microbiologie des aliments et des eaux de l'Institut Pasteur d'Algérie ; -Dely Brahim Alger-. pendant une période de 5 mois (Février- Juin) de l'année 2018.

V-1-. Echantillonnage :

Notre étude a concerné 100 prélèvements alimentaires comprenant à la fois des aliments crus et des aliments prêts-à-manger (56 plats cuisinés, 4 viandes hachées, 2 viandes de poulet, 1 viande de dinde, 1 viande de bœuf, 2 saucisses, 4 poissons, 4 abats poulet, 3 charcuteries, 2 beures, 7 bonbons, 14 pâtisseries.) provenant de plusieurs points de vente centre algérien. Les échantillons étaient prélevés et transportés au laboratoire dans une glacière contenant un nombre suffisant de sachets réfrigérants. Les unités d'échantillonnage ont été conservées au réfrigérateur (0°C et 4°C) et analysées dans les 24 heures. Suivant la réception (ANNEXE1).

V-2-3. Outils de l'étude :

V-2-3-A. Matériel de laboratoire :

- ❖ Matériel de stérilisation : Four Pasteur, bec Bunsen, autoclave;
- ❖ Matériel de pesée : Balance de précision;
- ❖ Matériel d'incubation : étuves à, 37°C et 55°C;
- ❖ Matériel divers : pipettes, béchers, porte-tubes, boîtes de Pétri, pipettes Pasteur, flacons, réfrigérateur; pince, microscope optique, lames et lamelles, bain-marie 44°C, agitateur, barreau, Stomacher 400
- ❖ Milieux de culture et réactifs :
 - Gélose Hektoen (Institut Pasteur d'Alger).
 - Milieu chromogène d'*Escherichia coli*.
 - Eau physiologique peptonnée (Institut Pasteur d'Alger).
 - Bouillon Sélénite F Broth (SFB) (Institut Pasteur d'Alger).
 - Milieu Triple Sugar Iron Agar (TSI) (Institut Pasteur d'Alger).
 - Gélose Nutritif (GN) inclinée (Institut Pasteur d'Alger).
 - Tube de conservation.
 - Eau peptonnée exempte d'indole (EPEI) (Institut Pasteur d'Alger).
 - Eau distillé stérile.
 - Milieu Urée –indole (Institut Pasteur d'Alger).
 - Milieu Mannitol-Mobilité (Institut Pasteur d'Alger).
 - Milieu Citrate de Simmons (Institut Pasteur d'Alger).
 - Réactif de Kovacs.
 - Additifs (disques) de Sélénite F Broth (SFB)

V-2-4. Méthodes :

Les échantillons sont analysés selon 2 méthodes :

V-2-4-1. La méthode classique :

C'est une méthode horizontale de dénombrement des micro-organismes capables de se développer et de former des colonies dans un milieu solide après incubation aérobie à 30 °C. La méthode est applicable: a) aux produits destinés à la consommation humaine et aux aliments pour animaux ; b) aux échantillons d'environnement dans le domaine de la

production d'aliments destinés à l'homme ou aux animaux et de la préparation des aliments.

V-2-4-1-A. pré-enrichissement :

L'analyse est effectuée en utilisant 25 grammes d'aliment homogénéisé 2 minutes dans 225ml de diluant de pré-enrichissement Eau physiologique peptonnée TSE (c'est un milieu nutritif non inhibiteur) à l'aide d'un homogénéisateur du type Stomacher 400. A cette étape est suivie d'une incubation de 24 heures à 37°C.

V-2-4-1-B. enrichissement :

1 ml de pré-enrichissement est prélevé et rajouté à 10 ml de bouillon au sélénite de sodium (SFB) additionné d'un disque SFB. Ce bouillon est ensuite incubé 24 heures à 37°C.

V-2-4-1-C. Isolement :

Nous réalisons un isolement à partir du bouillon d'enrichissement sur gélose Hektoen qui sera incubée à 37°C pendant 24 heures.

V-2-4-1-D. Examen macroscopique (phénotypique)

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification ; D'après Joffin et Leyral 2006, les éléments d'identifications macroscopiques sont:

- la forme des colonies : rondes, irrégulières,...etc.,
- la taille des colonies par la mesure du diamètre,
- la couleur de la colonie,
- l'élévation : convexe, concave, plate,
- l'opacité opaque, translucide ou transparente,
- la surface : lisse, rugueuse, sèche, dentelée,...etc.(**Joffin J. N. et Leyral G. (2006)**)

V-2-4-1-E. Examen microscopique :

Coloration de gram :

L'observation microscopique consiste à observer les cellules bactériennes après une

coloration de Gram qui permet de connaître la forme, La pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées.

*Les étapes de la coloration :

- **On réalise un frottis** sur une lame de microscope à partir d'une suspension bactérienne: on agite la suspension afin de l'homogénéiser et d'éviter d'avoir un culot au fond du tube.

Avec l'aide d'une anse que l'on aura préalablement stérilisé (en la passant par le bec Bunsen), on prélève un peu de la solution bactérienne en plongeant la pipette Pasteur dans le tube à essai.

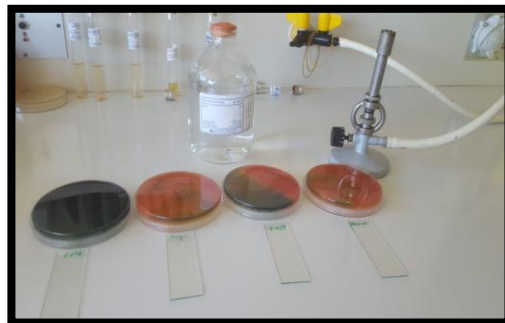


Figure 4 : frottis

- On la dépose ensuite au milieu de la lame en faisant des rotations jusqu'à étalement de notre goutte.

- On procède à la **fixation du frottis** on passe rapidement 3 fois la lame dans la flamme du bec Bunsen.

- **La coloration au violet de Gentiane** (colorant basique): la lame est plongée pendant 1 minute dans le colorant violet de gentiane. Toutes les bactéries sont colorées en violet puis rincez

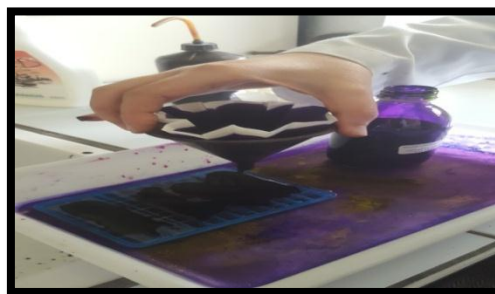


Figure 5 : technique coloration au violet de Gentiane

- **Mordançage au lugol** (solution iodo-iodurée) : étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ; Rincez. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette.

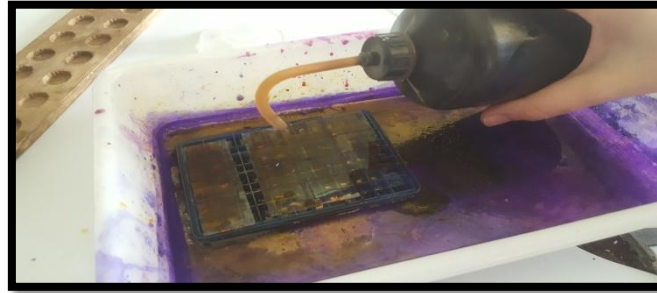


Figure 6 :Mordançage au Lugol

- **Décoloration à l'alcool**: verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincez.

Si la coloration au violet de Gentiane disparaît, les bactéries sont des Gram-. Si non les bactéries sont Gram+.



Figure7 :Décoloration à l'alcool

- **Contre coloration avec de la Fuchsine**: laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Rincez. Les bactéries Gram- sont colorées en rose.



Figure8 :coloration avec de la Fuchsine

V-2-4-1-F. Identification biochimique :

L'identification et la classification des entérobactéries sont basées essentiellement sur l'étude des caractères cités ci-dessous, dont les principaux concernent la mobilité, l'utilisation des sucres (dont particulièrement le lactose) et les caractères : indole, rouge de méthyle, Voges-Proskauer, inositol (abandonné), citrate. **(Guiraud J-P. (2012))**

Pour lancer la mini galerie nous avons conservé la souche dans une gélose nutritive

V-2-4-1-F -1 : Recherche de l'utilisation du glucose, lactose, production de gaz et H₂S sur le milieu TSI :

Le TSI est utilisé principalement pour orienter l'identification des entérobactéries (bacilles à Gram-). Il permet en 24 heures la lecture des tests suivants : les fermentations du glucose, du lactose et du saccharose, la production d'hydrogène sulfuré (H₂S) et de gaz provenant de la fermentation du glucose.

Ensemencer la pente en stries serrées et le culot du milieu par piqûre centrale, afin d'avoir une culture en nappe avec la souche bactérienne à tester. Ne pas revisser à fond le bouchon du tube. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

V-2-4-1-F -2. Recherche de l'indole et mise en évidence de l'uréase et de la TDA :

Le milieu urée-tryptophane, improprement appelé urée-indole est un milieu de culture synthétique utilisé en bactériologie permettant la mise en évidence simultanée :

- De la production de l'indole (par hydrolyse du tryptophane par la tryptophanase).
- De l'hydrolyse de l'urée (par une uréase).
- De la désamination du tryptophane par le tryptophane désaminase.

Ensemencer abondamment un milieu urée-indole avec quelques colonies de la souche à étudier. Et en suite on met dans un bain marie 24 heures à 40°C.

V-2-4-1-F -3.Recherche de l'oxydase :

Le disque de papier filtre imprégnés de réactif l'oxalate de N-dimethyl paraphénylène diamine, qui est incolore sous forme réduite et rouge-violet sous forme oxydée a été utilisé.

Prélever une partie de la colonie à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque si on a une coloration bleue foncée à violette le résultat est positif.

V-2-4-2.la Nouvelle méthode (milieu chromogène) :

La nouvelle méthode concerne l'utilisation de milieu chromogène.une goutte de la suspension mère sur le milieu chromogène (E coli-coliforme de laboratoire CONDA).

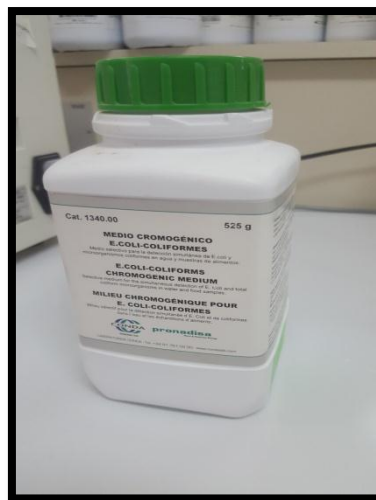


Figure9 : milieu chromogène

*description du milieu :

- FORMULE IN g / l :

Sodium Chloride	5.00	Sorbitol	1.00
Phosphate Buffer	4.90	Chromogenic Mixture	0.36
Bacteriological Peptone	3.00	Tergitol-7	0.10
Sodium Pyruvate	1.00	Bacteriological Agar	10.00
Tryptophan	1.00		

Final pH 6.8 ± 0.2 at 25°C

Préparation de milieu (ANNEXE2)



**RESULTATS ET
DISCUSSIONS**

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats obtenus par les milieux utilisées sont les mêmes.

Dans notre travail les résultats sont totalement négatifs pour *salmonella spp.* Tandis que 40 % sont positifs pour *l'Escherichia coli.*

I-1. Critère macroscopique :

Pour Ecoli:

Colonie rondes, lisses, à bords réguliers de couleur saumon, lactose positif.



Figure10 : *E .coli* sur Hektoen.

Pour salmonella :

Les colonies sont ronde de couleur verts avec centre noire, H2s positif.



Figure11 : résultat de salmonella sur Hektoen (souche de référence).

I-2.Résultat microscopique (coloration de gram) :

Après l'observation on microscope optique à grossissement *40 on a obtenue les résultats suivant :

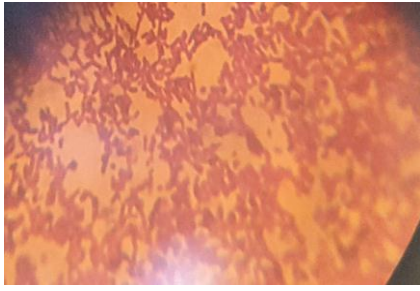


Figure12: *Escherichia coli*
(baccille a gram-)

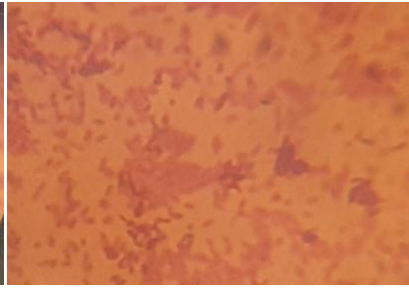


Figure13: *Pseudomonas*
(baccille a gram-)

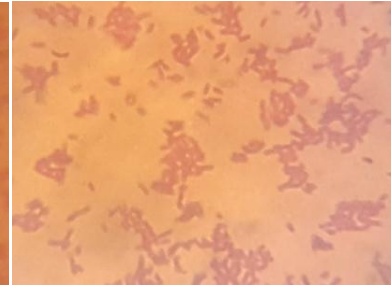


figure14 :*Citrobacter*
(baccille a gram-)



Figure15 : *Proteus*(baccille a gram-).

I-3. Résultat critère biochimique :

I-3-1. Recherche de l'utilisation du glucose, lactose, production de gaz et H₂S sur le milieu TSI :

Après incubation du milieu TSI, nos souches ont présenté différents aspects.

- L'utilisation du glucose se traduit par un virage au jaune du culot
- L'utilisation de lactose se traduit par un virage au jaune de la pente. Une pente rouge désigne la non utilisation du lactose
- Une déformation de la gélose désigne une production de gaz.



figure16 : TSI avant l'incubation



Figure17 : TSI après l'incubation



Figure18 :
Milieu TSI

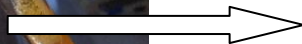


Figure19 :
Aspects des colonies testées sur le milieu (Glu+, Lac+, H₂S-, Gaz+)

I-3-2. Recherche de l'indole :

La présence de l'indole est révélée après ajout du réactif de Kovacs dans le milieu urée-indole. La formation d'un anneau rouge témoigne de sa présence et un anneau jaune son absence.



Figure20 : Milieu
urée-indole



Figure21 :
résultats urée-indole

I-3-3. Recherche de l'oxydase :

L'absence de la coloration bleue foncée à violette révèle un résultat négatif sur les disques d'oxydase.

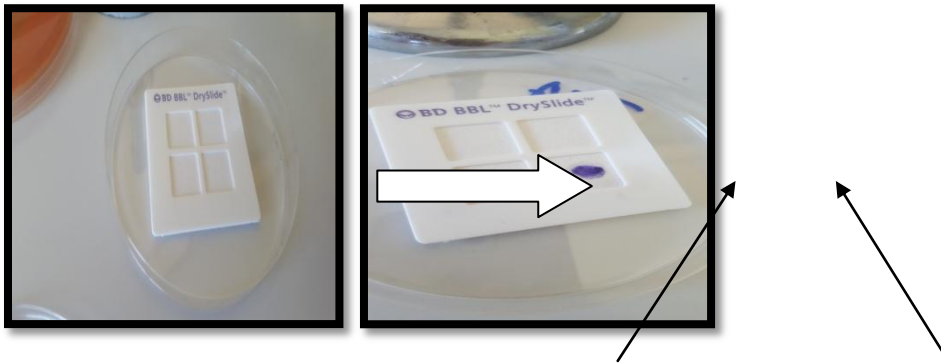


Figure22 : Disque oxydase

Figure23 : Résultat -

Résultat+

I-4. Résultats *E. coli* dans milieu chromogène :

Après l'incubation de 24h on a obtenu les résultats suivants :



Figure24 : Résultat positive présence d'*E. coli*

Figure25 : Résultat négative absence d'*E. coli*

II. Analyse des données :

Pour l'analyse des données de notre étude Nous avons eu recours au système Microsoft Excel.

II-1. Etude des caractéristiques des échantillons étudiés :

II-1-1. Pourcentages des échantillons en fonction de leur nature :

Le tableau suivant présentée le Pourcentages des échantillons en fonction de leur nature.

Tableau 6 : Pourcentages des échantillons en fonction de leur nature

	PC	viandes	poissons	charcuterie	abats	Beurres	Pâtisseries	Bonbons
Nbr d'echnt	56	10	4	3	4	2	14	7
Pourcentages	56%	10%	4%	3%	4%	2%	14%	7%

Abréviations:

Pc : plats cuisinée

Nbr d'echnt : nombre d'échantillonne

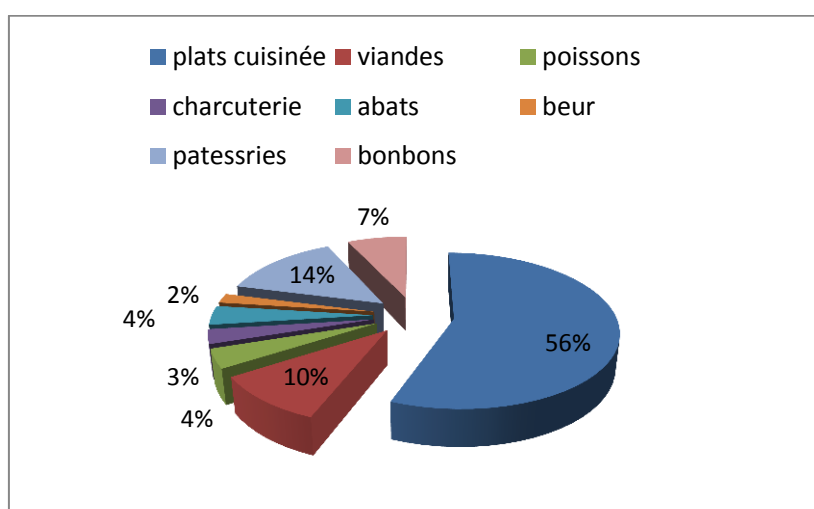


Figure 26: pourcentage des échantillons en fonction de leur nature

Ce diagramme circulaire montre le pourcentage des échantillons étudiés : plats cuisinée (56%), en 2^{ème} position les pâtisseries (14%) et en 3^{ème} position les viandes (10%). D'autres proportions variables des autres échantillons (bonbons 7%, poissons 3% ; beurres 2%).

Le choix des échantillons s'explique par le fait que notre travail est intéressé par l'hygiène alimentaire et non un seul produit particulier.

II-1-2. Pourcentage des échantillons contaminés et non contaminés:

Lediagramme ci-dessous présente le pourcentage des échantillons contaminés et non contaminés par *Ecoli*

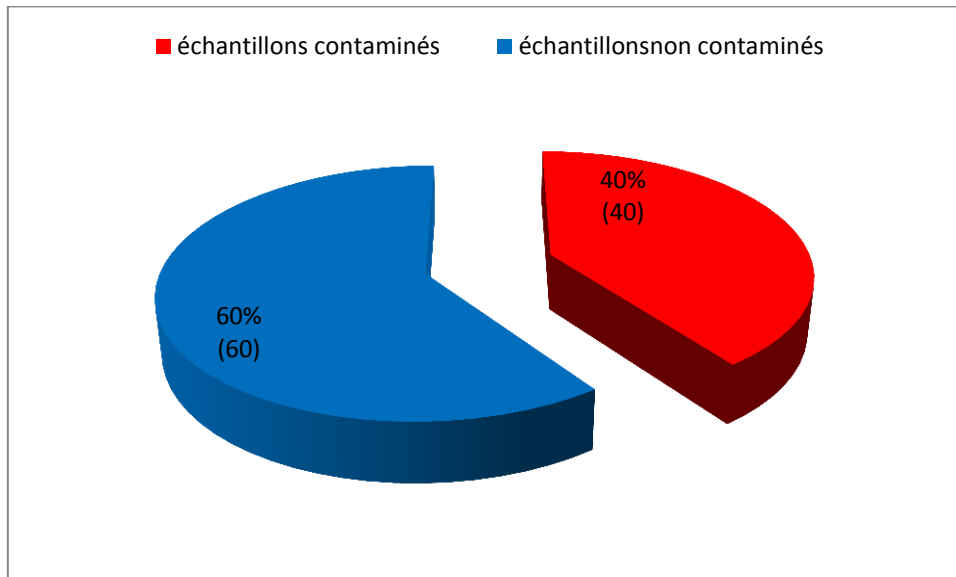


Figure27 : Pourcentage des échantillons contaminés et non contaminés:

A partir des 100 échantillons analysés, aucune *Salmonelle* n'a été isolée et *E.coli* a été retrouvée dans 40% des prélèvements. Ce pourcentage de contamination serait dû au manque d'hygiène et au non respect de ses conditions d'hygiène en premier degré, sachant qu'*E.coli* est un indice de contamination fécale.

Quelque soit la méthode utilisée, les résultats obtenus sont les mêmes.

II-1-3. Pourcentage des plats cuisiniers contaminés:

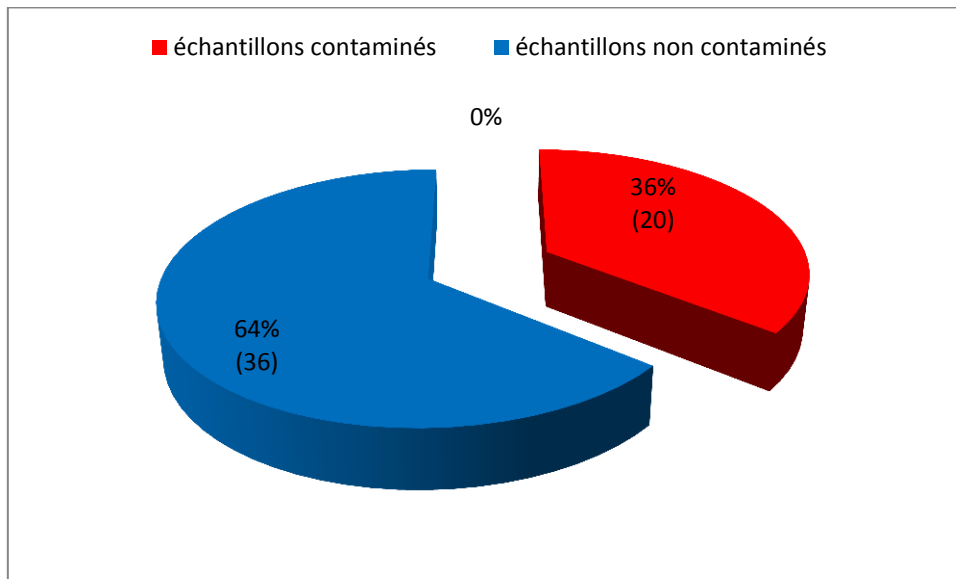


Figure 28 : Pourcentage de contamination des plats cuisinés

Le diagramme ci-dessus montre que pour 36% de nos plats cuisinés (20 PC) sont contaminés par *E coli*. La présence des *E coli* dans les plats est un témoin d'une contamination fécale, qui provient des du personnel de cuisine.

Ce résultat pourrait expliquer le nombre important des cas d'intoxication à *E coli*. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par Haeghebaert et al. (2002) en France, Hassine (2007) en Tunisie et Chiguer (2014) au Maroc.

II-1-4.pourcentage de la viande et les abats contaminés :

Les diagrammes Ci-dessous présentent le pourcentage de la viande et les abats contaminés par *E.coli*

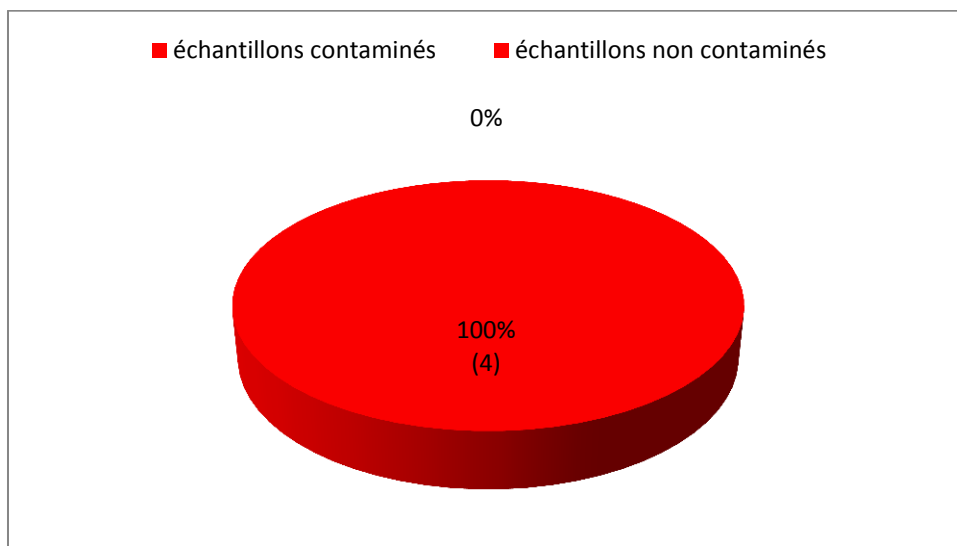


Figure29 : pourcentage l'abats contaminés.

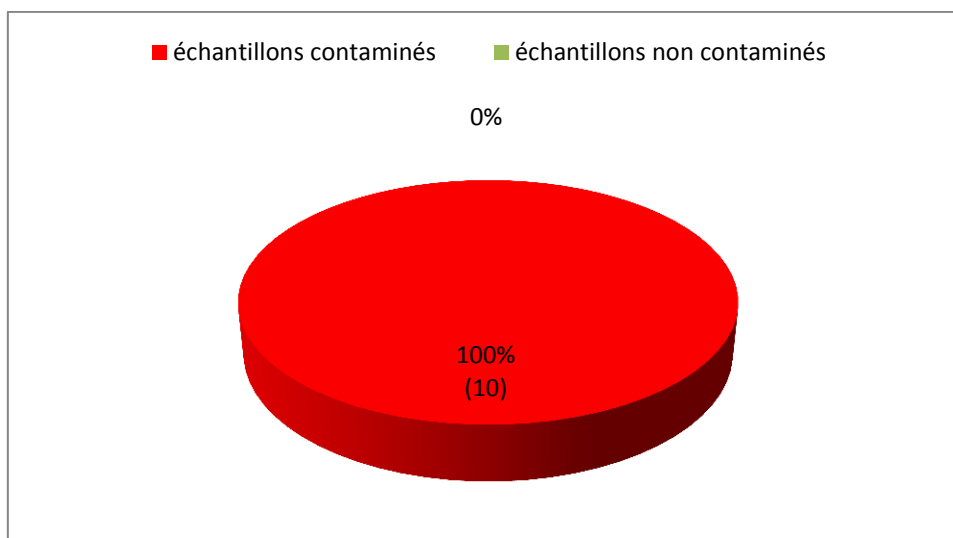


Figure 30 : pourcentage de la viande contaminée.

La totalité de nos prélèvements de viandes crues et les abats sont contaminés par *E.coli* (avec un taux 100%). Ce résultat revient probablement à la contamination du matériel et/ou le milieu d'abatage dans l'abattoir, les mauvaises conditions de transport et de conservation de viande et le manque hygiènes au niveau des boucheries.

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par les études réalisées par **Hassine (2007)** dans la région de Kasserine en Tunisie et celle de **Ramsay et Delisle (2012)** et **INVS (2013)** en

France indiquent l'incrimination de la viande en première position des contaminants avec respectivement 31%, 32% et 17%.

II-1-5. Pourcentage du poisson contaminé:

Le diagramme Ci-dessous présente le pourcentage du poisson contaminé par *Ecoli*.

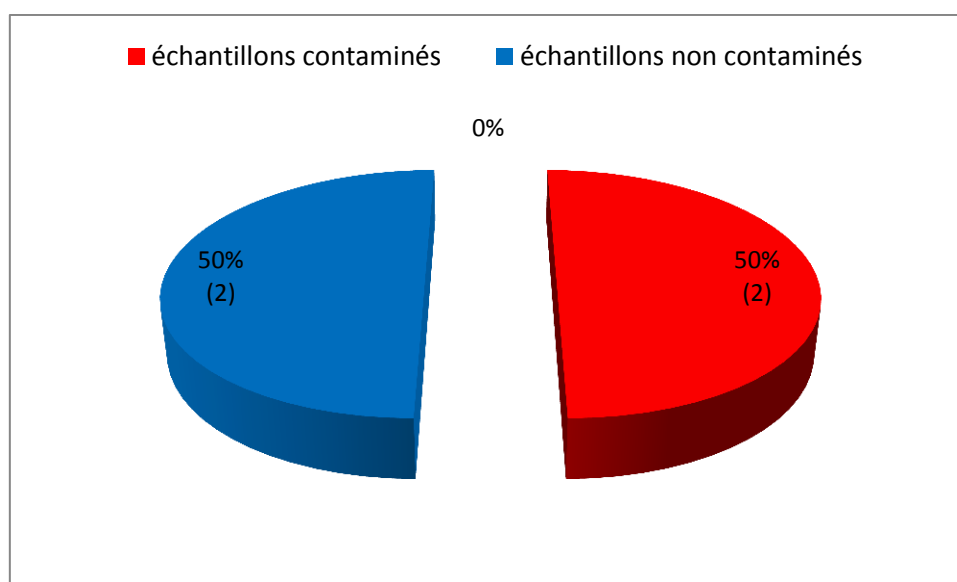


Figure31 : pourcentage du poisson contaminé

50% de poisson qui présente une contamination. cet résultat revient probablement au milieu de conservation, transport et/ou milieu de vie. Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par les études réalisées par Issola 2008.

II-1-6. Pourcentage de la charcuterie contaminées :

Le diagramme suivant présente le pourcentage de la charcuterie contaminée par *Ecoli*

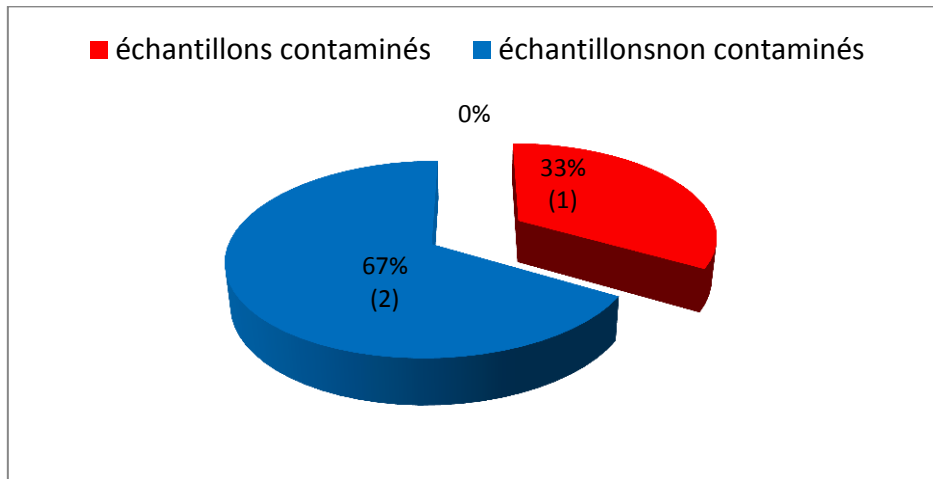


Figure32 : pourcentage de la charcuterie en fonction de la présence e coli.

La contamination par *E.coli* est de taux 33% cela revient probablement à la nature des compositions, la mauvaise préparation de l'aliment (manque d'hygiènes, temps de cuisson insuffisant pour éliminés la majorité des bactéries) ainsi le non respects des conditions de conservation et emballage, 67% des échantillons sont dépourvus *d'E.coli*.

II-1-7. Pourcentage du beurre contamined:

Le diagramme suivant obtenu des résultats de la contamination du beurre par *Ecoli*

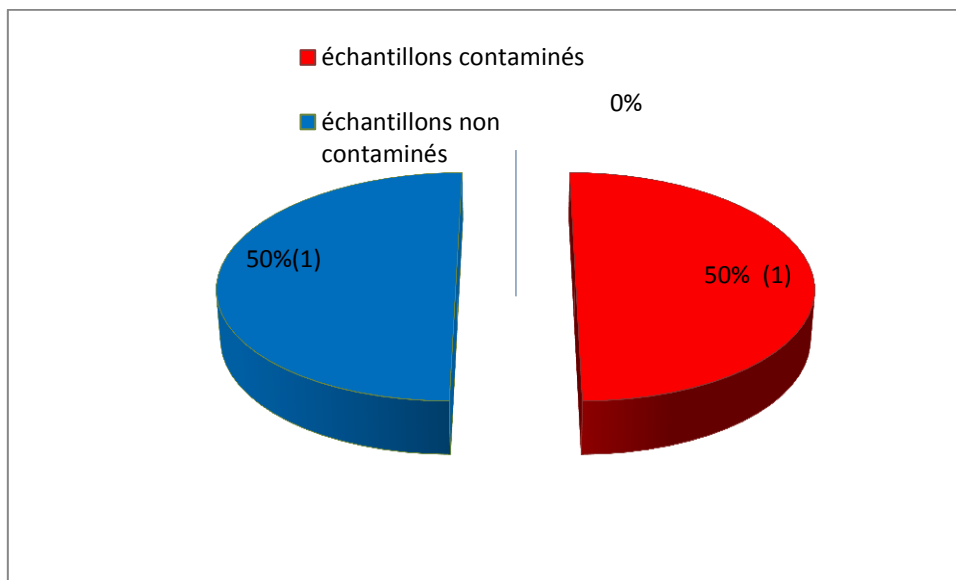


Figure33 : pourcentage de beurre contamines.

Les contaminations du beurre par *E.coli* seront du au manque de respect des lois de vente et de conservation.

II-1-8. Pourcentage des bonbons contaminés:

Le digramme Ci-dessous présente la contamination des bonbons par *Ecoli*.

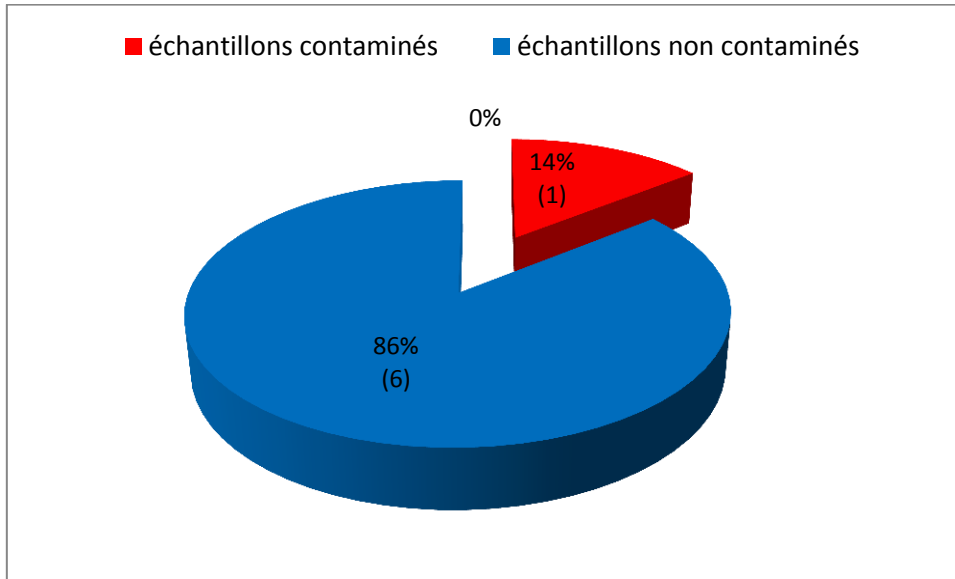


Figure34 : pourcentage de bonbon contaminés

Le taux de 86% représente le pourcentage des bonbons non contaminés, alors que 14% de ces derniers été contaminés. Ces résultat serait du à la non maitrise d'hygiène lors la fabrication, au monument conservation, d'emballage ou au niveau de stockage.

II-1-9. Pourcentage des pâtisseries contaminées par *Ecoli* :

Le diagramme Ci-dessous présente les pâtisseries contaminées par *Ecoli*

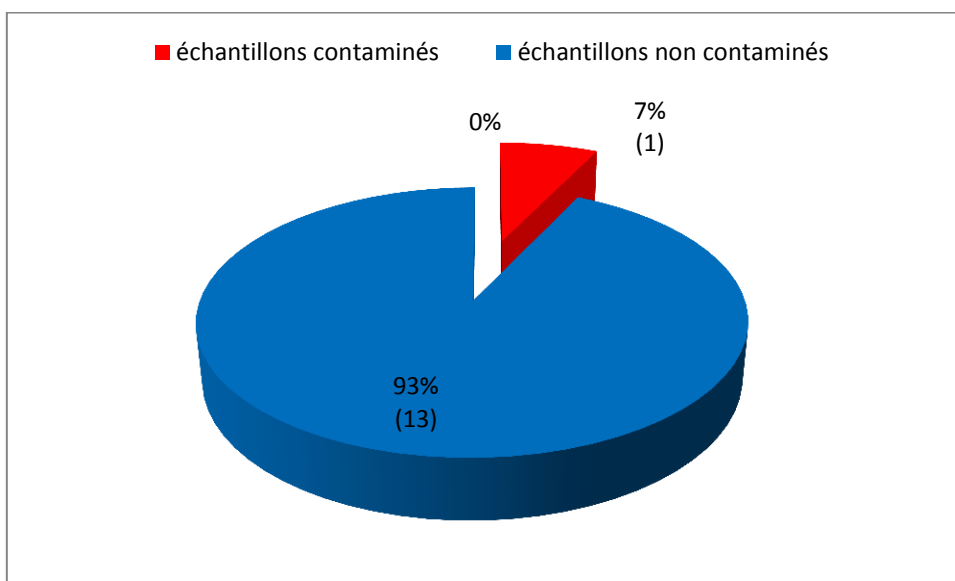
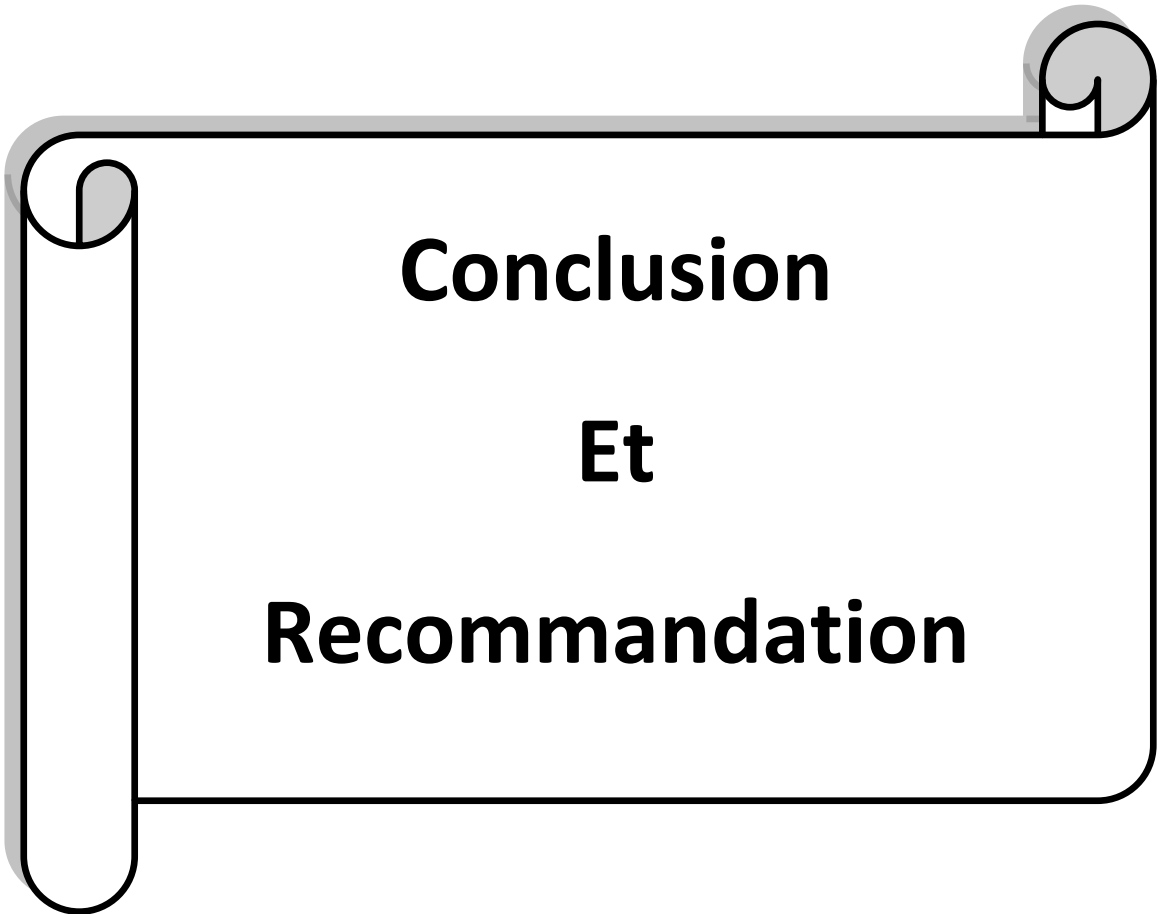


Figure 35 : pourcentage des pâtisseries contaminées.

Ce diagramme circulaire montre que la quasi-totalité (93%) des pâtisseries n'est pas contaminée par *E coli* et que 7% sont contaminées par *E coli*. Cela pourrait être expliqué par le non respect d'hygiène (port de gants) lors la préparation des pâtisseries, utilisation des produits contaminés, ainsi que le manque d'hygiènes au niveau des différents points de vente.

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par **Belomaria et al. (2007)**, pour leurs parts ont trouvé que les aliments les plus fréquents en cause des TIAC étaient les fruits et légumes avec 20%.

Dans un rapport de **FAO/OMS (2002)**, les œufs, les aliments à base d'œufs, la mayonnaise et les produits contenant des œufs, tels que les crèmes et les gâteaux, étaient responsables de près de 40% des cas de TIAC en Europe.



Conclusion

Et

Recommandation

Conclusion

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

Notre études a révélé qu'au niveau du service restaurations universitaire (plats cuisinées) ou différents points d'achat (restaurant, Fast Food) il est nécessaire d'améliorer l'aménagement et l'équipement déficient des cuisines. Par ailleurs, il faut d'urgence former le personnels de restaurations qui souvent ignorent les règles alimentaires d'hygiène, afin d'assurer le bon pratiques d'hygiène depuis la constitution du repas jusqu'à distribution en évitant d'éventuelles recontaminations par les divers vecteurs et enfin renforcer la mise en place et le contrôle d'un programme de nettoyage désinfection .ainsi que former et informer les bouches sur valeur d' hygiène dans leurs domaine et l'immense risqué que nous allons éviter lors le bon pratique d'hygiène . Idem pour les usines, les commerçants.

L'hygiène est un mode de vie il doit êtres appliqués dans tous les domaines d'améliores la vie d êtres humain.

Recommandations

L'analyse microbiologique des aliments a un rôle important qui répond à deux nécessités qui sont la prévention et l'expertise.

La prévention permet de tester un aliment, pour savoir s'il est consommable du point de vue microbiologique, c'est-à-dire s'il ne contient pas de bactéries susceptibles de l'altérer (mauvais goût, mauvaise odeur, mauvaise apparence, ...) ou de microorganismes pathogènes et/ou toxigènes responsables de toxiinfections alimentaires.

Quant à l'expertise, elle permet de déterminer si un aliment est sûr et salubre.

Les trois règles, pour la lutte contre les intoxications alimentaires, sont d'éviter au maximum les apports de microorganismes, de limiter leur multiplication et d'assainir en détruisant les microorganismes (dont les spores) et les toxines.

Les dix commandements permettant le respect de l'hygiène alimentaire sont Prévenir, Assainir, 32 puis Prévenir et Assainir (Tableau 7):

Tableau 7 : Les dix commandements permettant le respect de l'hygiène alimentaire Prévenir	Eviter les apports en microorganismes	1- (Où) Ne mettre en oeuvre qu'un équipement adapté (locaux et matériels) et en parfait état.
<p>2 - (Quoi) N'utiliser que des produits sains et les protéger. Attention aux mélanges de denrées d'origines différentes. Produits animaux, denrées crues, toujours suspects.</p> <p>3 - (Qui) Surveiller étroitement la santé et l'hygiène du personnel (porteurs sains, plaies aux mains, hygiène corporelle et vesti-mentaire, propreté, danger fécal).</p> <p>4 - (Comment) Éviter le contact des denrées saines avec les secteurs souillés, manipuler correctement, ne pas parler, ne pas fumer, ne pas cracher, savoir goûter et se laver, réaliser un nettoyage et une désinfection rigoureux.</p> <p>5 - (Temps) Denrées de conservation limitée, la consommation doit être la plus rapprochée possible de la préparation.</p>		
Limiter la multiplication	<p>6-(Anti-tiède) La zone de danger (de +65°C à +10°C) doit être traversée dans les deux sens très rapidement (moins de deux heures).</p> <p>7-(Chaud) Respecter la chaîne du chaud, maintenir la température supérieure à +65°C de la cuisson à la consommation.</p> <p>8-(Froid) Respecter la chaîne du froid, maintenir la température entre à 0°C et +3 °C, pour les produits réfrigérés (durée de conservation limitée) et au-dessous de -18 °C, pour les produits surgelés (longue conservation, ne pas recongeler après décon-gélation).</p>	
Assainir	Détruire les microorganismes	9-Respecter les conditions de cuisson (barème temps température) stérilisation ou la pasteurisation.
Prévenir et Assainir	Conditions nécessaires à l'application	10 - Réglementation Contrôle de toute la chaîne : produits, matériels, processus, personnel...). Formation (et information) du personnel en vue de le motiver et de l'impliquer (responsabilisation).



**Référence
bibliographique**

A

Ababouch I.d. «assurance qualité en industrie halieutique» rabat - maroc, actes edition, 1995, 214p.

Ahn, c. K., a. J. Russo, k. R. Howell, n. J. Holt, p. L. Sellenriek, r. J. Rothbaum, a. M. Beck, l. J. Luebbering, and p. I. Tarr. 2009b. Deer sausage: a newly identified vehicle of transmission of escherichia coli o157:h7. *J pediatr* 155:587-9.

Ahn, c. K., n. J. Holt, and p. I. Tarr. 2009a. Shiga-toxin producing escherichia coli and the hemolytic uremic syndrome: what have we learned in the past 25 years? *Adv exp med biol* 634:1-17.

Alli, 2004: Food Quality Assurance: Principles and Practices. FLORIDA 33431 CRC Press
Amirlak, i., and b. Amirlak. 2006. Haemolytic uraemic syndrome: an overview. *Nephrology (carlton)* 11:213-8.

Avril, j.l et al. (2000).Bactériologie clinique. 2ed .ellipses, paris. Pp. 171-177.

B

Becila A, 2009: Préventions des alérations et des contaminations microbiennes des aliments, mémoire de magistère. Université Mentouri Constantine.

Belomaria, m., ahami, a. O. T., aboussaleh1, y., elbouhali1, b.,cherrah, y. Et soulaymani, a. (2007).Origine environnementale des intoxicationsalimentaires collectives au maroc. Cas de la région du gharb chrarda bni hssen. *Antropo*,pp. 14,83-88. Maroc.

bettelheim, k. A., l. Beutin, k. Gleier, j. L. Pearce, r. K. Luke, and s. Zimmermann. 2003. Serotypes of escherichia coli isolated from healthy infants in berlin, germany and melbourne, australia. *Comp immunol microbiol infect dis* 26:55-63.-41.

Beutin, l. 1999. Escherichia coli as a pathogen in dogs and cats. *Vet. Res* 30:285-298.

Blanco, j., m. Blanco, j. E. Blanco, a. Mora, e. A. Gonzalez, m. I. Bernardez, m. P. Alonso, a. Coira, a. Rodriguez, j. Rey, j. M. Alonso, and m. A. Usera. 2003. Verotoxin-producing escherichia coli in spain: prevalence, serotypes, and virulence genes of o157:h7 and non-o157 vtec in ruminants, raw beef products, and humans. *Exp biol med (maywood)* 228:345-51.

Bolnot F, 2004: La maîtrise de la qualité et les signes de qualité. Polycoopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, observatoire risques et aliments. 17p.

Bolton, d. J., c. M. Byrne, j. J. Sheridan, d. A. Mcdowell, and i. S. Blair. 1999. The survival characteristics of a non-toxigenic strain of escherichia coli o157:h7. J appl microbiol 86:407-11.

Booher, s. L., n. A. Cornick, and h. W. Moon. 2002. Persistence of escherichia coli o157:h7 in experimentally infected swine. Vet microbiol 89:69-81

Bornert G, 2000: La place des analyses microbiologiques de denrées alimentaires dans le cadre d'une démarche d'assurance-sécurité, Groupe de Secteurs Vétérinaires Interarmées, 151, 8-9, 805-812.

Bourgeois c. M., leveau j. Y.«Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires.» Paris, Tec. & Doc. 1980, le contrôle microbiologique, Vol. 3, 331 p.

Bouvet, j., m. P. Montet, r. Rossel, a. Le roux, c. Bavai, s. Ray-gueniot, c. Mazuy, v. Atrache, and c. Vernozy-rozand. 2002. Effects of slaughter processes on pig carcass contamination by verotoxin-producing escherichia coli and e. Coli o157:h7. Int j food microbiol 77:99-108.

Bouvet, j., v. Livrelli, p. Mariani-kurkdjan, and e. Oswald. 2003. Pathologie humaine et animale liée aux escherichia coli producteurs de shiga-toxines (stec). In afssa (ed.), bilan des connaissances relatives aux escherichia coli producteurs de shiga-toxines (stec). Afssa:29-39.

brain, m. C. 1978. An acute febrile pleiochromic anemia with hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries (moschowitz 1925). Thromb haemost 40:9-10.

Brooks, j. T., e. G. Sowers, j. G. Wells, k. D. Greene, p. M. Griffin, r. M. Hoekstra, and n. A. Strockbine. 2005. Non-o157 shiga toxin-producing escherichia coli infections in the united states, 1983-2002. J infect dis 192:1422-9.

C

Campos, I. C., m. R. Franzolin, and I. R. Trabulsi. 2004. Diarrheagenic escherichia coli categories among the traditional enteropathogenic e. Coli o serogroups--a review. Mem inst oswaldo cruz 99:545-52.

Canet C;«Guide des bonnes pratiques de fabrication (BPF) dans les industries agroalimentaires »FAO - PNUD- Rome, 43 – 48.

Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A Pinon G, Vargues R. 1987: Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. SIMEP SA. Paris, 121-137 146-155.

Chiguer, b. (2014). Toxi-infections alimentaires collectives : fléau mondial à surveiller (exemple du maroc 2008-2012). Thèse de doctorat en médecine, faculté de médecine et de pharmacie : université mohammed v- souissi, rabat. 104 p. Disponible en ligne sur : http://www.geniebio.ac-aixmarseille.fr/biospip/spip.php?article252&id_document=831.

Cirillo T., Agozzino E... Cocchieri R., Del Prte U, 2004: Perception of biological risk and food choices in university students in Naples. Italian journal of public health: 62P 67P.

Clermont, o., m. Olier, c. Hoede, l. Diancourt, s. Brisse, m. Keroudean, j. Glodt, b. Picard, e. Oswald, and e. Denamur. 2011. Animal and human pathogenic escherichia coli strains share common genetic backgrounds. Infect genet evol 11:654-62.

Conedera, g., e. Mattiazzi, f. Russo, e. Chiesa, i. Scorzato, s. Grandesso, a. Bessegato, a. Fioravanti, and a. Caprioli. 2007. A family outbreak of escherichia coli o157 haemorrhagic colitis caused by pork meat salami. Epidemiol infect 135:311-4.

Corpet D, 2005 Qualité des aliments. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Unité pédagogique de l'hygiène et l'industrie des denrées alimentaires d'origine animale. 11p.

Corpet D, 2005: Maitrise de l'hygiène (restaurant & industrie) hygiène en restauration hors foyer. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Unité pédagogique de l'hygiène et l'industrie des denrées alimentaires d'origine animale 26p.

Corpet D, 2005: TIAC, risques sanitaires des aliments dangers chimiques & toxi- infections alimentaires collectives. Polycopié. École Nationale Vétérinaire de Toulouse. Unité pédagogique de l'hygiène et l'industrie des denrées alimentaires d'origine animale, 28p.

Cosson C., Boinot F., Tronchon P. 2003 : « Sécurité alimentaire » en milieu hospitalier de la logique de crise à la logique de progrès. Nutrition clinique et métabolisme, 17 242-251.

Croxen, m. A., and b. B. Finlay. 2010. Molecular mechanisms of escherichia colipathogenicity. Nat. Rev. Microbiol. 8:26-38.

D

Darfeuille-michaud, a. 2002. Adherent-invasive escherichia coli: a putative new e. Coli pathotype associated with crohn's disease. Int j med microbiol 292:185-93.

Decludt, b., p. Bouvet, p. Mariani-kurkdjian, f. Grimont, p. A. Grimont, b. Hubert, and c. Loirat. 2000. Haemolytic uraemic syndrome and shiga toxin-producing escherichia coli infection in children in france. The societe de nephrologie pediatrique. Epidemiol infect 124:215-20.

Denis f. Et ploy m.-c. (2007). Bactériologie médicale: techniques usuelles. Elsevier masson. P 316-318.

Denis F.; Ploy C. M.; Martin C.; Bingen E. et Quentin R. (2007). Bactériologiemédicale : Techniques usuelles. Ed. Elsevier Masson SAS. p.335-401.

Doane, c. A., p. Pangloli, h. A. Richards, j. R. Mount, d. A. Golden, and f. A. Draughon. 2007. Occurrence of escherichia coli o157:h7 in diverse farm environments. J food prot 70:6-10.

Dontorou, c., c. Papadopoulou, g. Filioussis, v. Economou, i. Apostolou, g. Zakkas, a. Salamoura, a. Kansouzidou, and s. Levidiotou. 2003. Isolation of escherichia coli o157:h7 from foods in greece. Int j food microbiol 82:273-9.

Doyle, m. P., and j. L. Schoeni. 1987. Isolation of escherichia coli o157:h7 from retail fresh meats and poultry. Appl environ microbiol 53:2394-6.

Drame, b. (2001). Micro méthode d'identification et d'étude de la sensibilité des entérobactéries : intérêts thérapeutiques. Thèse pharm. Dakar. N° 86.

Dziva, f., and m. P. Stevens. 2008. Colibacillosis in poultry: unravelling the molecular basis of virulence of avian pathogenic escherichia coli in their natural hosts. Avian pathol 37:355-66

E

Eriksson, e., e. Nerbrink, e. Borch, a. Aspan, and a. Gunnarsson. 2003. Verocytotoxin-producing escherichia coli o157:h7 in the swedish pig population. Vet rec 152:712-7.

F

Feder, i., j. T. Gray, r. A. Pearce, p. M. Fratamico, e. Bush, a. Porto-fett, f. M. Wallace, p. J. Fedorka-cray, and j. B. Luchansky. 2007. Testing of swine feces obtained through the national animal health monitoring system's swine 2000 study for the presence of Escherichia coli o157:h7. J food prot 70:1489-92.

Food and agriculture organization of the united nations (fao), organisation mondiale de la santé (oms). (2002). Statistiques sur les maladies d'origine alimentaire en europe risques microbiologiques et chimiques. In : conférence paneuropeenne fao/oms sur la salubrité et la qualité des aliments. Budapest, hongrie. 16 p.

Friesema, i. H., v. D. K. J, d. E. J. Cm, a. E. Heuvelink, and v. A. N. P. W. 2010. Geographical association between livestock density and human shiga toxin-producing Escherichia coli o157 infections. Epidemiol infect:1-7.

G

Guerin m.«le nettoyage : les produits» r.t.v.a. janvier - février 1986.

Gueye, o. (2007).utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à gram négatif. Thèse de pharm. N° 36.

Guiraud j-p. (2012). Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris. P. 253-254.

Gyles, c. L. 2007. Shiga toxin-producing escherichia coli: an overview. J anim sci 85:e45-62.

H

Haeghebaert, s. Et al. (2002). Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001. République française, ministère de la santé de la famille et des personnes handicapées, institut de veille sanitaire. Bulletin épidémiologique hebdomadaire (beh), n°50, (10 décembre 2002). Pp. 249-253.

Hassine, kh. (2007). Épidémiologie des toxi-infections alimentaires collectives dans la région de Kasserine : étude rétrospective sur douze années (1993-2004). Infectiologie, vol: 1, n°2, pp. 11-15.

Hussein, h. S. 2007. Prevalence and pathogenicity of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle and their products. *J Anim Sci* 85:e63-72.

Hussein, h. S., and I. M. Bollinger. 2005. Prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle. *J Food Prot* 68:2224.

I

Institut de veille sanitaire (InVS). (2013). Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives : données de la déclaration obligatoire. 11 p. Disponible en ligne sur : <http://www.invs.sante.fr/dossiers-thematiques/maladies-infectieuses/maladies-a-declaration-obligatoire/toxi-infections-alimentaires-collectives/donnees-epidemiologique>.

J

Jauregui, f., I. Landraud, v. Passet, I. Diancourt, e. Frapy, g. Guigon, e. Carbonnelle, o.

Lortholary, o. Clermont, e. Denamur, b. Picard, x. Nassif, and s. Brisse. 2008. Phylogenetic and genomic diversity of human bacteremic *Escherichia coli* strains. *BMC Genomics* 9:560.

Joffin j. N. Et Leyral g. (2006). Microbiologie technique, tome1 : dictionnaire de techniques, 4^e édition. Édition CRDP d'Aquitaine.

Johnson, j. R., and t. A. Russo. 2005c. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) escherichia coli. *Int j med microbiol* 295:383-404

Johnson, w. M., h. Lior, and g. S. Bezanson. 1983. Cytotoxic escherichia coli o157:h7 associated with haemorrhagic colitis in canada. *Lancet* 1:76.

Jouve j. L.«**la qualité microbiologique des aliments: maîtrise et critères**»paris, 2 ed.-**polytechnica 1996 ,563p, 27 - 28.**

K

kaper, j. B., j. P. Nataro, and h. L. T. Mobley. 2004. Pathogenic escherichia coli. *Nat. Rev. Microbiol.* 2:123-140.

Kaper, j. B., j. P. Nataro, and h. L. T. Mobley. 2004. Pathogenic escherichia coli. *Nat. Rev. Microbiol.* 2:123-140.

Kaper, j. B., j. P. Nataro, and h. L. T. Mobley. 2004. Pathogenic escherichia coli. *Nat. Rev. Microbiol.* 2:123-140.

Krause, g., s. Zimmermann, and l. Beutin. 2005. Investigation of domestic animals and pets as a reservoir for intimin- (eae) gene positive escherichia coli types. *Vet microbiol* 106:87-95

L

La ragione, r. M., a. Best, m. J. Woodward, and a. D. Wales. 2009. Escherichia coli o157:h7 colonization in small domestic ruminants. *Fems microbiol rev* 33:394-410

Lane, m. C., and h. L. Mobley. 2007. Role of p-fimbrial-mediated adherence in pyelonephritis and persistence of uropathogenic escherichia coli (upec) in the mammalian kidney. *Kidney int* 72:19-25.

Lane, m. C., v. Lockett, g. Monterosso, d. Lamphier, j. Weinert, j. R. Hebel, d. E. Johnson, and h. L. Mobley. 2005. Role of motility in the colonization of uropathogenic escherichia coli in the urinary tract. *Infect immun* 73:7644-56.

Leveau J, Larpent J, Bouix M, 2010 Sécurité microbiologique des procédés alimentaires, Techniques de l'Ingénieur, traité Agroalimentaire. F 1 120- 1.

Levine, m. M., and r. Edelman. 1984. Enteropathogenic escherichia coli of classic serotypes associated with infant diarrhea: epidemiology and pathogenesis. *Epidemiol rev* 6:31-51.

Low, a. S., n. Holden, t. Rosser, a. J. Roe, c. Constantinidou, j. L. Hobman, d. G. Smith, j. C. Low, and d. L. Gally. 2006. Analysis of fimbrial gene clusters and their expression in enterohaemorrhagic escherichia coli o157:h7. *Environ microbiol* 8:1033-47.

M

Machado, j., f. Grimont, and p. A. Grimont. 1998. Computer identification of escherichia coli rna gene restriction patterns. *Res microbiol* 149:119-35.

Mainil, j. G. 2000. Le point des connaissances sur les entérites à escherichia coli chez le veau. *Ann. Méd. Vét* 144:121-13

Martinez-medina, m., a. Mora, m. Blanco, c. Lopez, m. P. Alonso, s. Bonacorsi, m. H. Nicolas-chanoine, a. Darfeuille-michaud, j. Garcia-gil, and j. Blanco. 2009. Similarity and divergence among adherent-invasive escherichia coli and extraintestinal pathogenic e. Coli strains. *J clin microbiol* 47:3968-79.

Mokady, d., u. Gophna, and e. Z. Ron. 2005. Extensive gene diversity in septicemic escherichia coli strains. *J clin microbiol* 43:66-73

Mora, a., a. Herrrera, c. Lopez, g. Dahbi, r. Mamani, j. M. Pita, m. P. Alonso, j. Llovo, m. I. Bernardez, j. E. Blanco, m. Blanco, and j. Blanco. 2011a. Characteristics of the shiga-toxin-producing enteroaggregative escherichia coli o104:h4 german outbreak strain and of stec strains isolated in spain. *Int microbiol* 14:121-41

mora, a., a. Herrrera, c. Lopez, g. Dahbi, r. Mamani, j. M. Pita, m. P. Alonso, j. Llovo, m. I. Bernardez, j. E. Blanco, m. Blanco, and j. Blanco. 2011a. Characteristics of the shiga-toxin-producing enteroaggregative escherichia coli o104:h4 german outbreak strain and of stec strains isolated in spain. *Int microbiol* 14:121-41.

mora, a., a. Herrrera, c. Lopez, g. Dahbi, r. Mamani, j. M. Pita, m. P. Alonso, j. Llovo, m. I. Bernardez, j. E. Blanco, m. Blanco, and j. Blanco. 2011a. Characteristics of the shiga-toxin-producing enteroaggregative escherichia coli o104:h4 german outbreak strain and of stec strains isolated in spain. *Int microbiol* 14:121-4

Mora, a., s. L. Leon, m. Blanco, j. E. Blanco, c. Lopez, g. Dahbi, a. Echeita, e. A. Gonzalez, and j. Blanco. 2007. Phage types, virulence genes and pfge profiles of shiga toxin-producing escherichia coli o157:h7 isolated from raw beef, soft cheese and vegetables in lima (peru). *Int j food microbiol* 114:204-10.

N

Nataro, j. P., and j. B. Kaper. 1998. Diarrheagenic escherichia coli. *Clin. Microbiol. Rev.* 11:142-201.

O

O'brien, s. J., g. K. Adak, and c. Gilham. 2001. Contact with farming environment as a major risk factor for shiga toxin (vero cytotoxin)-producing escherichia coli o157 infection in humans. *Emerg infect dis* 7:1049-51.

Orskov f., o. I. 1984. Serotyping of escherichia coli. *Methods microbiol.* 14:43-112.

P

Panisset J.,Dewaily E.,Doucet-Leduc H,2003: contamination alimentaire,edisem Tec &doc. Ctoin Vale Parise.

Perriere, g. (1992) .application d'une présentation par objet des connaissances de modélisation certains aspects de l'expression des gènes chez *e. Coli* ucbl. Thèse université de lyon i. France. 14, 77.

Petit m.,«formation et information professionnelle en technologie alimentaire» r.t.v.a., mars 1986.

Pohl, p., lintermans, b., mainil, j. And deprez, p. 1989. Production de vérocytotoxine par les escherichia coli du porc. *Ann. Méd. Vét.* 133:31-38.

R

Ramsay, d. Et delisle, m.f. (2012). Toxi-infections alimentaires : bilan 1^{er} avril 2011 au 31 mars 2012. Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation du québec (mapaq). Québec. 29 p.

Rasko, d. A., m. J. Rosovitz, g. S. Myers, e. F. Mongodin, w. F. Fricke, p. Gajer, j. Crabtree, m. Sebaihia, n. R. Thomson, r. Chaudhuri, i. R. Henderson, v. Sperandio, and j. Ravel. 2008. The pangenome structure of escherichia coli: comparative genomic analysis of e. Coli commensal and pathogenic isolates. *J bacteriol* 190:6881-93.

Rice, d. H., d. D. Hancock, and t. E. Besser. 2003. Faecal culture of wild animals for escherichia coli o157:h7. *Vet rec* 152:82-3.

Richards, h. A., d. Perez-conesa, c. A. Doane, b. E. Gillespie, j. R. Mount, s. P. Oliver, p. Pangloli, and f. A. Draughon. 2006. Genetic characterization of a diverse escherichia coli o157:h7 population from a variety of farm environments. *Foodborne pathog dis* 3:259-65.

Riley, l. W., r. S. Remis, s. D. Helgerson, h. B. Mcgee, j. G. Wells, b. R. Davis, r. J. Hebert, e. S. Olcott, l. M. Johnson, n. T. Hargrett, p. A. Blake, and m. L. Cohen. 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare escherichia coli serotype. *N. Engl. J. Med.* 308:681-685.

Rozier j.«la qualité hygiénique des aliments et stratégie de l'hygiène» r.t.v.a., janvier - février 1986.

Russo, t. A., and j. R. Johnson. 2000. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of escherichia coli: expec. *J. Infect. Dis.* 181:1753-4.

S

Sanchez, s., r. Martinez, a. Garcia, d. Vidal, j. Blanco, m. Blanco, j. E. Blanco, a. Mora, s. Herrera-leon, a. Echeita, j. M. Alonso, and j. Rey. 2009. Detection and characterisation of o157:h7 and non-o157 shiga toxin-producing escherichia coli in wild boars. *Vet microbiol* 143:420-3.

Savageau, m. A. 1983. Escherichia coli habitats, cell types, and molecular mechanisms of gene-control. *Am nat* 122:732-744.

Servin, a. L. 2005. Pathogenesis of afa/dr diffusely adhering Escherichia coli. Clin microbiol rev 18:264-92.

Snedeker, k. G., d. J. Shaw, m. E. Locking, and r. J. Prescott. 2009. Primary and secondary cases in escherichia coli o157 outbreaks: a statistical analysis. BMC infect dis 9:144

Sojkaw.j. 1965. Escherichia coli in domestic animals and poultry. Part i : general characteristics and biochemical behaviour of escherichia coli. Commonwealth agricultural bureaux : farnham royal 1:63

stamm, w. E., and s. R. Norrby. 2001. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. J infect dis 183 suppl 1:s1-4

Stenutz, r., a. Weintraub, and g. Widmalm. 2006. The structures of escherichia coli o-polysaccharide antigens. Fems microbiol rev 30:382-403

Strachan, n. J., d. R. Fenlon, and i. D. Ogden. 2001. Modelling the vector pathway and infection of humans in an environmental outbreak of escherichia coli o157. Fems microbiol lett 203:69-73.

T

Tenaillon, o., d. Skurnik, b. Picard, and e. Denamur. 2010. The population genetics of commensal escherichia coli. Nat rev microbiol 8:207-17.

Touchon, m., c. Hoede, o. Tenaillon, v. Barbe, s. Baeriswyl, p. Bidet, e. Bingen, s. Bonacorsi, c. Bouchier, o. Bouvet, a. Calteau, h. Chiapello, o. Clermont, s. Cruveiller, a. Danchin, m. Diard, c. Dossat, m. E. Karoui, e. Frapy, l. Garry, j. M. Ghigo, a. M. Gilles, j. Johnson, c. Le bouguenec, m. Lescat, s. Mangenot, v. Martinez-jehanne, i. Matic, x. Nassif, s. Oztas, m. A. Petit, c. Pichon, z. Rouy, c. S. Ruf, d. Schneider, j. Turret, b. Vacherie, d. Vallenet, c. Medigue, e. P. Rocha, and e. Denamur. 2009. Organised genome dynamics in the escherichia coli species results in highly diverse adaptive paths. Plos genet 5:e1000344.

Tarr, p. I., c. A. Gordon, and w. L. Chandler. 2005. Shiga-toxin-producing escherichia coli and haemolytic uraemic syndrome. Lancet 365:1073-86.

Tostain j., a. C., blanc f., castro r., li g. 1999. Cystites aiguës et autres maladies inflammatoires bénignes de la vessie féminine. In : encycl. In : encycl. Med. Chir. Néphrologie-urologie. Elsevier ed, paris.:18-221-a-199 p.16.

W

wang, y., z. G. Wen, and k. S. Kim. 2004. Role of s fimbriae in escherichia coli k1 binding to brain microvascular endothelial cells in vitro and penetration into the central nervous system in vivo. *Microb pathog* 37:287-93.

Wong, t. L., s. Macdiarmid, and r. Cook. 2009. Salmonella, escherichia coli o157:h7 and e. Coli biotype 1 in a pilot survey of imported and new zealand pig meats. *Food microbiol* 26:177-82.

Wright, k. J., p. C. Seed, and s. J. Hultgren. 2005. Uropathogenic escherichia coli flagella aid in efficient urinary tract colonization. *Infect immun* 73:7657-68.

Y

Yasuda T 2010: Food safety regulation in the United States: An empirical and theoretical examination. In *Independent Review*, Vol.15,p.201-226.

site web

https://doc.rero.ch/record/4188/files/1_these_MirabaudMI.

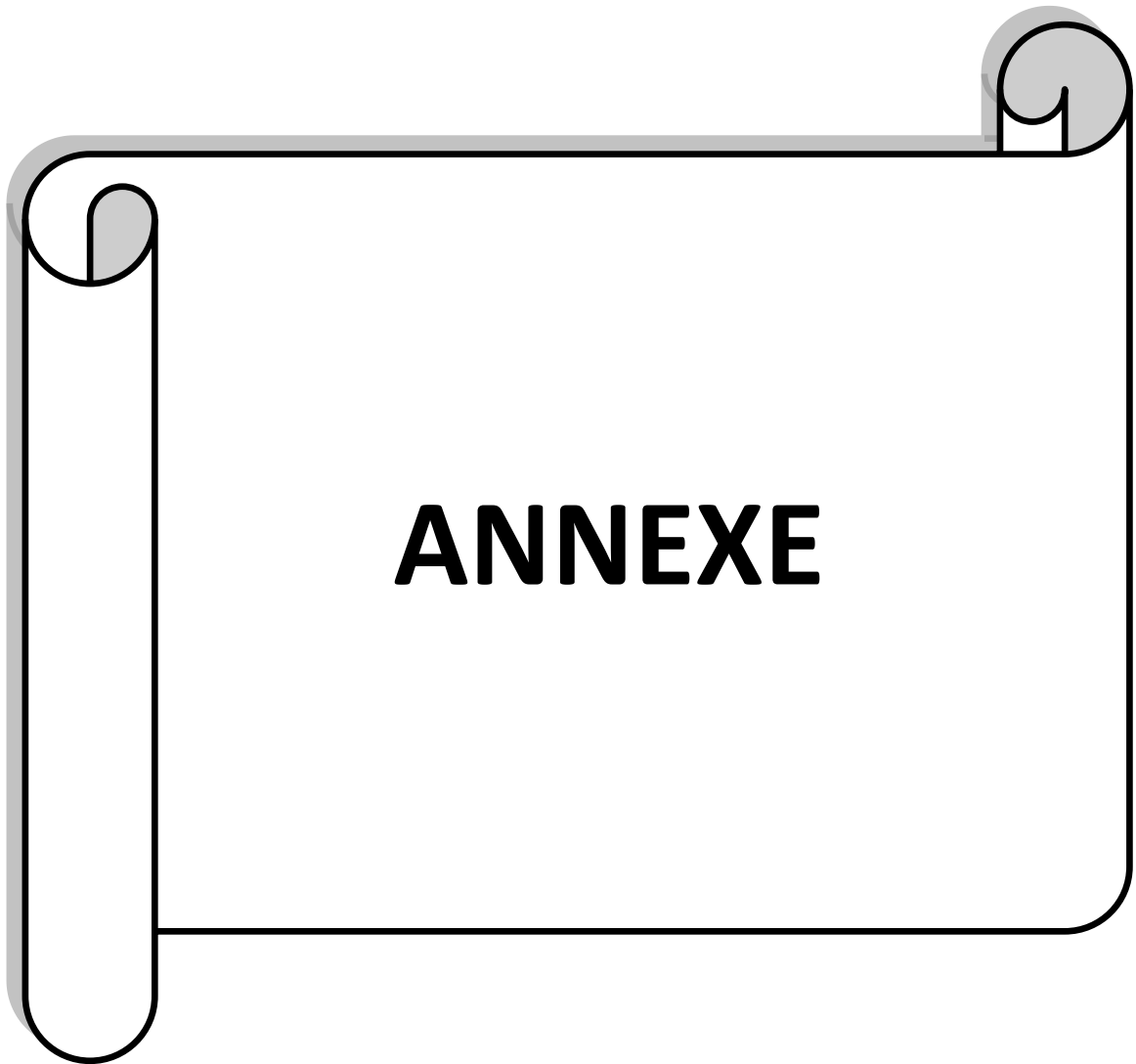


Tableau8: Les résultats de la différente analyse microbiologique

N	D PRLVT	D ANLYS	TYPE DE PRLVT	E COLI	Salmo	d'autre bact
1	17/02/2018	18/02/2018	PC à base des petit pois	-	-	cytro/pesudo
2	18/02/2018	19/02/2018	PC à base des lentilles	-	-	Pesudo
3	18/02/2018	19/02/2018	Purée	-	-	Pesudo
4	04/03/2018	05/03/2018	Purée	-	-	Pesudo
5	04/03/2018	05/03/2018	PC à base de poulet	-	-	protus/cytro
6	04/03/2018	05/03/2018	PC salade	-	-	cytro/pesudo
7	04/03/2018	05/03/2018	PC à base des légumes	-	-	Cytro
8	10/03/2018	11/03/2018	PC salade	-	-	Cytro
9	10/03/2018	11/03/2018	PC à base des petit pois	-	-	Protus
10	11/03/2018	12/03/2018	purée	-	-	Pesudo
11	13/03/2018	13/03/2018	PC salade	-	-	pesudo/cytro
12	13/03/2018	13/03/2018	créma pâtisserie	-	-	pesudo/cytro
13	13/03/2018	13/03/2018	mille feuilles vanille	-	-	pesudo/cytro
14	13/03/2018	13/03/2018	diplomate	-	-	pesudo/cytro
15	13/03/2018	13/03/2018	tarte au pomme	-	-	pesudo/cytro
16	13/03/2018	13/03/2018	brioche	-	-	pesudo/cytro
17	13/03/2018	13/03/2018	Quiche	-	-	pesudo/cytro
18	13/03/2018	13/03/2018	manchon	-	-	pesudo/cytro
19	13/03/2018	13/03/2018	Soupe	-	-	pesudo/cytro
20	13/03/2018	13/03/2018	PC salade	-	-	pesudo/cytro
21	13/03/2018	13/03/2018	légumes	-	-	pesudo/cytro
22	13/03/2018	13/03/2018	Pates	-	-	pesudo/cytro
23	13/03/2018	13/03/2018	Pizza	-	-	pesudo/protus/cytro
24	13/03/2018	13/03/2018	escalope	+	-	pesudo/protus
25	13/03/2018	13/03/2018	PC à base de courgette	-	-	pesudo/protus
26	13/03/2018	13/03/2018	soupe de légume	-	-	pesudo/protus
27	13/03/2018	13/03/2018	régime escalope	-	-	pesudo/protus
28	13/03/2018	13/03/2018	pate + escalope	+	-	pesudo/protus
29	13/03/2018	13/03/2018	soupe++escalope	-	-	pesudo/protus
30	13/03/2018	13/03/2018	tarte fraise	-	-	pesudo/protus
31	25/03/2018	25/03/2018	viande hache	+	-	pesudo/protus
32	25/03/2018	25/03/2018	escalope poulet	+	-	pesudo/protus
33	25/03/2018	26/03/2018	Abats	+	-	pesudo/protus
34	25/03/2018	26/03/2018	Margez	+	-	pesudo/protus
35	25/03/2018	26/03/2018	escalope dinde	+	-	pesudo/protus
36	31/03/2018	01/04/2018	Abats	+	-	pesudo/protus
37	31/03/2018	01/04/2018	escalope poulet	+	-	pesudo/protus

38	02/04/2018	02/04/2018	mhadjabe	-	-	<i>pesudo/protus</i>
39	02/04/2018	02/04/2018	complet poulet	-	-	<i>pesudo/protus</i>
40	03/04/2018	04/04/2018	Charcuterie	-	-	<i>pesudo/protus</i>
41	03/04/2018	04/04/2018	Margez	+	-	<i>pesudo/protus</i>
42	03/04/2018	04/04/2018	abats	+	-	<i>pesudo/protus</i>
43	03/04/2018	04/04/2018	abats	-	-	<i>pesudo/protus</i>
44	03/04/2018	04/04/2018	salade varier	+	-	<i>pesudo/protus</i>
45	03/04/2018	04/04/2018	salade pate	-	-	<i>pesudo/protus</i>
46	03/04/2018	04/04/2018	Salade	+	-	<i>pesudo/protus</i>
47	03/04/2018	04/04/2018	brochette fruit	-	-	<i>pesudo/protus</i>
48	03/04/2018	04/04/2018	pain cake	-	-	<i>pesudo/protus</i>
49	03/04/2018	04/04/2018	salade de fruit	-	-	<i>pesudo/protus</i>
50	03/04/2018	04/04/2018	génoise	-	-	<i>pesudo/protus</i>
51	03/04/2018	04/04/2018	viande congelé	+	-	<i>pesudo/protus</i>
52	08/04/2018	09/04/2018	Pate	+	-	<i>pesudo/protus</i>
53	08/04/2018	09/04/2018	salade	+	-	<i>pesudo/protus</i>
54	08/04/2018	09/04/2018	PC à base de viande	-	-	<i>pesudo/protus</i>
55	08/04/2018	09/04/2018	tchaktchoka	+	-	<i>pesudo/protus</i>
56	08/04/2018	09/04/2018	fritte omlet	+	-	<i>pesudo/protus</i>
57	08/04/2018	09/04/2018	salade varié	+	-	<i>pesudo/protus</i>
58	08/04/2018	09/04/2018	sandwich viande	+	-	<i>pesudo/protus</i>
59	08/04/2018	09/04/2018	sandwich chawarma	+	-	<i>pesudo/protus</i>
60	08/04/2018	09/04/2018	sandwich poulet	+	-	<i>pesudo/protus</i>
61	08/04/2018	09/04/2018	Flan	-	-	<i>pesudo/protus</i>
62	08/04/2018	09/04/2018	Royal	-	-	<i>pesudo/protus</i>
63	08/04/2018	09/04/2018	halwa smide	+	-	<i>pesudo/protus</i>
64	08/04/2018	09/04/2018	poisson	+	-	<i>pesudo/protus</i>
65	08/04/2018	09/04/2018	abats	+	-	<i>pesudo/protus</i>
66	09/04/2018	10/04/2018	Salade	+	-	<i>pesudo/protus</i>
67	09/04/2018	10/04/2018	Pâté	+	-	<i>pesudo/protus</i>
68	09/04/2018	10/04/2018	Riz	-	-	<i>pesudo/protus</i>
69	09/04/2018	10/04/2018	viande haché	+	-	<i>pesudo/protus</i>
70	09/04/2018	10/04/2018	viande haché dinde	+	-	<i>pesudo/protus</i>
71	09/04/2018	10/04/2018	calamar congelé	-	-	<i>pesudo/protus</i>
72	09/04/2018	10/04/2018	bâtonnet de poisson	-	-	<i>pesudo/protus</i>
73	10/04/2018	11/04/2018	PC à base de poulet	+	-	<i>pesudo/protus</i>
74	10/04/2018	11/04/2018	Salade	+	-	<i>pesudo/protus/cytro</i>
75	10/04/2018	11/04/2018	tajin zitoun	-	-	<i>pesudo/protus</i>
76	10/04/2018	11/04/2018	pc à base de légume	+	-	<i>pesudo/protus</i>
77	11/04/2018	12/04/2018	Salade	+	-	<i>pesudo/protus</i>
78	11/04/2018	12/04/2018	PC à base de pois	-	-	<i>pesudo/protus</i>

79	15/04/2018	16/04/2018	salade	+	-	<i>pesudo/protus</i>
80	15/04/2018	16/04/2018	Puré	+	-	<i>pesudo/protus</i>
81	15/04/2018	16/04/2018	salade varier	-	-	<i>pesudo/protus</i>
82	15/04/2018	16/04/2018	salade varier	-	-	<i>pesudo/protus</i>
83	15/04/2018	16/04/2018	Bourak	-	-	<i>pesudo/protus</i>
84	15/04/2018	16/04/2018	mini berguer paté	-	-	<i>pesudo/protus</i>
85	15/04/2018	16/04/2018	Pizza	-	-	<i>pesudo/protus</i>
86	15/04/2018	16/04/2018	pizza couvert	+	-	<i>pesudo/protus</i>
87	15/04/2018	16/04/2018	garantita	-	-	<i>pesudo/protus</i>
88	15/04/2018	16/04/2018	fritte chektchouka	+	-	<i>pesudo/protus</i>
89	15/04/2018	16/04/2018	fritte chektchouka fromage	-	-	<i>Pesudo</i>
90	15/04/2018	16/04/2018	pc à base des œufs	-	-	<i>Pesudo</i>
91	15/04/2018	16/04/2018	indommé	-	-	<i>Pesudo</i>
92	15/04/2018	16/04/2018	chiwawa	-	-	<i>Pesudo</i>
93	15/04/2018	16/04/2018	djeldjlania	-	-	<i>Pesudo</i>
94	15/04/2018	16/04/2018	Nouga	-	-	<i>Pesudo</i>
95	15/04/2018	16/04/2018	halwat turque	-	-	<i>Pesudo</i>
96	15/04/2018	16/04/2018	Chips	-	-	<i>Pesudo</i>
97	15/04/2018	16/04/2018	Beur	-	-	<i>Pesudo</i>
98	15/04/2018	16/04/2018	Beur	+	-	<i>Pesudo</i>
99	15/04/2018	16/04/2018	viande haché	+	-	<i>Pesudo</i>
100	15/04/2018	16/04/2018	les échoie	+	-	<i>Pesudo</i>

Abréviations:

D PRLVT : date de prélèvement *pseudo* : *pseudomenace*

D ANLYS : date d'analyse *protus* : *proteus*

E COLI : *Escherichia coli* *cytro* : *cytrobactaire* *Salmo* : *salmonella*

Annexe2 : milieu chromogène

- **PRÉPARATION :**

Mettre en suspension 26,4 grammes du milieu dans un litre d'eau distillée. Bien mélanger et dissoudre en chauffant avec une agitation fréquente. Faire bouillir pendant une minute jusqu'à dissolution complète. ÉVITEZ LA SURCHAUFFE. NE PAS AUTOCLAVER. Laisser refroidir à 45-50 ° C et distribuer dans des boîtes de Pétri. Le milieu préparé doit être conservé à 8-15 ° C. La couleur du milieu préparé est l'ambre.

Le milieu déshydraté doit être homogène, fluide et de couleur beige. S'il y a des modifications physiques, jetez le support.

- **LES USAGES :**

E.COLI-COLIFORMS CHROMOGENIC MEDIUM est un milieu sélectif pour la détection de E. coli et d'autres coliformes dans les eaux et les aliments.

L'interaction des ingrédients dans le milieu, tels que la peptone, le sorbitol, etc., permet une croissance rapide des colonies, y compris des coliformes infectieux. Tergitol-7 inhibe les bactéries à Gram positif. Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique et le phosphate est le tampon. La gélose bactériologique est l'agent de solidification. Le mélange chromogène contient des substrats chromogènes tels que Salmon-GAL et X-glucuronide. Les enzymes coliformes produites, telles que la galactosidase et la glucuronidase, clivent ces substrats, entraînant une coloration différente de certaines colonies de bactéries.

La β -D-galactosidase clive le substrat Salmon-GAL et donne une couleur rouge saumon aux colonies de coliformes.

E. coli clive les substrats Salmon-Gal et X-glucuronide, donnant aux colonies une couleur bleu foncé à violette, facilement distinguable des autres colonies de coliformes qui ont une couleur saumon à rouge.

L'ajout de tryptophane au milieu permet la réalisation du test d'Indole pour une confirmation supplémentaire d'E. coli.

Inoculer et incuber à 35 ± 2 ° C pendant 18 à 24 heures.

- **ESSAI MICROBIOLOGIQUE :**

Les résultats suivants ont été obtenus dans la performance du milieu à partir de cultures de type après incubation à une température de 35 ± 2 ° C et observés après 18 à 24 heures.

Microorganisms	Croissance	Couleur de la colonie
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bien	Bleu-violet foncé
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775	Bien	Bleu-violet foncé
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	Bien	Saumon
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Bien	Incolore
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Null	-

Note: Certaines souches de *Shigella* contiennent l'enzyme β -D-glucuronidase et peuvent produire des colonies bleues claires.