

**République Algérienne Démocratique Et Populaire**  
Ministère De L'enseignement Supérieure Et De La Recherche Scientifique  
Université Blida 1



Faculté Des Science De La Nature Et De La Vie  
Département Agroalimentaire

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master en

**Spécialité : Sécurité alimentaire et assurance qualité**

**Filière : science alimentaire**

**Domaine : science de la nature et de la vie**

**Etude microbiologique des fruits à coque commercialisés au niveau de la  
région de Blida**

**Présenté par : BOUBEKER Zaineb**

BRIKI Nasrine

**Devant le jury :**

**Dr: BENLEMANE. S**

**MCB**

**U Blida 1**

**présidente**

**Mr: AMALOU. D**

**MAA**

**U Blida 1**

**Examineur**

**Dr: AOUES. K**

**MCA**

**U Blida 1**

**promotrice**

**2020 – 2021**

## **Remerciements**

Nous remercions DIEU, le tout puissant, de nous avoir ouvert les portes du savoir et nous avoir donnés la force, la patience et le courage afin de parvenir à terminer ce travail.

Nous tenons, par la suite, à exprimer toute notre gratitude et nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail :

A notre promotrice Dr AOUES K, pour sa patience, sa disponibilité, son aide précieuse, ses orientations, et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à nos réflexions.

Nous remercions Dr AOUES K (encore une fois) non seulement pour son soutien moral et professionnel pendant la mémoire, mais aussi pendant toutes les années d'études.

A Dr BENLEMANE.S qui m'a fait l'honneur de présider le jury et Mr AMALOU. D d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nos vifs remerciements à Mr. RAMDHANE S, pour sa gentillesse, ses aides, sa bienveillance et ses précieux conseils.

Nous remercions également tous mes honorables enseignants.

Nous tenons cordialement à exprimer notre profonde et respectueuse reconnaissance :

A l'ensemble des responsables et du personnel du laboratoire de la répression des fraudes – Blida-, en particulier ; Houda et Manel, pour leur gentillesse, leur soutien et pour le fait de nous avoir fait partager leur expérience. Nous leur adressons toute notre reconnaissance pour leur patience, leur disponibilité et de nous avoir bien accueillies et aidés et facilités notre travail.

Nos remerciements vont également à l'ensemble des ingénieurs du laboratoire agroalimentaire de l'université de BLIDA.

Merci à tous ceux qui, par leur sourire, leur parole, leur présence et leur affection, nous ont permis de mener jusqu'au bout ce travail.

## Dédicace

Je dédie ce modeste travail:

A mon très cher père BOUBEKER Tayeb, vous avez toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse .Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployé pour mon éducation.

A ma mère SADOUDI Rachida, je voudrais vous remercier pour ton amour, ta compréhension. Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saura exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

A ma sœur Meriem, Aucune dédicace ne peut exprimer mon amour et ma gratitude de t'avoir comme sœur. Je t'estime beaucoup et je t'aime beaucoup. Je te souhaite beaucoup de succès, de prospérité et une vie pleine de joie et de bonheur.

A ma petite adorable sœur Halla que j'aime beaucoup. Je lui souhaite une bonne santé et une vie pleine de joie et de bonheur.

A mes chers frères Mohammed et Abdellah pour leur appui, leur soutien moral et leurs encouragements permanentes.

A ma chère grand-mère pour toute l'affection qu'elle m'a donnée et pour son précieux encouragement.

A mes oncles en particulier Ali et Abdelkarim, et mes tantes pour leur soutien et leur tendresse.

A mes cousins et mes cousines en particulier les adorables Asil et Rahil.

A toute ma famille et mes proches qui m'ont soutenue de près ou de loin.

A ma chère amie Chiraz qui a fait preuve de la véritable amitié, je te remercie pour tous les beaux souvenirs que nous avons eus ensemble.

A mes adorables amies, Ibtissam, Amel, Bochra et Farah, je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur que je peux compter. Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A ma chère amie et ma binôme Nesrine Briki qui je l'aime tant. Merci beaucoup pour la merveilleuse amitié qui nous a liées pendant les cinq années que nous avons passées à l'université. Je te souhaite une vie pleine de bonheur, de joie et de succès.

A la mémoire de ma chère grand-mère HADJBOURAKAA Zineb, que Dieu, le tout puissant, lui accorde son miséricorde et l'accueille en son vaste paradis.

**Zineb**

## **Dédicace**

A l'homme de ma vie, pour ses efforts et ses sacrifices durant toute ma vie, ses encouragements et soutien pour me persévérer jusqu'à l'aboutissement de ce travail, à toi mon père (Ahmed).  
A maman (TIRANIME Aicha) pour son amour qu'elle m'a toujours accordé, en témoignage de ma reconnaissance envers sa confiance, ses sacrifices et sa tendresse.

A mes chers frères Bellal et Sohaib. Je leur souhaite une vie pleine de joie, de réussite, de bonheur et de la sérénité.

A mon neveu Iyad et mes nièces Sirine et Dania que j'aime tant, je leur souhaite un avenir plein de joie et de réussite.

A mes belles sœurs Selma et Narimane, merci pour votre amour et votre soutien.

A mes chères Marwa, Amina et tous ses enfants, je vous aime beaucoup et merci pour votre soutien moral.

A mes oncles, tantes, cousin, cousines et tous les membres de ma grande et aimable famille qui m'ont toujours soutenu.

A mes chères amies, Hiyam, Bouchra, Amel, Ibtissem, Loubna, Firouz pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

A ma chère binôme Zineb que j'aime beaucoup, qui m'a accompagné tout au long de mon parcours universitaire, et nous avons passé de beaux moments ensemble.

**Nasrine.**

## Résumé

L'objectif de cette étude préliminaire sur les fruits à coque commercialisés dans la wilaya de Blida est d'évaluer leur qualité microbiologique, par le dénombrement des microorganismes d'intérêt hygiéniques et par la recherche des microorganismes d'altération notamment les moisissures. Ce travail a été réalisé durant la saison printanière (ramadan, et aide al fitr) de l'année 2021. Au total 22 échantillons de fruits à coque (amandes, cacahuètes, pistaches), prélevés et choisis selon les résultats d'une enquête sur terrain sur les espèces des fruits à coque les plus consommés par les habitants de la wilaya de Blida. Les échantillons ont été prélevés au niveau des différents points de vente, à savoir les grandes surfaces, les détaillants et les marchés de Cinq villes de Blida : Ouled yaich, Beni mered, treize mai, Bouinan, Oued el alleug.

Les résultats de l'analyse microbiologique ont permis de classer 81.81 % des échantillons de fruits à coque conformes aux critères réglementaires, tandis que 18.18 % sont non-conformes. (3/22) des échantillons analysés sont contaminés par *E. Coli*. La présence de ce pathogène est probablement due au non-respect des conditions d'hygiène des manipulateurs, de l'équipement et/ou mauvaises conditions de stockage. 68% des échantillons sont contaminés par les moisissures principalement représenté par le genre *Aspergillus*, 13% de ces échantillons contaminés dépassent la limite de la réglementation qui est de l'ordre ( $10^3$ UFC/g). La présence de ces pathogènes incrimine le mauvais séchage des fruits à coque avant l'entreposage et/ou les mauvaises conditions de stockage.

**Mots clés :** Fruits à coque, Qualité microbiologique, Risque sanitaire, contamination, Blida.

## الملخص

إنّ الهدف من هذه الدراسة الأولى على المكسرات التي يتم تسويقها على مستوى ولاية البلدية يتمثل في تقييم جودتها الميكروبيولوجية ، من خلال إحصاء الكائنات الحية الدقيقة ذات الأهمية الصحية كالعفن .تم القيام بهذا العمل خلال فصل الربيع (شهر رمضان و عيد الفطر) من عام 2021. حيث قمنا بتجميع 22 عيّنة من المكسرات (لوز ،فول سوداني ،فستق حلبي)، هذه العينات تم انتقاؤها وفقا لنتائج مسح ميداني للمكسرات الأكثر استهلاكا من طرف سگان ولاية البلدية ، وأخذت من نقاط بيع مختلفة (محلات ، أسواق ، تجار التجزئة ، السوبر ماركت ) من خمس بلديات وأحياء في الولاية وهي :أولاد يعيش ، بني مراد ، حي 13 ماي ، بوينان ، وادي العلايق.

صنفت نتائج التحليل الميكروبيولوجي 81،81% من عينات المكسرات على أنها مطابقة للمعايير التنظيمية ،بينما 18،18% المتبقية كانت غير مطابقة للمعايير.

3/22 من العينات الغير مطابقة لمعايير الجودة و السلامة كانت ملوثة ببكتيريا ايشيريشيا كولي. إنّ وجود هذه العوامل الممرضة تشير إلى عدم احترام شروط النظافة بالنسبة الى العمال و المعدات والوسائل المستعملة وشروط التخزين 68% من العينات ملوثة سببها العفن بما في ذلك الرشاشيات، 13% من هذه العينات تتجاوز الحد التنظيمي، وهو حوالي (10<sup>3</sup> وت م /ج). إنّ وجود هذه العوامل الممرضة سببها سوء تجفيف المكسرات قبل التخزين وكذلك ظروف التخزين السيئة.

**كلمات مفتاحية:** المكسرات ، الجودة ، الميكروبيولوجية ، المخاطر الصحية، التلوث، البلدية ، الجزائر.

## Abstract

The objective of this preliminary study on nuts marketed in Blida state is to assess their microbiological quality, by enumerating microorganisms of hygienic interest and by investigating spoilage microorganisms, particularly the moulds. This work was carried out during the spring season (Ramadan and Eid al-Fitr) of 2021. A total of 22 samples of nuts (almonds, peanuts, pistachios), taken and selected according to the results of a field survey on the species of nuts most consumed by the inhabitants of the Blida state. The samples were taken at the various points of sale, namely the supermarkets, retailers and markets of five cities of Blida: Ouled yaich, Beni mered, 13May, Bouinan, Oued el alleug.

The results of the microbiological analysis resulted in 81.81% of the nuts samples meeting the regulatory criteria, while 18.18% were non-compliant. (3/22) of the samples tested were contaminated with *E.coli*. The presence of these pathogens indicates non-compliance with hygienic conditions, the origin of which is due to the manipulator, equipment and/or storage. 68% of our samples were contaminated with *Aspergillus* mould. 13% of these contaminated samples exceed the regulatory limit ( $10^3$ CFU/g). The presence of these pathogens incriminates the improperly drying of nuts before storage or/and the poor storage conditions.

**Keywords:** Nuts, Microbiological quality, Health risk, contamination, Blida, Algeria.

## Sommaire

<b>Introduction .....</b>	<b>17</b>
---------------------------	-----------

### **Synthèse bibliographique** **Chapitre I : généralité sur les fruit à coque**

1.1	Définition .....	21
1.2	Les principaux fruits à coque comestibles commercialisés .....	21
➤	L'amande .....	21
➤	La pistache .....	22
➤	L'arachide .....	22
➤	La noix de Pécan .....	23
➤	La noix de cajou .....	23
➤	La noisette .....	24
➤	La noix .....	24
➤	La noix de macadamia .....	24
➤	La noix de Brésil .....	25
1.3	Les fruits à coque et l'économie mondiale .....	25
1.3.1	La production et son évolution .....	25
1.3.2	La consommation .....	26
1.4	La qualité nutritionnelle des fruits à coque .....	27
1.5	L'effet thérapeutique .....	32
1.6	L'effet indésirable d'une surconsommation des fruits à coque .....	33
1.6.1	Les réactions allergiques .....	33
1.6.2	Les Problèmes gastro-intestinaux .....	33

### **Chapitre II : la microbiologie de fruit a coque**

2.1	La microflore des fruits à coque .....	35
2.1.1	Les moisissures .....	35
2.1.1.1	Les Conditions de développement des moisissures .....	35
•	L'activité de l'eau .....	35
•	Le taux d'oxygène .....	35
•	Le PH .....	36
•	La lumière .....	36
•	La température .....	36
•	La présence d'insectes .....	36



2.1.1.2	Stade de contamination des fruits à coque par les moisissures .....	36
2.1.1.3	Les principaux genres fongiques .....	37
➤	Le genre <i>Aspergillus</i> .....	37
➤	Le genre <i>Fusarium</i> .....	38
➤	Le genre <i>Penicillium</i> .....	39
2.1.2	Les bactéries .....	39
2.1.2.1	Stade contamination des fruits à coque par les bactéries .....	39
2.1.2.2	Les principaux genres bactériens .....	40
•	Le genre <i>Escherichia coli</i> .....	40
•	Le genre <i>Salmonella</i> .....	40
•	Le genre <i>Staphylococcus</i> .....	40
•	Le genre <i>Streptococcus</i> .....	41
•	Le genre <i>Bacillus</i> .....	41
•	Le genre <i>Micrococcus</i> .....	41
•	Le genre <i>Pseudomonas</i> .....	42
•	Le genre <i>Achromobacter</i> .....	42
•	Le genre <i>Brevibacterium</i> .....	42
2.2	Effet des microorganismes sur la qualité et la sécurité des fruits à coque : .....	42
➤	Sur la qualité organoleptique et nutritionnelle .....	42
➤	Sur la qualité sanitaire .....	43
•	Les Principaux problèmes de sécurité sanitaire .....	43
❖	Bactéries pathogènes : .....	43
❖	Aflatoxine .....	43

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre I : Matériel et Méthodes**

1.1	Lieux d'étude .....	47
1.2	Objectif de ce travail .....	48
1.3	Enquête socio-économique sur la consommation des fruits à coque à Blida .....	48
1.4	Matériel .....	49
1.4.1	Biologique .....	49
1.4.1.1	Echantillonnage .....	49
1.4.2	Non-biologique : .....	49
1.5	Méthodes .....	50
1.5.1	Analyse microbiologique .....	50

1.5.1.1	Préparation de l'échantillon .....	50
I.5.1.1.1	Préparation de la suspension mère .....	51
I.5.1.1.2	Préparation des dilutions décimales .....	51
1.5.1.2	Recherche des microorganismes .....	51
I.5.1.2.1	Types de germes recherchés .....	51
I.5.1.2.2	Recherche et dénombrement d' <i>Escherichia coli</i> .....	52
I.5.1.2.3	Dénombrement et identification de la flore fongique : .....	55
1.5.1.2.3.1	Dénombrement des moisissures .....	55
1.5.1.2.3.2	Identification des moisissures .....	56
➤	Etudes des caractères cultureux (macroscopiques) .....	56
➤	Etudes des caractères microscopiques .....	56
I.5.1.2.4	Recherche de salmonella .....	56

## **Chapitre II : Résultats et discussion**

2.1	Résultats de l'Enquête socio-économique .....	60
2.2	Résultats d'Analyse microbiologique .....	61
2.3	Identifications des genres fongiques .....	65
2.3.1	Identification macroscopique .....	65
2.3.2	Identification microscopique .....	65
2.4	Evaluation de la non-conformité globale .....	68
	<b>Conclusion</b> .....	<b>73</b>
	<b>Référence</b> .....	<b>76</b>
	<b>Annexe</b> .....	<b>85</b>

## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b>	<i>Prunus dulcis</i> .....	21
<b>Figure 02 :</b>	<i>Pistacia vera</i> .....	22
<b>Figure 03 :</b>	<i>A.hypogaea</i> .....	22
<b>Figure 04 :</b>	<i>Carya illinoensis</i> .....	23
<b>Figure 05 :</b>	<i>Anacardium occidentale</i> .....	23
<b>Figure 06 :</b>	<i>Corylusavellana</i> . .....	24
<b>Figure 07 :</b>	<i>Juglansregia</i> .....	24
<b>Figure 08 :</b>	<i>Macadamia integrifolia</i> .....	24
<b>Figure 09 :</b>	<i>Bertholletia excelsa</i> .....	25
<b>Figure 10 :</b>	Evolution de la production mondiale des fruits à coques entre 2009 et 2020..	26
<b>Figure 11 :</b>	Production mondiale des fruits à coque de la saison 2019/2020 (tonne métrique).....	26
<b>Figure 12 :</b>	La consommation mondiale du fruit a coque en 2018 (tonne métrique).....	27
<b>Figure 13 :</b>	Une colonie d' <i>Aspergillus flavus</i> .....	37
<b>Figure 14 :</b>	Observation microscopique d' <i>Aspergillus flavus</i> . .....	37
<b>Figure 15 :</b>	Des colonies d' <i>Aspergillus niger</i> .....	38
<b>Figure 16 :</b>	Observation microscopique d' <i>Aspergillus niger</i> .....	38
<b>Figure 17 :</b>	Colonie de <i>Fusarium</i> .....	38
<b>Figure 18 :</b>	Observation microscopique de <i>Fusarium</i> .....	38
<b>Figure 19 :</b>	Une colonie de <i>Penicillium Crustosum</i> . .....	39
<b>Figure 20 :</b>	Observation microscopique de <i>Penicillium crustosum</i> .....	39
<b>Figure 21 :</b>	Position du laboratoire de la répression des fraudes Blida (DiarElbahri- Beni Mered) (GOOGLE MAPS).....	48
<b>Figure 22 :</b>	Méthode de la préparation de la solution mère et des dilutions décimales.....	51
<b>Figure 23 :</b>	Méthode d'analyse microbiologique d' <i>Escherichia coli</i> .....	54
<b>Figure 24 :</b>	Méthode de recherche et dénombrement des moisissures.....	55
<b>Figure 25 :</b>	Méthode de recherche de <i>salmonella</i> .....	58
<b>Figure 26 :</b>	La fréquence de consommation du fruit a coque à Blida.....	60
<b>Figure 27 :</b>	Les types de fruit a coque les plus consommer à Blida.....	61
<b>Figure 28 :</b>	Résultats de l'analyse microbiologique des échantillons d'arachide en UFC/g..	62
<b>Figure 29 :</b>	Résultats du dénombrement de moisissures des échantillons d'arachide enUFC/g.....	62
<b>Figure 30 :</b>	Résultats de l'analyse microbiologique des échantillons d'amande en UFC/g..	63

<b>Figure 31 :</b>	Résultats du dénombrement de moisissures des échantillons d'amande en UFC/g.....	63
<b>Figure 32 :</b>	Résultats de l'analyse microbiologique des échantillons de pistache en UFC/g.....	64
<b>Figure 33 :</b>	Résultats du dénombrement de moisissures des échantillons de pistache en UFC/g.....	64
<b>Figure 34 :</b>	Résultats du dénombrement d' <i>E. coli</i> des échantillons de pistache en UFC/g.	65
<b>Figure 35 :</b>	La non-conformité globale .....	68
<b>Figure 36 :</b>	Répartition des échantillons de fruit à coque par classe de conformité .....	68

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b>	Composition et caractéristiques nutritionnelles de quelques fruits à coque, les données se réfèrent a une portion comestibles de 100g.....	29
<b>Tableau 02</b>	Composition en minéraux de quelques fruits à coque, les données se réfèrent a une portion comestible de 100g.....	30
<b>Tableau 03</b>	Composition en vitamines de quelques fruits à coque, les données se réfèrent a une portion comestible de 100g. ....	31
<b>Tableau 04</b>	(JORA N°39 de 2 juillet 2017).....	52
<b>Tableau 05</b>	Caractères macroscopiques des souches de moisissures isolées à partir des échantillons des fruits à coque (arachides, amandes, pistaches).....	66
<b>Tableau 06</b>	Caractères microscopiques des souches de moisissures isolées à partir des échantillons des fruits à coque (arachides, amandes, pistaches).....	67

## Liste des abréviations

<b>INC:</b>	International Nut And Dried Fruit Council.
<b>g :</b>	Gramme.
<b>mg :</b>	Milligramme.
<b>µg :</b>	Microgramme.
<b>KJ :</b>	Kilojoule.
<b>Kcal :</b>	Kilocalorie.
<b>HDL :</b>	High density lipoprotein.
<b>LDL :</b>	Low density lipoprotein.
<b>Aw :</b>	L'activité De l'eau.
<b>UFC :</b>	Unité formatrice de colonie.
<b>NPP :</b>	Le nombre le plus probable.
<b>C° :</b>	Le degré Celsius.
<b>PH :</b>	Le potentiel hydrogène.
<b>Na Cl :</b>	Le chlorure de sodium.
<b>µm :</b>	Micromètre.
<b>JORA :</b>	Journal officiel de la république algérienne.
<b>ml :</b>	Millilitre.
<b>IANOR :</b>	Institut algérien de normalisation.
<b>h :</b>	L'heure.
<b>E coli :</b>	<i>Escherichia coli</i> .
<b>V :</b>	Volume.
<b>Fd :</b>	taux de dilution correspondant à la dilution la plus faible.

<b>N :</b>	Nombres de colonies.
<b><math>\Sigma c</math> :</b>	Somme totale de colonies comptées sur les boites retenues.
<b>d :</b>	Dilution à partir de laquelle les dénombrements sont obtenus.
<b>DC :</b>	Double concentration.
<b>SC :</b>	Simple concentration.
<b>AR :</b>	Arachide.
<b>AM :</b>	Amande.
<b>PS :</b>	Pistache.
<b>MKTTn :</b>	Le milieu muller- kauffmann au tétra thionate- novobiocine.
<b>XLD :</b>	Gélose xylose lysine désoxycholate.
<b>RVS :</b>	Le milieu de rappaport-vassiliadis avec soja.
<b>DG18 :</b>	Dichloron à 18% (concentration en masse) de glycérol.
<b>EC:</b>	Bouillon pour <i>Escherichia coli</i> .
<b>EPT:</b>	Eau peptonée tamponnée.
<b>HACCP:</b>	Hazard analysis critical control point.
<b>TSE:</b>	Tryptone sel eau.

# **Introduction**



## Introduction

Les fruits à coque font partie de l'alimentation humaine depuis la préhistoire (**Alasalvar et al, 2020**), et constituent une partie importante de l'alimentation quotidienne pour la plupart des gens dans le monde (**INC, 2020 ; Kumawat et al, 2017**). Cette denrée alimentaire a une qualité organoleptique très apprécié (**Kurzawa et Ehrke, 2014**), et une excellente qualité nutritionnelle vue leur richesse en acide gras essentiel, fibres, protéines, minéraux, vitamines et substances végétales secondaires. Ils contiennent aussi une quantité considérable d'acide aminé appelé leucine (**Alasalvar et al, 2020**). Plusieurs travaux de recherche ont démontrés leur importance dans la santé humaine ou ils prévoient de nombreuses maladies. (**Kumawat et al, 2017**).

Malgré que l'activité de l'eau exigé par la plupart des microorganismes pathogènes est supérieure à 0,95 et que les fruits à coque sont connus pour leur faible teneur en eau, plusieurs épidémies associés à la consommation des fruits à coques ont été constatés (**Gould et al, 2013**). Selon **Marín et al en 2016**, l'eau, l'équipement contaminé, le non-respect de l'hygiène par le personnel peut être l'origine de cette contamination.

Par ailleurs, la richesse en nutriment des fruits à coque rend cet aliment très vulnérables et propices à des contaminations par des champignons en raison de mauvaises conditions, météorologiques, environnementales et du stockage (**Brar et Danyluk, 2018**), ces germes sont des agents responsables de graves intoxications humaines et animales, en raison de leur capacité à produire des substances hautement toxiques qui sont reconnues pour leurs caractères cancérigènes, immunosuppresseurs, oestrogènes, tératogènes etc (**Dragacci et al, 2011**).

En Algérie, Les fruits à coque sont généralement vendus en vrac dans les snacks et les épicerie à température ambiante, et ils sont vendus aussi décortiqués dans la rue. Ces pratiques sont des conditions optimales pour le développement de ces microorganismes, ce qui constitue un sérieux problème pour la santé humaine. Pour cette raison, cette étude a été conçue pour évaluer la qualité microbiologique, et hygiénique des fruits à coque commercialisés dans notre wilaya 'Blida'.

Le présent document est structuré en deux parties :

1. Une partie bibliographique : cette partie est composée de deux chapitres, pour le premier chapitre nous avons présentés une étude générale sur les fruits à coque, et pour le deuxième chapitre, nous avons discutés la qualité microbiologique de ce dernier.

2. Partie expérimentale : cette partie est composée de deux chapitres, le premier chapitre a été réalisé autour de deux axes : l'un repose sur une enquête socio-économique nous

permettant de recenser et cibler pour l'étude microbiologique les variétés des fruits à coque les plus consommés ; l'autre consiste à faire une évaluation de la qualité hygiénique des fruits à coque , par le dénombrement des microorganismes d'intérêt hygiéniques et par la recherche des microorganismes pathogènes, notamment les *salmonelles* et les moisissures. Le deuxième chapitre inclue les résultats de l'enquête socioéconomique et les résultats de l'étude microbiologique obtenus après l'analyse réalisé ainsi que leurs interprétations, discussion, conclusion et perspectives.

# **Synthèse**

# **Bibliographique**

# **Chapitre I**

## **Généralités sur les fruits à coque**

## 1.1 Définition

Fruit à coque est un nom complexe qui se compose de deux mots :

Fruit du latin *fructus*, c'est un produit végétal qui succède à la fleur, ce produit comestible est consommé comme dessert (Bouillet, 1884 ; Larousse, 2001). Coque du latin *cocum* c'est un enveloppe extérieure, qui se séparent les unes des autres à la maturité, qu'elles soient déhiscentes ou non (Orbigny, 1846 ; Larousse, 2001).

"Fruit à Coque" on l'appelle aussi fruit à écale (Shell-fruit ou nuts en anglais), c'est la dénomination commerciale normale des fruits dont les grains sont entourés d'une coquille dure, principalement ligneuse, et dont les grains sont propres à la consommation humaine (Kurzawa et Ehrke, 2014).

Les fruits à coque ne sont pas toujours des noix car au sens botanique: une noix est définie comme un fruit d'angiosperme, sèche indéhiscente à une seule graine, avec un péricarpe dur, c'est-à-dire qu'elle ne s'ouvre pas spontanément pour libérer la graine (Maestri et al, 2018). Considérant cela, les noisettes (*Corylus*), les fagacées, les hêtres (*Fagus*), et les glands (*Quercus*), sont les vraie noix (Wickens, 1995).

Donc : fruit à coque est le terme utilisé de façon lâche à tout fruit ou graine ligneux, comme la noix (drupe de *Juglans Juglandaceae*), la noix du Brésil (graine de *Bertholletia excelsa*, *Lecythidaceae*) ou l'arachide (légumineuse indéhiscente d'*Arachis hypogaea*, *Leguminosae* sous-famille *Papilionoideae*) (Wickens, 1995).

## 1.2 Les principaux fruits à coque comestibles commercialisés

- L'amande

L'Amande ou (Almond en anglais), est le fruit de l'amandier (*Prunus dulcis*) originaire de la région climatique méditerranéenne du Moyen-Orient de Pakistan, Syrie, Turquie, et d'autres régions d'Asie Mineure (Casas-Agustench et al, 2011).



L'Amande est une drupe ovoïde, verte, couverte de poils soyeux et blanchâtres. Lorsqu'elle arrive à maturité, le

Figure 01. *Prunus dulcis* (INC, 2020)

mésocarpe charnu devient sec, puis se détache et s'ouvre en deux valves en libérant le noyau, ce qu'on appelle vulgairement l'amande, c'est à dire l'endocarpe ligneux, rugueux, marqué de trous irréguliers, recouvrant une graine, c'est lui qui fournit la partie comestible (**Dujardin-Beaumetz et al, 1889**). Les graines sont ovales, asymétriques, aplaties, aiguës à une extrémité et arrondies à l'autre, entourées de la peau, également appelée tégument, qui est une enveloppe épaisse et brune, un peu rugueuse avec des stries assez visibles (**Maestre Pérez, 2021**).

- **La pistache**

La pistache ou (Pistachio en anglais), est le fruit du pistachier (*Pistaciavera*), originaire de l'Asie centrale, y compris le nord-est de l'Inde, l'Afghanistan, le Tadjikistan, l'Ouzbékistan; et le Proche-Orient, qui couvre le Caucase, l'Iran et la région montagneuse du Turkménistan (**Casas-Agustench et al, 2011**).



**Figure 02.** *Pistaciavera*  
(INC, 2020)

La pistache est une drupe à péricarpe sec, exocarpe mince et sec et un endocarpe dures, lisses et peu épaisses qui forme une coque qui s'ouvre en deux valves qui couvrent une graine, cette dernière possède un seul embryon, les cotylédons sont volumineux de teinte verte, l'épiderme de la graine est de couleur brune, à reflets rosâtres (**Evreinoff, 1955**).

- **L'arachide**

L'arachide (en anglais Peanut ou Groundnut), est le fruit d'une plante herbacée annuelle originaire du bassin amazonien où sont localisées toutes les espèces du genre *Arachis*, parmi lesquelles seule *A. hypogaea* a été durablement domestiquée, elle est cultivée partout dans le monde entre 40°N et 40°S (**Hekimian Lethève et al, 2009**).



**Figure 03.** *A.hypogaea*  
(INC, 2020)

L'arachide appartient au genre *Arachis*, de la famille des légumineuses (*Fabaceae*). Son nom scientifique est *Arachis hypogea*, cette plante varie de 30 à 50 cm de hauteur,

Pendant la croissance la tige de la fleur d'arachide se plie, ce qui fait entrer la fleur en contact

avec le sol finalement forcé son chemin sous terre. Gousses de fruits, veinées brunes, se développent sous la terre.

Les gousses mesurent de 3 à 7 cm de long et contiennent un certain nombre de graines qui on appelle cacahuète (**Calhoun, 2013**).

- **La noix de Pécan**

La noix de pécan (pecan nut en anglais), est le fruit du pacanier (*Carya illinoensis*), originaire des États-Unis et du Mexique, mais lorsqu'elle est devenue populaire, elle a déclenché sa culture dans plusieurs pays, comme l'Uruguay, l'Argentine, le Chili, le Pérou, le Brésil, la Chine, l'Afrique du Sud et l'Australie (**Bilharva et al, 2018**).



**Figure 04.** *Carya illinoensis* (INC, 2020)

La pacane est composée d'une graine (amande) formée de deux lobes qui ressemblent à la noix. Ces graines blanchâtres sont recouvertes d'une mince pellicule brune foncée. Elles sont logées dans une coque brunâtre ovale et lisse, facile à casser, entourées d'une enveloppe charnue de couleur verte qui éclate en quatre parties lorsque le fruit est mûr. La taille de la pacane est variable et n'est pas un indice de qualité. Elle a une saveur qui est légèrement moins prononcée que celle de la noix (**Forêt, 2018**).

- **La noix de cajou**

La noix de cajou ou (cashew nut en anglais), est le fruit de l'anacardie (*Anacardium occidentale*) originaire de Sud-Américain, sa présence dans les autres continents est attribuée à l'intervention de l'homme. L'arbre fut introduit par les Portugais au Mozambique et en Inde, puis dans le Sud-Est Asiatique, L'arbre s'est ensuite répandu en Australie et dans certaines zones du continent Nord-Américain (**Lautié et al, 2001**).



**Figure 05.** *Anacardium occidentale* (INC, 2020)

La noix est portée par une pomme appelée pomme d'acajou qui est molle et très juteuse, sa chair jaune, fine et rafraîchissante est très riche en vitamine C beaucoup plus que l'orange. La noix de cajou est recouverte de deux coquilles. Une coquille extérieure lisse et fine, qui change

de couleur à mesure que le fruit se développe, passant du vert olive au rouge brunâtre. Une coquille intérieure qui se casse difficilement (Fortin, 1996).

- **La noisette**

La Noisette ou (hazelnut en anglais), est le fruit du noisetier (*Corylusavellana*), qui est largement répandue en Turquie, en Italie, en Espagne, en Portugal, en France et dans certaines parties des États-Unis (Cetin et al, 2020).

Les noisettes sont des akènes ronds ou oblongs recouvertes d'une enveloppe foliacée verte à enlever avant de casser la noix. La graine recouverte d'une pellicule brune, loge dans une coquille de couleur jaunâtre (Fortin, 1996).



**Figure 06.** *Corylusavellana* (INC, 2020)

- **La noix**

La Noix ou (walnut en anglais), est le fruit de noyer (*Juglansregia*), originaire des bords de la mer Caspienne et du nord de l'Inde. Naturalisé en Grèce, en Italie puis en France.

La noix est composée d'une graine ( amande) appelée( cerneau), cette graine est formée de deux parties dont le tiers environ est soudé, le reste étant séparé par une membrane de couleur blanchâtre , et elle est recouverte d'une fine pellicule jaune plus ou moins foncée, elle est enfermée dans une coque dure, bombée plus ou moins lignifiée, de forme arrondie; cette coque est recouverte d'une enveloppe verte, lisse et collante (Fortin, 1996).



**Figure 07.** *Juglansregia* (INC, 2020)

- **La noix de macadamia**

La Noix de macadamia ou (Macadamia nut en anglais), est le fruit du noyer du Queensland (*Macadamia integrifolia*), originaire d'Australie, plus précisément dans les forêts



**Figure 08.** *Macadamia integrifolia* (INC, 2020)



tropicales du sud-est du Queensland et du nord-est de la Nouvelle-Galles du Sud ,la macadamia est cultivée dans les climats tropicaux de l'Australie, Brésil, Indonésie, Kenya, Nouvelle-Zélande et l'Afrique du Sud (Verma et al ,2017).

La noix de macadamia est formée d'une amande enfermée dans une coque épaisse et très dure. Cette coque est recouverte d'une mince enveloppe verte et charnue que l'on doit enlever pour casser la coque (Fortin, 1996).

• **La noix de Brésil**

La noix du Brésil ou (Brazil nut en anglais), est le fruit du noyer du Brésil (*Bertholletia excelsa*) qui est originaire d'Amérique du Sud (Yang, 2009).



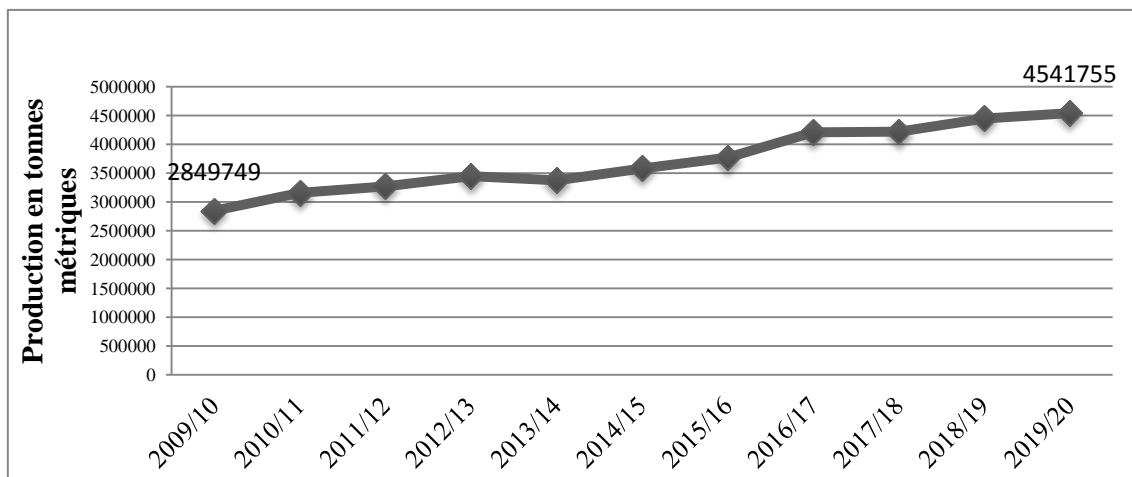
**Figure 09.** *Bertholletia excelsa* (INC, 2020)

La noix du Brésil est composée d'une graine (amande) croquante dont la saveur rappelle celle de la noix de coco, cette amande est recouverte d'une mince pellicule qui adhère à une coque rude, fibreuse et dure. Elle possède trois faces irrégulières qui la font ressembler à un quartier d'Orange. De 12 à 20 noix qui sont entassées dans une sorte de capsule ressemblant quelque peu à une noix de coco (Fortin, 1996).

**1.3 Les fruits à coque et l'économie mondiale**

**1.3.1 La production et son évolution**

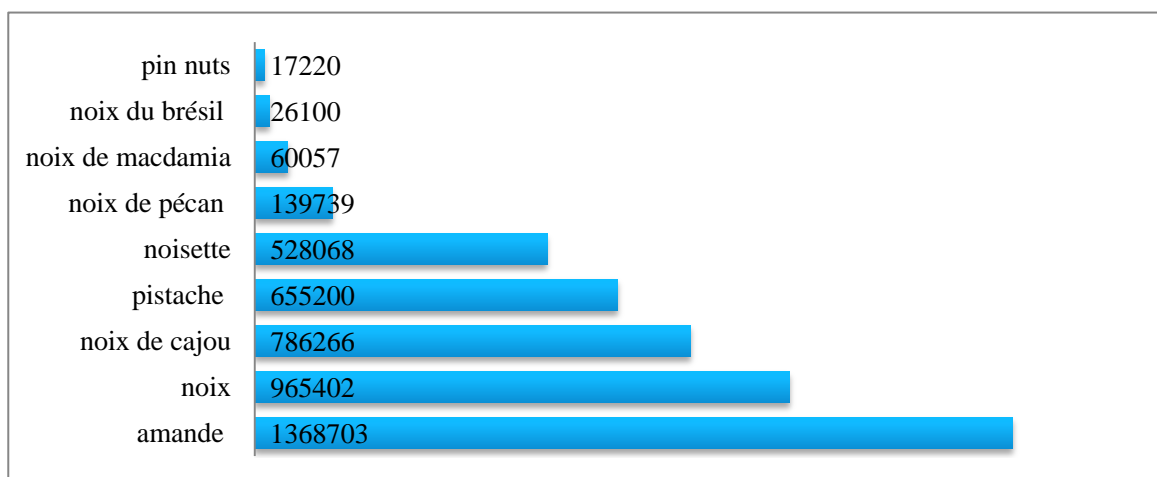
La Fondation International Nut and Dried Fruit Council a informé que la production mondiale de fruits à coque a continué de croître à un rythme soutenu au cours de la dernière décennie, atteignant environ 4,6 millions de tonnes métriques au cours de la saison 2019/2020 (Figure 10). La valeur de cette production a été estimée à environ 35,65 milliards de dollars.



**Figure 10. Evolution de la production mondiale des fruits à coque entre 2009 et 2020 (INC, 2020).**

Les six grands leaders actuels de la production mondiale des fruits à coque sont par ordre d'importance : les Etats-Unis, la Turquie, la Chine, l'Iran, l'Inde et la Côte d'Ivoire. À eux seuls, ils produisent plus de 72% de la production globale (INC, 2020).

L'amande et la noix sont les principales cultures produites, représentant 31% et 21% de la part mondiale, suivies par les noix de cajou (17%), les pistaches (14%) et les noisettes (12%).



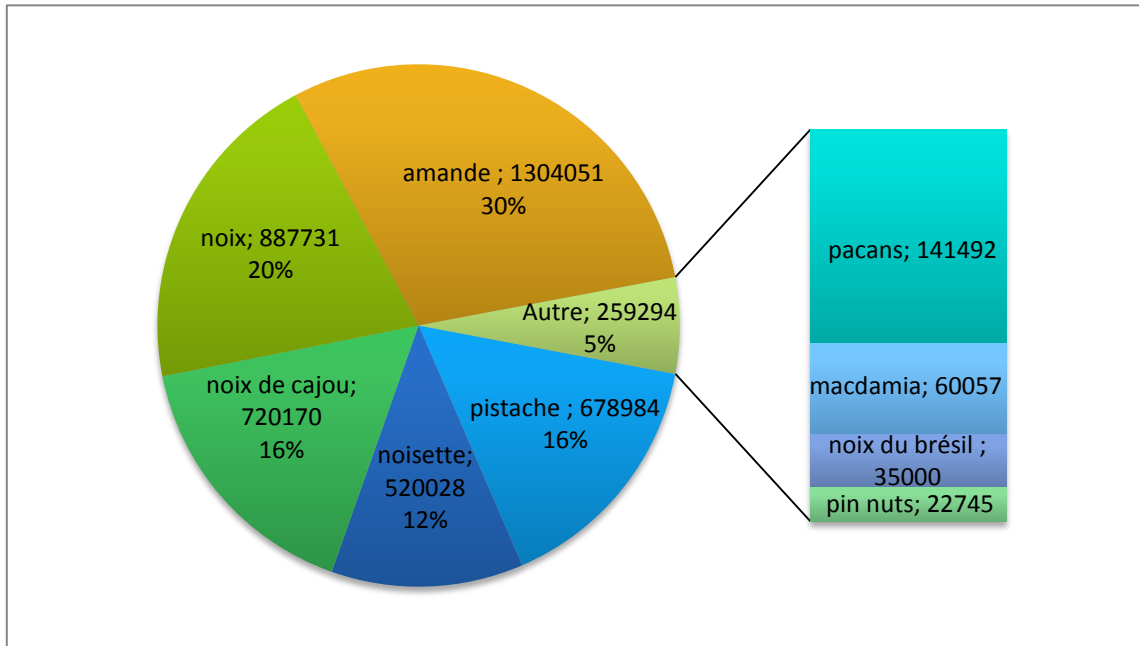
Les 5% restantes sont réparties entre les noix de pécan, les macadamia, les noix du Brésil et les pignons de pin (Figure 11).

**Figure 11. Production mondial du fruit à coque de la saison 2019/2020 (tonne métrique) (INC, 2020).**

La production mondiale d'arachides a atteint plus de 41 millions de tonnes métriques en 2019-2020. La Chine représente 38 % de la récolte mondiale, suivie de l'Inde avec 15%, les 20% restantes produites sont répartie entre le Nigeria (8%), les États-Unis (6%), le Sénégal (3%) et l'Argentine (3%) (INC, 2020).

### 1.3.2 La consommation

Les amandes et les noix représentent la moitié de la consommation totale estimée de fruit à coque dans le monde en 2018, suivies des noix de cajou et des pistaches avec 16% chacune (Figure 11). Après l'Europe, qui est le principal consommateur, l'Amérique du Nord et l'Asie est la deuxième et la troisième plus grande région consommatrices des fruits à coque dans le monde (INC, 2020).



**Figure 12. La consommation mondiale du fruit à coque en 2018 (tonne métrique) (INC, 2020).**

#### 1.4 La qualité nutritionnelle des fruits à coque

Les fruits à coque font partie de l'alimentation humaine depuis la préhistoire. Ce sont des aliments riches en nutriments, si on les rapporte à leurs poids elles fournissent des composés bioactifs favorables à la santé (Alasalvar et al, 2020). Ce sont des véritables bombes énergétiques : l'amande (624Kcal/100g), la noisette (648 Kcal/100g) et la noix (747Kcal/100g), l'arachide (601Kcal/100g), la pistache (594Kcal/100g) (Tableau 01).

Les fruits à coque sont l'un des aliments végétaux naturels les plus riches en graisses après les huiles végétales (Maestri et al, 2018). Cependant, la composition en acides gras des fruits à coque est bénéfique, car la teneur en acides gras saturés est faible, et près de la totalité de la teneur totale en graisses est constituée de graisses insaturées (Tableau 01), d'acides gras monoinsaturés (acide oléique), et d'acides gras polyinsaturés sous forme d'acide linoléique (un acide gras oméga-6), ils sont également une excellente source de protéines (Ros, 2010) : l'arachide (26.1 g/100g), la noisette (16.4 g/100g), la noix (17.0g /100g), la pistache (23.8g/100g) et l'amande (25.6 g/100g) (Tableau 01).

Encore, les fruits à coque fournissent aussi des quantités importantes de micronutriments : des vitamines antioxydants (Vitamine E: tocophérols), des vitamines hydrosolubles comme le folate B9 qui est nécessaire au fonctionnement cellulaire (Tableau 02) (**Ros, 2010**).

Par rapport à d'autres aliments courants, les fruits à coque ont une densité nutritionnelle optimale en ce qui concerne les minéraux sains, tels que le calcium, le magnésium et le potassium. On outre, elles ont une teneur en sodium très faible, allant d'indéetectable (**Alasalvar et al, 2020**). L'amande est particulièrement riche en calcium (270 mg/100g). Certains fruits à coque sont particulièrement riches en magnésium : l'arachide (160mg/100g), la noisette (160 mg/100g), la noix (140 mg/100g) (Tableau 03).

**Tableau 01.** Composition et caractéristiques nutritionnelles de quelques fruits à coque, les données se réfèrent à une portion comestible de 100 g (Bieler et Société Suisse de Nutrition SSN, 2020).

	unités	Amande	Amande, grillée, salée	Cacahuète	Cacahuète, grillée	Noisette	Noix	Noix de cajou	Pistache
Energie	kcal	624	649	601	596	648	747	606	594
Energie	kJ	2580	2680	2490	2470	2680	3080	2520	2460
Eau	g	3.3	2.8	7.0	5.5	4.0	4.1	4.6	3.9
Protéines	g	25.6	25.6	26.1	26.1	16.4	17.0	21.5	23.8
Lipides totaux	g	52.1	55.2	48.5	49.0	59.5	70.8	45.2	45.4
Acides gras saturés	g	4.1	4.2	11.6	9.2	4.2	6.3	7.8	5.6
Acides gras mono-insaturés	g	31.4	34.8	21.8	23.5	46.6	11.9	23.8	23.8
Acides gras poly-insaturés	g	11.4	13.5	13.4	14.0	6.5	49.4	7.8	13.7
Glucides disponibles	g	7.8	7.2	11.2	8.6	6.9	7.0	26.6	17.6
Amidon	g	0.6	0.6	6.7	5.0	1.4	1.5	17.7	1.7
Sucres	g	6.6	4.6	4.0	3.6	4.3	2.0	5.9	7.7
Fibres alimentaires	g	10.6	10.5	7.6	8.2	9.7	6.7	3.6	10.0

**Tableau 02.** Composition en minéraux de quelques fruits à coque, les données se réfèrent à une portion comestible de 100 g (**Bieler et Société Suisse de Nutrition SSN, 2020**).

	unités	Amande	Amande, grillée, salée	Cacahuète	Cacahuète, grillée	Noisette	Noix	Noix de cajou	Pistache
Sel (NaCl)	g	0	0.8	0	0	0	0	0	0
Sodium	mg	1	330	18	9	< 1	< 1	9	9
Potassium	mg	740	670	710	700	720	420	660	500
Chlore	mg	40	1190	7	7	11	23	18	40
Calcium	mg	270	240	65	60	160	78	40	65
Magnésium	mg	240	270	160	180	160	140	270	120
Phosphore	mg	510	470	380	380	320	360	540	160
Fer	mg	3.3	3.3	6.0	2.4	3.6	3.0	5.9	7.0
Zinc	mg	3.3	3.1	4.0	2.8	2.9	4.0	4.0	3.3
Iode	mg	0.2	2.4	3.2	13.0	6.5	2.0	5.0	11.0

**Tableau 03.** Composition en vitamines de quelques fruits à coque, les données se réfèrent à une portion comestible de 100 g (**Bieler et Société Suisse de Nutrition SSN, 2020**).

	unités	Amande	Amande, grillée, salée	Cacahuète	Cacahuète, grillée	Noisette	Noix	Noix de cajou	Pistache
Vitamine A	µg	0	0	0	0	0	0	0	18
Bêtacarotène	µg	0	1	0	0	0	0	0	211
Vitamine E	mg	29.6	26.0	5.5	8.5	27.2	3.7	0.8	29.8
Vitamine B1	mg	0.14	0.09	0.63	0.80	0.27	0.43	0.42	0.50
Vitamine B2	mg	0.94	0.78	0.09	0.13	0.05	0.14	0.06	0.30
Vitamine B3	mg	1.9	3.7	12.0	15.0	1.3	1.3	1.1	1.0
Vitamine B5	mg	0.40	0.23	2.44	2.70	1.19	1.74	0.86	0.52
Vitamine B6	mg	0.13	0.12	0.59	0.30	0.50	0.41	0.42	0.25
Vitamine B9	µg	76	27	240	110	41	137	25	58
Vitamine C	mg	<1	0	0	0	2	2	<1	1

## 1.5 L'effet biologique des fruits à coque

En raison de leurs compositions nutritionnelles, plusieurs études ont démontrés que les fruits à coque présentent des effets thérapeutiques. Récemment, les fruits à coque sont devenues particulièrement appréciées dans les collations saines, et les régimes végétariens, et sans gluten, en raison de leur composition unique riche en acides gras insaturés, de fibres, de protéines, de vitamines et de minéraux, y compris des composés bioactifs tels que les antioxydants (Maestri et al, 2018).

Les fruits à coque ont des faibles niveaux en graisses saturées, celles qui sont généralement liées aux maladies cardiaques et à d'autres problèmes de santé. De nombreuses observations épidémiologiques suggèrent que la fréquence de la consommation de fruits à coque est inversement liée aux maladies cardiovasculaires (MCV) et coronariennes(MCC) (Alasalvar et al, 2020). Les fruits à coque sont aussi sans cholestérol (tableau 01), et ont un effet hypocholestérolémiant grâce à leurs richesse en Acides gras monoinsaturés qui aident à abaisser les lipoprotéines de basse densité(LDL) ou «mauvais cholestérol», et à augmenter lipoprotéines de haute densité (HDL) ou «good-cholestérol » dans le sang ,ce qui réduit le risque de développer une maladie cardiaque et un accident vasculaire cérébral(Kumawat et al, 2017).

La consommation des fruits à coque aide à prévenir de différents types de cancer grâce à ses constituants bioactifs, tel que la vitamine E qui est un antioxydant important qui protège nos cellules et nos tissus des substances nocives ,la vitamine B9, également connue sous le nom de folate, est essentielle à la synthèse cellulaire, et à la réparation des tissus dans le corps. Des recherches suggèrent également des effets bénéfiques des fruits à coque sur l'hypertension artérielle, et la protection contre la déminéralisation osseuse, à cause d'un apport élevé en calcium, magnésium et potassium, associé à un faible apport en sodium. Par ailleurs, ces fruits sont une bonne option pour les personnes atteintes de diabète, il existe de nombreuses études scientifiques à l'appui de la proposition selon laquelle les fruits à coque sont des aliments qui jouent également un rôle important dans la régulation de la glycémie grâce au fibres qui absorbent une partie des sucres consommés et abaissent les pics de glycémie après un repas (Ros, 2010).

De même, ces derniers améliorent la santé mentale, oculaire, cutanée et renforcent le système immunitaire, ils réduisent le risque de formation de calculs biliaires (Kumawat et al, 2017).



## **1.6 L'effet indésirable d'une surconsommation des fruits à coque**

Malgré leurs effets bénéfiques, une augmentation de la consommation de ces fruits peut engendrer certaines pathologies, parmi lesquelles **(Ros, 2010)** :

### **1.6.1 Les réactions allergiques**

Les fruits à coque sont une cause bien connue d'allergie alimentaire, avec des taux de prévalence estimés à environ 1% dans la population générale. Elles touchent principalement les jeunes enfants, et peuvent être particulièrement graves, voire mortelles **(Ros, 2010)**.

Parmi les symptômes le plus courant d'une allergie au fruit à coque les bosses rouges sur la peau (urticaire), gonflement des lèvres, l'écoulement nasal, des crampes, des nausées ou des vomissements. Les symptômes d'une réaction allergique sévère peuvent présenter une respiration difficile, des gonflements de la langue, des gonflements ou oppression de la gorge, des difficultés à parler ou une voix rauque et pâleur **(Al-Ahmed et al, 2008)**.

### **1.6.2 Les problèmes gastro-intestinaux**

Les fruits à coques sont des aliments riches en fibres, ce qui peut provoquer des ballonnements, des gaz et de diarrhée si leur consommation est abusive. De plus les fruits à coque ont la réputation d'être indigestes, surtout si elles sont consommés en grande quantité, ou mal mastiqué, et cela est due à cause de deux substance présente dans le fruit on les appellants : phytates et tanins **(Kumawat et al, 2017)**.

# **Chapitre II**

## **La microbiologie du fruit à coque**

## 2.1 La microflore des fruits à coque

Les fruits à coque ont une faible teneur en humidité, qui empêche la croissance de la plupart des microorganismes à leur surface. Le contacte des fruits à coque avec le sol pendant la production (arachides), la récolte (amandes, pacanes, noix) et dans les opérations ultérieures peuvent influencer le type et la population de micro-organismes présents (**Brar et Danyluk, 2018**).

### 2.1.1 Les moisissures

Les moisissures sont des microorganismes qui peuvent se développer sur une grande variété de fruits à coque (amande, pistache, arachides, pacane, noix). Comme tout micro-organisme, la croissance fongique est aussi dépendante d'un certain nombre de condition environnementale (**Brar et Danyluk, 2018**).

#### 2.1.1.1 Les Conditions de développement des moisissures

- *L'activité de l'eau*

L' $A_w$  est un paramètre variant de 0 à 1 qui représente la disponibilité de l'eau (**Delacharlerie et al, 2008**).

Les moisissures sont de façon schématique plus xérotolérantes que les autres microorganismes (bactéries, levures). La plupart des moisissures se développent bien pour des activités en eau voisines de 0,85. Par conséquent, beaucoup de produits dont l'activité hydrique ne permet pas la croissance bactérienne peuvent être colonisés par les moisissures. Les moisissures appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont généralement capables de se développer à des  $A_w$  voisines de 0,7 à 25°C. Elles peuvent donc se développer dans les aliments pauvres en eau dont les fruits à coque font partie (**Castegnaro, Pfohl-Leszkowicz, 2002**).

- *Le taux d'oxygène*

La plupart des moisissures sont aérobies strictes, c'est à dire qu'elles ont besoin d'oxygène pour se développer (**Delacharlerie et al, 2008**), cependant certaines souches sont microaérophiles tels que les *Aspergillus flavus*, elles sont capables de se développer sur les denrées alimentaires conservées dans une atmosphère pauvre en oxygène (**Paster et al, 1988**).

- ***Le PH***

Contrairement aux autres microorganismes, les moisissures sont extrêmement tolérantes au PH puisqu'elles sont susceptibles de se développer dans une gamme de ph allant de 2 à 9 (avec un optimum de 4 à 6,5) (**Delacharlerie et al, 2008**).

- ***La lumière***

La lumière favorise la maturation des conidies et la germination des spores. Les moisissures sont généralement indifférentes à l'action de la lumière (**Pfohl-Leszkowicz, 2001**).

- ***La température***

La température de croissance optimale des moisissures se situe en générale entre 15 et 30 c°. Certaines souches se développent à des températures nettement plus basses, et peuvent coloniser des chambres froides. D'autres résistent à des températures plus élevées surtout en chaleur sèche (**Delacharlerie et al, 2008**).

- ***La présence d'insectes***

Les insectes représentent les principaux vecteurs de spores de moisissures au champ et dans les lieux de stockage. De plus, les dommages physiques causés par les insectes facilitent la pénétration des spores, et le développement des moisissures (**Mason, 2019**). Les espèces *Ephestia*, *E. cautella* sont Parmi les papillons nuisibles les plus fréquemment signalées dans les fruits à coque (**Rajendran, 2003**).

#### **2.1.1.2 Stade de contamination des fruits à coque par les moisissures**

D'après **Marin et Ramos, 2016**, la contamination fongique des fruits à coque se produit à trois stades différents :

Le premier stade de contamination peut se produire au champ, avant la récolte, alors que les fruits sont encore sur l'arbre. À ce stade surtout lorsque les fruits ont mûri, et que les coques se sont ouvertes, ils sont souvent infectés par des spores fongiques aéroportées et transmisés par des insectes. Si les fruits tombent de l'arbre, et elles sont prélevées à partir du sol, la probabilité de contamination fongique augmente, dans le même sens, les arachides qui produisent des gousses porteuses de graines sous la surface du sol, sont en contact direct avec les champignons du sol.

Le deuxième stade de contamination fongique peut se produire après la récolte, lorsque les fruits à coque sont décortiqués, lavés et triés. L'eau utilisée pour le lavage peut être une source de

contamination, et si les fruits restent humides, elles seront très sensibles à la croissance des moisissures, et à la production de mycotoxines.

Le troisième lieu de contamination par les moisissures est pendant le stockage, surtout lorsqu'elles sont stockées dans des conditions défavorables de température et d'humidité.

### 2.1.1.3 Les principaux genres fongiques

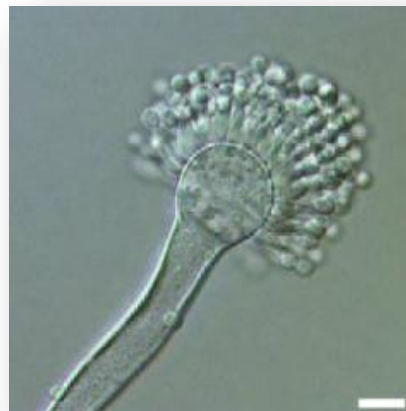
Les espèces de moisissures les plus fréquentes identifiées aux fruits à coque appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Fusarium* (Brar et Danyluk, 2018), la présence de divers aspergilli et penicillia (p. ex., *A. niger*, *A. flavus*, *Penicillium crustosum*, etc.) est particulièrement préoccupante, car il a été établi que certains membres de ces espèces sont capables de produire des mycotoxines (Tournas et al, 2015).

#### ➤ Le genre *Aspergillus*

C'est un genre appartenant à la classe des Ascomycètes, il contient environ 175 espèces, dont une vingtaine ont été identifiées comme pathogène en raison de leur capacité à produire des mycotoxines responsables de pathologies animales et humaines. Les principales espèces d'aspergillus identifiées dans les fruits à coque sont *A. niger*, *A. flavus* (Brar et Danyluk, 2018).



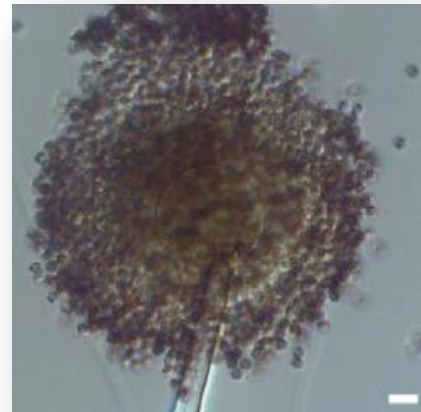
**Figure 13.** Une colonie d'*Aspergillus flavus* (Wagener et al, 2020)



**Figure 14.** Observation microscopique d'*Aspergillus flavus* (Wagener et al,



**Figure 15.** Des colonies d'*Aspergillus niger*. (Wagener et al, 2020)

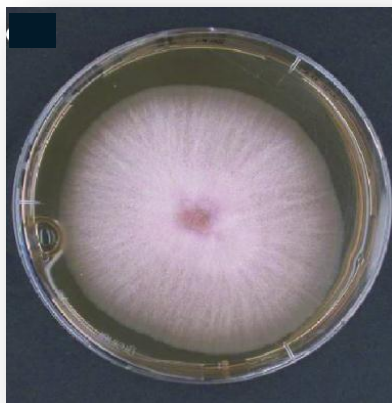


**Figure 16.** Observation microscopique d'*Aspergillus niger* (Wagener et al, 2020)

### ➤ Le genre *Fusarium*

C'est un genre qui comprend un grand nombre de moisissures (plus de 300 espèces) présentes dans le sol et la matière organique du monde entier. Certaines espèces de *Fusarium* sont parmi les plus importants champignons nuisibles aux cultures dans le monde. Les espèces de *Fusarium* peuvent excréter plusieurs mycotoxines. Les groupes de toxines les plus importants sont les fumonisines, la zéaralénone (ZEA ou ZON) et le déoxynivalénol (Walther et al, 2020).

Les espèces de genre *Fusarium* les plus fréquemment trouvés dans les fruits à coque sont *F. verticillioides*, *F. graminearum* (Krasauskas et al, 2015).



**Figure 17.** Une colonie de *Fusarium* (Walther et al, 2020)



**Figure 18.** Observation microscopique de *Fusarium* (Walther et al, 2020)

### ➤ Le genre *Penicillium*

Ce genre réunit des champignons filamenteux, comprend environ 354 espèces, la majorité sont capables de produire des mycotoxines (Pitt, 1988). De point de vue morphologique les *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau. (Roparset al, 2020). Les espèces de *Penicillium* les plus fréquemment trouvés dans les fruits à coque sont *P. crustosum* *P. expansum* *P. chrysogenum* (Krasauskas et al, 2015).



**Figure 19.** Une colonie *Penicillium crustosum* (Demjanová et al, 2021)



**Figure 20.** Observation microscopique *Penicillium crustosum* (Demjanová et al, 2021)

#### 2.1.2 Les bactéries

Plusieurs études ont démontrés que les agents pathogènes ne se multiplient pas sur les noix, en raison de la teneur extrêmement élevée en matières grasses et en protéines, et de la faible teneur en eau. En outre ces microorganismes peuvent survivre dans les fruits à coque pendant plus d'un an (Feng et al, 2018).

##### 2.1.2.1 Stade contamination des fruits à coque par les bactéries

Il existe probablement de multiples sources de contamination par les bactéries dans les fruits à coque. Beaucoup de fruits à coque sont récoltés directement sur le sol du champ après avoir été secoués mécaniquement ou à la main, ou encore arrachés de l'arbre à la main, puis jetés à terre, ou laissés tomber naturellement, on résulte un mélange important de fruits à coque, de débris de plantes et de terre. Certains éléments contaminants ramassés lors de la récolte peuvent alors se propager aux grains comestibles avant ou pendant le décorticage. La Pluie pendant les périodes de récolte peut aussi augmenter la quantité de terre héritée aux fruits à coque. Les champs peuvent attirer plusieurs types d'animaux sauvages y compris les oiseaux et les

rongeurs. Donc les bactéries peuvent être aussi hébergées par les animaux au fruit à coque, La propagation d'éléments contaminants peut aussi se produire lorsque les fruits à coque sont exposés à l'eau recyclées et non traitées, ou manipulateurs non qualifiés concernant l'hygiène alimentaire et les procédures générales d'assainissement (FAO, 2012).

### 2.1.2.2 Les principaux genres bactériens

Les principaux genres bactériens identifiés sur les surfaces des fruits à coque sont : *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* et *Brevibacterium*, *Escherichia coli*, *salmonella* (Brar et Danyluk, 2018).

- **Le genre *Escherichia coli***

Il s'agit d'un micro-organisme appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. C'est un bacille mobile non sporulant à coloration de Gram négative. Il est lactose positif et oxydase négatif (Le Minor et al, 1990).

En raison de leur forte présence dans le tractus intestinal et les fèces, ils sont considérés comme un micro-organisme marqueur de mauvaises pratiques d'hygiène ou de contamination fécale lors de la manipulation des aliments (Ghebru, 1988).

*E. Coli* comprend un groupe important et diversifié de bactéries. La plupart des souches d'*E. Coli* sont inoffensives; d'autres souches ont acquis des caractéristiques, tels que la production de toxines, qui les rendent pathogènes aux humains (Bintsis, 2017). La contamination des fruits à coque par des bactéries d'origine fécale indique que les règles d'hygiène générale ne sont pas respectées (Hui, 2015).

- **Le genre *Salmonella***

*Salmonella*, est une bactérie appartient au groupe des entérobactéries, a une coloration de Gram négative, anaérobie facultative (Zhang et al, 2008), en forme de bâtonnet et mobile au moyen des flagelles péritriches (à l'exception de *Salmonella Gallinarum*) (Korsak et al, 2004). *Salmonella* est considérée comme un organisme cible pour les aliments secs, y compris les noix et les arachides, en raison de sa persistance à long terme et de sa résistance élevée à la chaleur sur les aliments secs (Brar et Danyluk, 2018).

- **Le genre *Staphylococcus***

Les *staphylocoques* sont des cocci non mobiles appartiennent à la famille de *staphylococcaceae*, à coloration Gram positives, qui se développent dans des conditions



d'aérobiose (**Prescott et al, 2018**). Cette bactérie fait partie de la flore de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal (**Denis et al, 2016**).

Les *staphylocoques* en général, sont associés à la formation d'abcès. Certaines souches produisent des toxines responsables de la gastro-entérite, du syndrome de la peau échaudée et du syndrome de choc toxique (**Pal et al, 2020**), *S. aureus* est parmi les pathogènes les plus répandus et les plus dangereux pour l'homme, tant pour sa virulence que pour sa capacité à développer une résistance aux antibiotiques. Cette omniprésence combinée à sa virulence, fait que sa détection dans les aliments est de la plus haute importance pour garantir la sécurité des consommateurs (**Harris et al, 2002**).

- **Le genre *Streptococcus***

Ce sont des cocci Gram positif, aérobies ou anaérobies facultatifs, et immobiles (**Denis, 2002**). De nombreux *streptocoques* ne sont pas pathogènes et sont retrouvés dans l'environnement, ainsi que dans l'intestin de l'homme en bonne santé (**schaechter et al, 1999**).

- **Le genre *Bacillus***

Le genre *Bacillus* appartient à la famille des *Bacillaceae*, (**Darriet, 1998**). La forme végétative ou bacille est un long bâtonnet (**Revel et al, 2005**). Se développent principalement dans les sols (**Prescott, 2018**). Certaines espèces de *Bacillus* provoquent des infections humaines, la plupart de ces infections concernent les patients affaiblis, y compris les patients hospitalisés en dialyse (**Kandi, 2016**).

- **Le genre *Micrococcus***

Les *micrococcus* sont des coques Gram positif, appartient à la famille de micrococcaceae, immobiles, asporulés, groupés généralement en amas. Ils sont souvent thermophiles mais ne survivent pas à la pasteurisation (**Marroun et al, 2017**).

Il peut cependant être un pathogène opportuniste, chez les patients immunodéprimés (**Denis et al, 2016**). Les *microcoques* sont les bactéries dominantes dans le fruit à coque, cela est due à sa teneur extrêmement élevée en matières grasses (**Sejiny et al, 1989**).

- **Le genre *Pseudomonas***

Le genre *Pseudomonas* appartient à la famille de *pseudomonadaceae*. Ce sont des bactéries à gram négatif (**Delarras, 2014**). Les souches de *Pseudomonas* sont typiquement des bâtonnets à flagellation polaire (**Sokatch, 1986**).

Les différentes espèces du genre *pseudomonas* ont été mises en cause dans diverses infections endocardites, pneumonies, bactériémies, infections cutanées, infections osseuses, méningites postopératoires (**Denis et al, 2016**).

- **Le genre *Achromobacter***

Appartienne à la famille des *Alcaligenaceae* (**Singh et al, 2017**). C'est une bactérie Gram-négative, qui vit dans le sol et les milieux aquatiques (**Pandey et al, 2019**), classée comme organisme aérobic. Les membres du genre *Achromobacter* sont très mobiles grâce à de longs flagelles péritriches (**Swenson et Sadikot, 2015**).

- **Le genre *Brevibacterium***

Le genre *Brevibacterium* est l'unique genre de la famille des *Brevibacteriaceae* (**Forquin, 2010**). C'est une bactérie aérobic non mobile, non sporulée, mésophile, à coloration de Gram positive (**Kim et al, 2013**). Les *Brevibacteriaceae* appartiennent aussi aux bactéries *corynéformes*, c'est-à-dire qu'elles changent de forme au cours de sa croissance. En phase exponentielle, elles sont en forme de bâtonnet mais à l'entrée de la phase stationnaire, elles se transforment en coque (**Forquin, 2010**).

## **2.2 Effet des microorganismes sur la qualité et la sécurité des fruits à coque :**

La présence des microorganismes sur les fruits à coque est l'origine de plusieurs altérations qui se traduisent par un effet sur la qualité organoleptique, la qualité nutritionnelle, et la qualité sanitaire.

### **➤ Sur la qualité organoleptique et nutritionnelle**

Les conséquences d'un développement microbiennes sont avant tout modification des qualités organoleptiques (une altération visuelle du produit, et des altérations de goût et/ou d'odeur), perte des qualités nutritionnelles (aliments moins riches en vitamines et minéraux). Certain des microorganismes sont capables de produire des lipases et donc d'altérer les matières

grasses. L'efficacité de lipase est plus grande chez les moisissures que chez les levures et les bactéries (Delacharlerie et al, 2008).

### ➤ **Sur la qualité sanitaire**

L'augmentation récente des maladies d'origine alimentaire associée à la consommation des aliments peu transformés, conduit à une préoccupation croissante concernant la sécurité sanitaire des fruits à coque (Feng et al, 2018).

- **Les principaux problèmes de sécurité sanitaire**

#### ❖ **Bactéries pathogènes :**

Historiquement, On considère généralement que les aliments à faible teneur en eau, tels que les fruits à coque, n'ont pas été associés à un risque élevé de maladies bactériennes d'origine alimentaire, cela est principalement dû à l'environnement hostile qui empêche la croissance des agents pathogènes (Feng et al, 2018). Cela peut conduire à l'idée largement répandue que de faibles niveaux de bactéries pathogènes dans les aliments ne constituent pas un problème de sécurité sanitaire des aliments. Cependant, il est de plus en plus reconnu que de nombreux agents pathogènes d'origine alimentaire, y compris *Salmonella* et *E. Coli*, peuvent causer une maladie lorsqu'ils sont présents même à de très faibles niveaux, à savoir que la croissance microbienne n'est pas nécessaire pour qu'une maladie se produise. En outre, une fois les agents pathogènes ingérés, la forte teneur en matières grasses présente dans les fruits à coque peut protéger ces mêmes agents pathogènes des acides gastriques permettant le passage des micro-organismes viables à l'intestin (FAO, 2012).

Ces dernières années, plusieurs rappels de produits et épidémies d'origine alimentaire ont été associés à la contamination par *Salmonella* après l'ingestion des fruits à coque bruts ou transformés, selon les Centers for Disease Control and Prevention (CDC), la surveillance des épidémies d'origine alimentaire aux États-Unis qui est le premier producteur de la majorité des fruits à coque dans le monde a indiqué qu'entre 1998 et 2008, 7% des éclosions d' *E. Coli* O157: H7 étaient dues à la consommation de fruits à coque contaminés (Gould et al, 2013).

#### ❖ **Aflatoxine**

La contamination fongique des denrées alimentaires peut causer la dépréciation de leur valeur nutritionnelle ainsi que la détérioration de leurs qualités organoleptiques. S'il s'agit de souches toxigènes de moisissures, et si les conditions environnantes sont favorables, il peut y avoir également synthèse et accumulation de mycotoxines. Les mycotoxines sont un ensemble variés de substances, définies comme étant des métabolites fongiques non antigéniques capables

de provoquer des syndromes spécifiques chez l'homme et les animaux (**Tantaoui-Elaraki et al, 1994**).

Les aflatoxines sont un type de mycotoxines qui se produisent naturellement, elles sont produites par plusieurs espèces de champignon par exemple *Aspergillus*. Il a été démontré que ces toxines sont certains des composés naturels les plus cancérigènes, L'aflatoxine est le résultat d'une biosynthèse enzymatique très complexe de composés trouvés dans les champignons. Les quatre principaux types d'aflatoxines ont été désignés B 1, B 2, G 1 et G 2, les produits agricoles bruts peuvent être contaminés par des moisissures dans le champ avant la récolte ou après la récolte. L'ingestion d'aflatoxines à de niveaux élevés en une seule dose ou à plusieurs reprises pendant une courte période de temps induit une intoxication aiguë, ci-après dénommée aflatoxicose, chez l'homme et l'animal présentant des symptômes typiques, notamment jaunisse, léthargie, nausée, œdème, nécrose hémorragique des tissus hépatiques, hyperplasie des voies biliaires, et éventuellement la mort (10–60%) suite à des graves lésions hépatiques (**Benkerroum, 2020**).

# **Partie**

# **Expérimentale**

# **Chapitre I**

## **Matériel et méthodes**

## 1.1 Lieux d'étude

Notre étude s'est déroulée au laboratoire de contrôle de qualité et répression des fraudes de Blida.

La principale activité du laboratoire de la répression des fraudes –Blida- consiste à la réalisation des analyses pour les besoins des contrôles officiels sur des échantillons prélevés par les services :

- Des Directions du Commerce des Wilayas (Blida, Médéa, Ain Defla...);
- De l'Inspection Régionale du Centre du CACQE.

Ainsi que par les services collaborant dont :

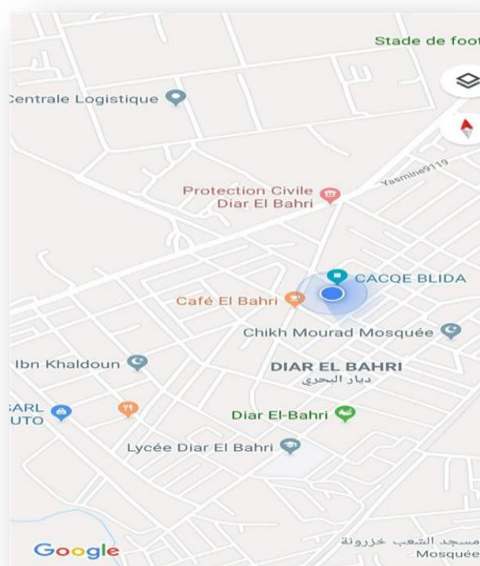
- Des services de la Police Judiciaire.
- De la Brigade de la Gendarmerie Nationale.
- Des Associations de Protection du Consommateurs.

Ces analyses ont pour principal objectif de déterminer la conformité des échantillons reçus par rapport à des exigences spécifiques réglementaires.

Dans le cadre de l'assistance et de l'accompagnement des opérateurs économiques, le laboratoire de la répression des fraudes –Blida- réalise les analyses dont les résultats obtenus permettent à la Direction Générale de délivrer des certificats de conformité à titre gracieux et ce conformément à l'instruction ministérielle N° 424/MC/SPM 2016.

Le laboratoire effectue et prend en charge deux types d'analyses : les analyses physicochimiques et les analyses microbiologiques qui couvrent les domaines suivants :

- Le contrôle des produits agroalimentaires.
- Le contrôle des produits non alimentaires.



**Figure 21.** Position du laboratoire de la répression des fraudes Blida (DiarElbahri-Beni Mered) (GOOGLE MAPS)

## 1.2 Objectif de ce travail

L'objectif de cette étude préliminaire sur les fruits à coque commercialisés à la ville de Blida est d'évaluer leur qualité hygiénique, par le dénombrement des microorganismes d'intérêt hygiéniques, et par la recherche des microorganismes pathogènes notamment les moisissures, qui constituent un dommage réel pour la santé humaine et animale par la sécrétion de substances hautement toxiques regroupées sous le nom des mycotoxines.

## 1.3 Enquête socio-économique sur la consommation des fruits à coque à Blida

Cette étude est basée sur une enquête questionnaire fait auprès de 30 consommateurs afin d'identifier :

- Les types de fruits à coque les plus consommés,
- La fréquence de consommation de ces fruits à coque.

L'enquête a été réalisée dans la ville de Blida, la collecte des questionnaires a été menée durant la saison printanière de l'année 2021. Le questionnaire est composé de 2 questions ayant des objectifs précis (Annexe 14).



## **1.4 Matériel**

### **1.4.1 Biologique**

Les fruits à coque rapportés et établis à partir des résultats de l'enquête sur le type et la nature des fruits à coque les plus consommés par les habitants de la ville de Blida, ont fait l'objet d'analyses microbiologiques.

#### **1.4.1.1 Echantillonnage**

Des prélèvements de 50g ont été prélevés à différents sites de la ville de la wilaya Blida (Ouledyaich, Beni mered, treize mai, Bouinan, Oued alleug) et dans différents points de vente à savoir les grandes surfaces, les détaillants et les marchés. Tous Les échantillons ont été prélevé dans des conditions aseptiques, et met dans des sacs en plastiques stérilisés, et maintenus à une température de 4°C pour une bonne conservation, pour une durée maximale de 7 jours, puis acheminés au Laboratoire de Microbiologie. L'échantillonnage (22 échantillons) a été effectué sur plusieurs jours de manière à assurer une variabilité des échantillons récupérés dans le temps et dans l'espace.

Notre étude a été réalisée sur trois (03) espèces de fruits à coque: arachide, amande et pistache.

- 8 Échantillons d'arachide.
- .8 Échantillons d'amande.
- 6 Échantillons de pistache.

#### **1.4.2 Non-biologique :**

##### Verrerie et consommable :

- Les tubes à essai.
- Cloches de durham.
- Boite de pétri en matière plastique d'un diamètre de 90 mm.
- Pipette pasteur.
- Entonnoir.
- Flacon.
- Lame et Lamelle.

##### Appareillage :

- Micropipette.
- Bain-marie réglable jusqu'à 80°C.

- Etuve à 37°C et à 44°C et 25°C.
- Autoclave.
- Stomacker.
- Balance.
- Microscope optique.

Produits chimiques :

- Le réactif de Kovacs.

Milieu sélectif :

- Milieu TSE.
- De bouillon sélectif l'auryl Sulfate.
- Bouillon EC.
- L'eau peptonée exempte d'indole.
- La gélose DG 18(Dichloran à 18% (concentration en masse) de Glycérol).
- L'eau Peptonée Tamponnée.
- Le milieu de Rappaport-Vassiliadis Avec Soja (bouillon RVS).
- Le milieu Muller- Kauffmann Au Tétrathionate- Novobiocine (mkttn).
- Gélose Xylose Lysine Désoxycholate (XLD).
- Gélose SFB.

Autre :

- Bec bunsen.
- Anse de platine.
- Eau distillée.
- Alcool.
- Sac stomacker.

## **1.5 Méthodes**

### **1.5.1 Analyse microbiologique**

#### **1.5.1.1 Préparation de l'échantillon**

C'est le protocole défini par les méthodes normalisées IANOR Selon la réglementation algérienne (**JORA N° 38 du 22 juin 2014**).

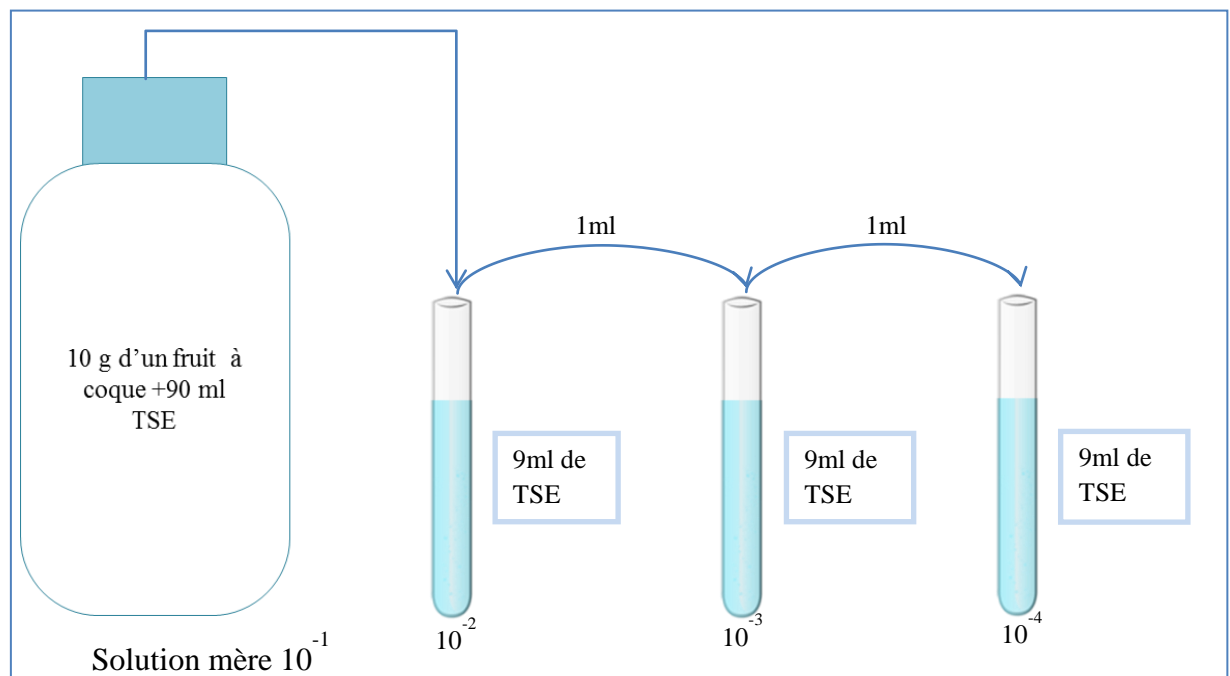
### 1.5.1.1.1 Préparation de la suspension mère

10 g de chaque échantillon sont prélevés et dilués dans un flacon contenant 90 ml de TSE. Le mélange est mis dans un sachet stomacker stérile et introduit dans le broyeur stomacker pendant 1 à 2 min pour l'homogénéiser, puis on laisse les grosses particules se déposer durant 15 min au maximum (Annexe 01 et 02).

### 1.5.1.1.2 Préparation des dilutions décimales

Après la préparation de la solution mère, on réalise la dilution  $10^{-2}$ , en prélevant 1 ml à partir de la solution mère à l'aide d'une pipette stérile, et on le met dans 9 ml de TSE.

Les dilutions  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$  seront préparées de la même façon à partir des dilutions précédentes.



**Figure 22.** Méthode de Préparation de la solution mère et les dilutions décimales.

### 1.5.1.2 Recherche des microorganismes

#### 1.5.1.2.1 Types de germes recherchés

Les germes en question qui sont recherchés pour cette denrée alimentaire sont : E coli, Moisissures, et *Salmonella*.

**Tableau 04. Critères microbiologiques applicables aux fruits à coque (JORA N° 39 de 2 juillet 2017).**

Catégorie de denrée Alimentaire	Microorganismes/ métaboliques	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologique (UFC/g)	
		n	c	m	M
Graines oléagineuses (noix, amandes, arachides....)	<i>Escherichia coli</i>	5	2	2	20
	Moisissures	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	

#### **1.5.1.2.2 Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli***

Par la technique du nombre le plus probable (NPP). Selon la norme algérienne (**JORA. N° 64 .7 novembre 2017**) :

##### ***1. Inoculation et incubation du milieu d'enrichissement sélectif (bouillon au L'auryl Sulfate)***

On Prend trois tubes double concentration de milieu d'enrichissement sélectif (L'auryl Sulfate), à l'aide d'une pipette stérile, et on transfère dans chacun de ces tubes 10 ml de la suspension mère.

Une série de 9 tubes de 10 ml de bouillon sélectifs L'auryl Sulfate a été Préparé, Chaque trois tubes de milieu d'enrichissement sélectif sont inoculés avec 1 ml d'une des dilutions décimales de la suspension initiale (annexe 03). Les tubes sont ensuite incubés à 37 °C pendant 48 h.

##### ***2. Ensemencement et incubation du milieu sélectif (bouillon EC)***

Les tubes incubés de bouillon L'auryl Sulfate sont examinés pour vérifier la production de gaz après 24 h et 48 h , chaque tube présentant une opacité, un aspect trouble ou un dégagement gazeux, (annexe 04,05) subit une subculture par inoculation avec une anse dans des tubes qui contient 10 ml de milieu sélectif liquide (bouillon EC).ensuite incubés à 44 °C pendant 48 h.

##### ***3. Inoculation et incubation de l'eau peptonée***

Les tubes incubés dans le bouillon EC sont examinés pour vérifier la production de gaz après 24 h et 48 h. Les tubes positifs présentant un dégagement gazeux subissent une subculture par inoculation avec une anse dans des tubes qui contient 10 ml de l'eau peptonée exempte d'indole, Les tubes obtenus sont ensuite incubés 48 h à 44 °C.

#### **4. Examen pour la production d'indole:**

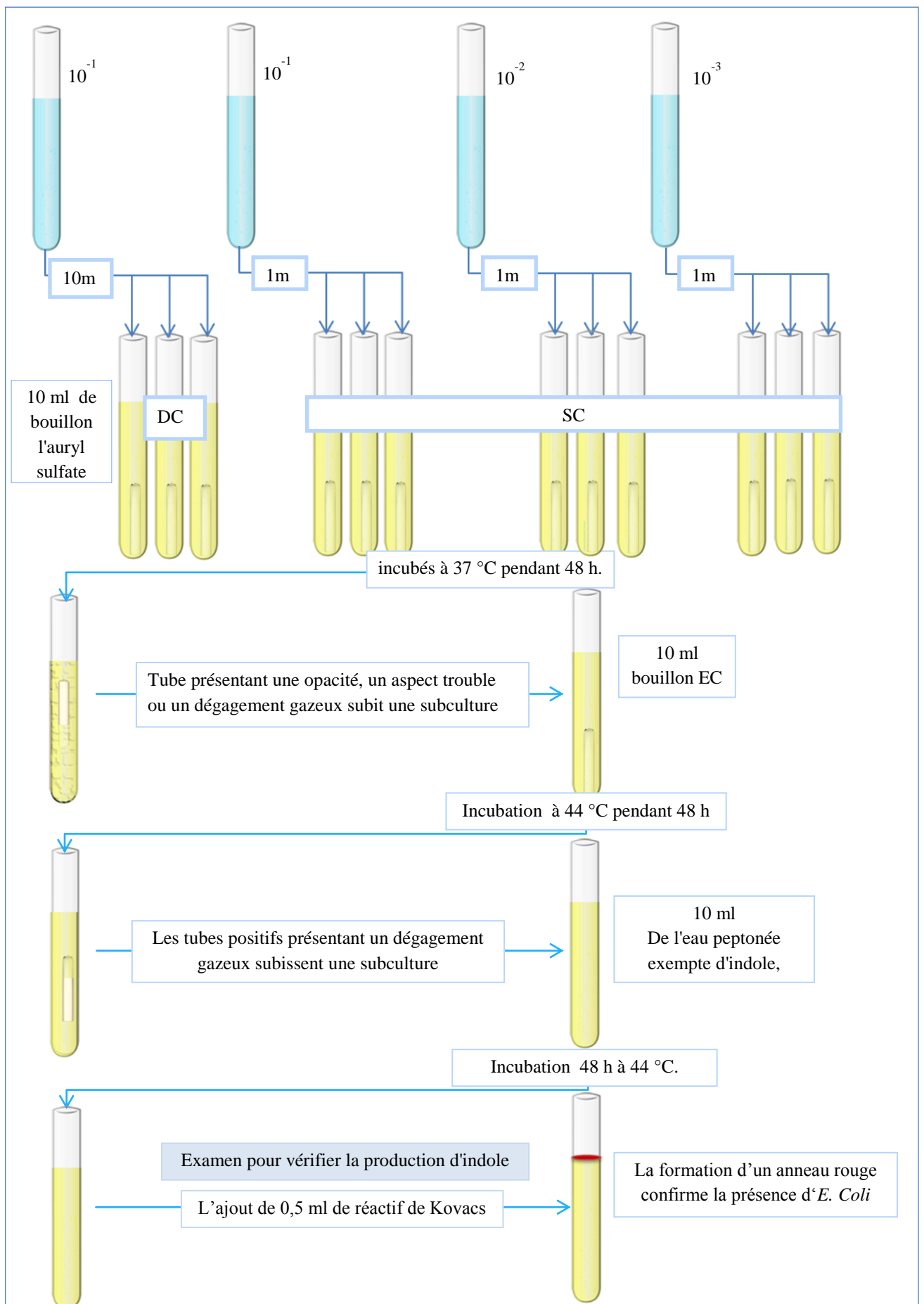
Après incubation les tubes sont ensuite examinés pour vérifier la production d'indole résultant de la dégradation du tryptophane dans les constituants peptonés par l'ajout de 0,5 ml de réactif de Kovacs, La formation d'un anneau rouge confirme la présence 'E. Coli (annexe 06).

On obtient le nombre exact de germes d'E. Coli par gramme de fruit à coque en appliquant la formule suivante :

$$N = \frac{(NPP * Fd)}{v}$$

- **V** = volume inoculer.
- **Fd** = taux de dilution correspondant à la dilution la plus faible.
- **NPP** = Le nombre le plus probable d'Escherichia coli est déterminé au moyen de la table de Mac Grady d'après le nombre de tubes dont les subcultures ont donné une production de gaz dans le bouillon EC et une production d'indole dans l'eau peptonée.

Les résultats sont exprimés en UFC/g.



**Figure 23.** Méthodes d'analyses microbiologiques pour *Escherichia coli*.

### 1.5.1.2.3 Dénombrement et identification de la flore fongique :

#### 1.5.1.2.3.1 Dénombrement des moisissures

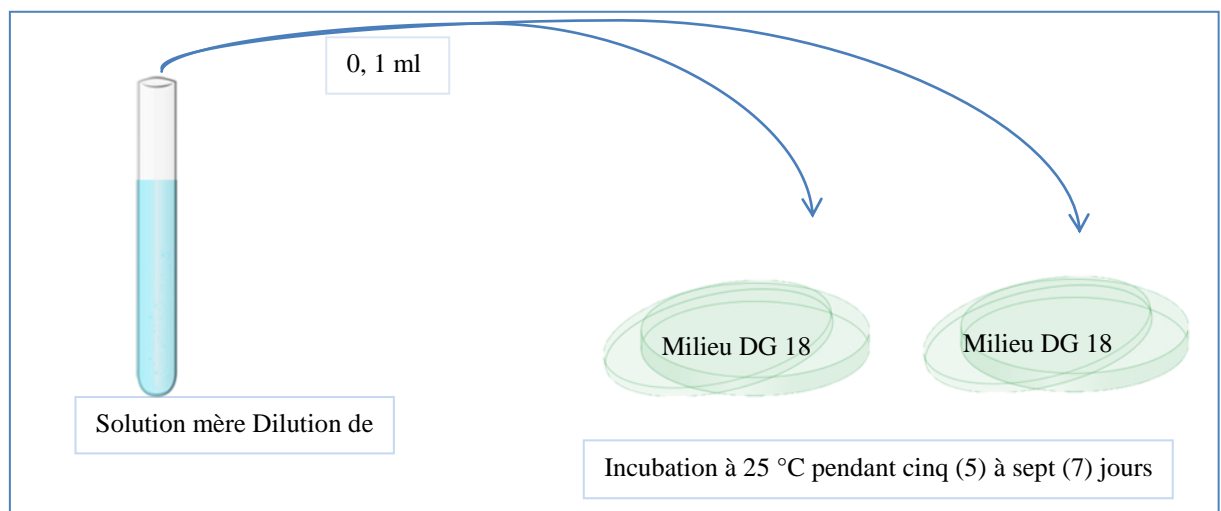
Selon la norme algérienne (JORA. N° 52 .30 septembre 2015).

La méthode utilisée est l'ensemencement par incorporation à la gélose DG 18(Dichloran à 18% (concentration en masse) de Glycerol) qui consiste à dénombrer les microorganismes viables présents dans les produits, dont l'activité d'eau est inférieure ou égale à 0.95. Les ensemencements sont effectués avec la solution mère à la surface de la gélose.

#### 1. Ensemencement et incubation

0,1 ml de la suspension mère, est transféré avec une pipette stérile dans une boîte de gélose DG18 (Annexe 07) le liquide est étalé sur la surface de gélose par un râteau jusqu'à ce que le liquide soit entièrement absorbé par le milieu.

Les boîtes sont incubées en aérobiose, couvercles en haut, dans l'Étuve à 25 °C pendant cinq (5) à sept (7) jours (Annexe 08).



**Figure 24.** Méthode de recherche et dénombrement des moisissures.

Le nombre exact de moisissure par gramme de fruit à coque est calculé en appliquant la formule suivante :

$$N = \frac{(\Sigma c)}{V * 1.1 * d}$$

- N = nombres de colonies.
- $\Sigma C$  : somme totale de colonies comptées sur les boîtes retenues.
- V = volume de dilution.
- d = dilution à partir de laquelle les dénombrements sont obtenus.

Les résultats sont exprimés en UFC/g.

#### 1.5.1.2.3.2 *Identification des moisissures*

L'identification des genres a reposé sur des caractères cultureux (macroscopiques) et morphologiques (microscopiques) (**Botton *et al*, 1990**).

➤ ***Etudes des caractères cultureux (macroscopiques) :***

L'examen macroscopique consiste en une observation avec binoculaire ou à l'œil nu des caractères cultureux des colonies.

Les caractères cultureux ainsi étudiés sont :

- La vitesse de croissance.
- La couleur des colonies.
- La texture du thalle.
- La présence ou l'absence des exsudations.
- La couleur et le changement de la couleur du milieu.

➤ ***Etudes des caractères microscopiques :***

L'observation de la morphologie des chaînes de spores et celle du mycélium s'est faite en employant la technique du montage sans coloration. Les préparations microscopiques se font à l'état frais en milieu liquide entre lame et lamelle. La manipulation consiste à mettre un petit fragment mycélien sur une lame propre placée entre deux becs bunsen (**Botton *et al*, 1990**), puis le recouvrir délicatement d'une lamelle en évitant de créer des bulles d'air ou des débordements. Le liquide en excès est épongé doucement avec un papier absorbant. On procède ensuite à l'examen au microscope.

Un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants de diagnose (**Cahagnier et Richard-Molard, 1998**).

#### 1.5.1.2.4 **Recherche de *salmonella***

Selon la norme algérienne (**JORA. N° 44 .23 juillet 2017**). La recherche de *salmonella* se fait par quatre(4) étapes : Préenrichissement, enrichissement, isolement et identification.

***Jour1: Préenrichissement en milieu non sélectif liquide:*** Prélever 25 grammes de chacun de pistache et arachide et d'amandes est les met dans des flacons différents de 225 ml d'eau peptonée tamponnée (EPT c'est un milieu nutritif non inhibiteur) (Annexe 09) à une température ambiante, Puis incubée à 37 ° pendant 18 h .Cette étape permet la récupération des



bactéries Salmonella ayant subies des contraintes physiques ou chimiques (traitement de chaleur, congélation, déshydratation, agents de conservation) .

***Jour 2: Enrichissement en milieux sélectifs liquide:*** (contenant des agents inhibiteurs actifs sur les germes qui font concurrence aux Salmonella).

L'enrichissement s'effectue sur deux milieux sélectifs différents (Annexe 10) :

Le milieu de Rappaport-Vassiliadis avec soja (bouillon RVS) réparti à raison de 10 ml par tube.

Le milieu Muller- Kauffmann Au Tétrathionate- Novobiocine (MKTTn) réparti à raison de 10 ml par tube. L'enrichissement proprement dit, se fait donc à partir de la culture déjà préparée.

Donc on ensemence 1ml de la culture obtenue après le pré-enrichissement dans un tube contenant 10 ml de bouillon RVS et également transférer 0.1 ml de la culture obtenue après le pré-enrichissement dans un tube contenant 10 ml de bouillon MKTTn.

On incube le bouillon RVS ensemencé à 41,5 °C pendant 24 h et le bouillon MKTTn à 37°C pendant 24 h (Annexe 11.12).

***Jour 3: Isolement: L'isolement se fait sur Deux milieux sélectif :*** gélose Bismuth Sulphite et gélose Xylose Lysine Désoxycholate (XLD) par ensemencement en stries de 0, 1 ml de la culture obtenue dans le bouillon RVS et MKTTN après l'incubation, les boîtes sont incubées pendant 24 h à 37°C.

***La confirmation :*** Pour la confirmation, prélevée à partir de chaque boîte de chacun des milieux sélectifs (XLD) et (Bismuth Sulphite), au moins, une colonie considérée comme caractéristique pour chaque milieu ou quatre colonies, si la première est négative.

Ensemencer les colonies sélectionnées sur la surface de boîtes de gélose nutritive préalablement séchées, de façon à permettre le développement de colonies bien isolées. Incuber les boîtes, ainsi ensemencées à 37 °C pendant 24 h

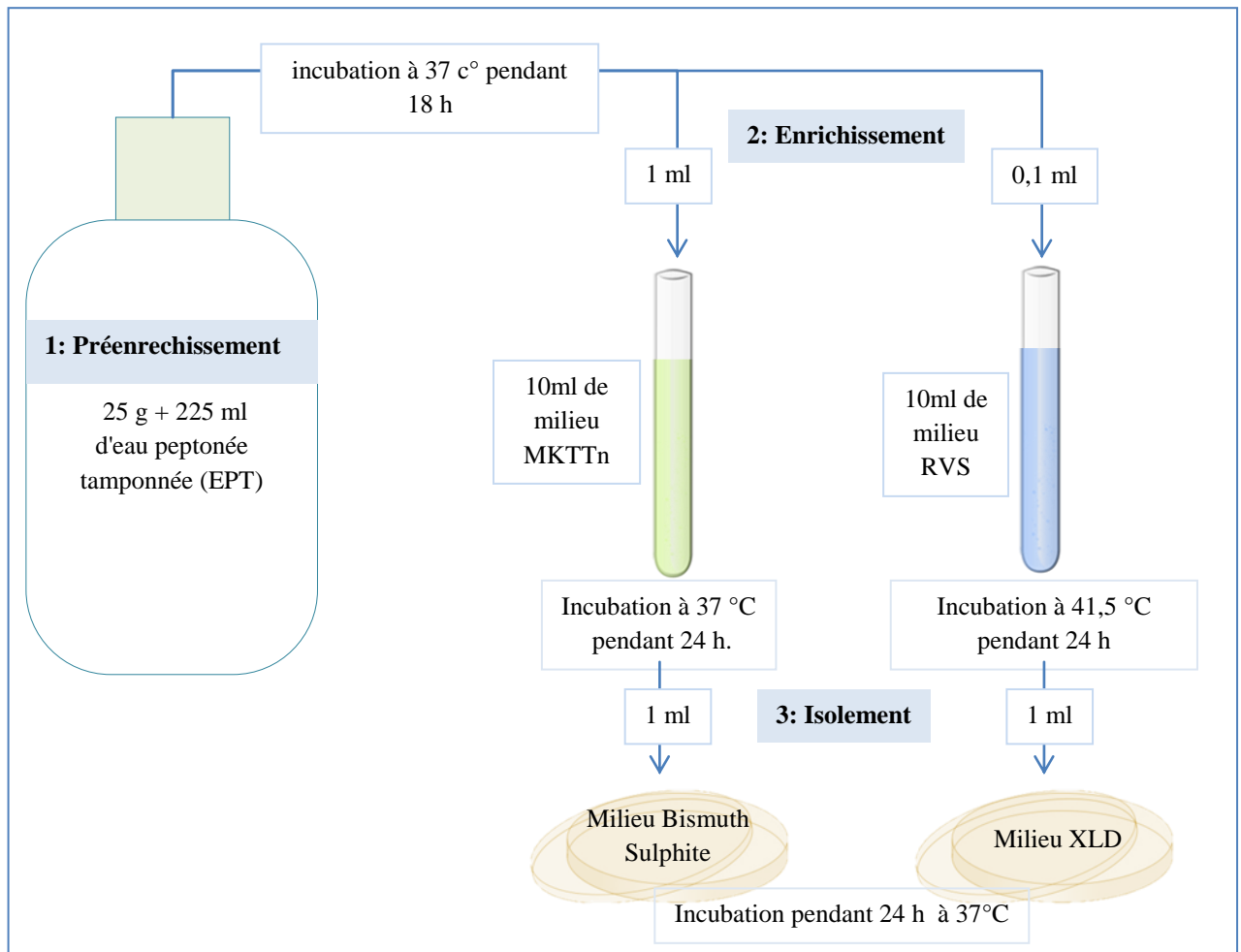
Après incubation, effectuer un test biochimique et sérologique sur les colonies cultivées dans la gélose non sélective.

L'essai biochimique comprendra :

- Gélose STI.
- Gélose à l'urée de Christensen.

- Décarboxylase Lysine.
- $\beta$ -galactosidase (facultatif).
- réaction indole (facultatif).

Les résultats des tests biochimique sont ensuite interprétés selon le tableau indiqué dans le (JORA N°44 23 juillet 2017) (Annexe13).



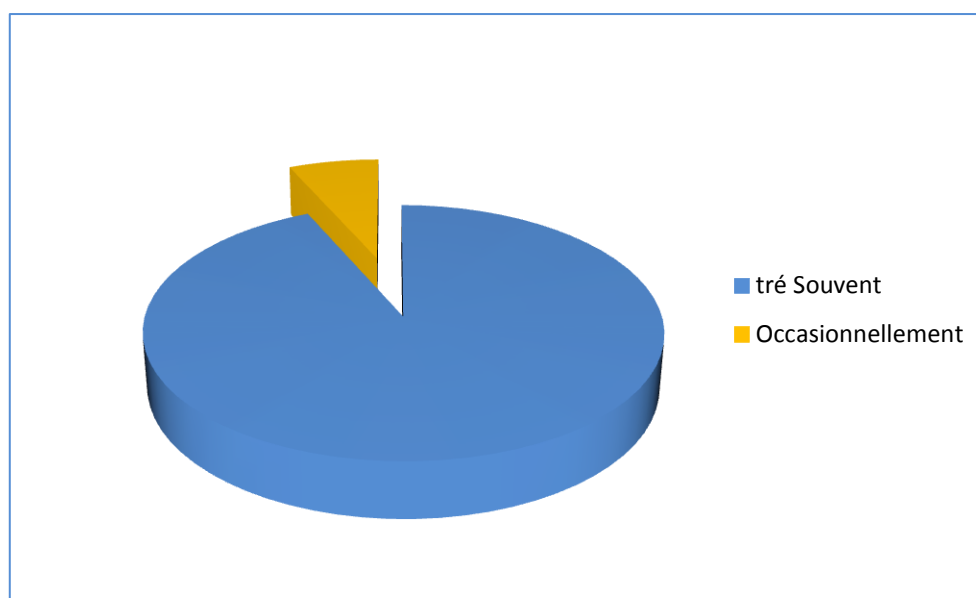
**Figure 25.** Méthode de recherche de *salmonella*.

# **Chapitre II**

## **Résultats et discussion**

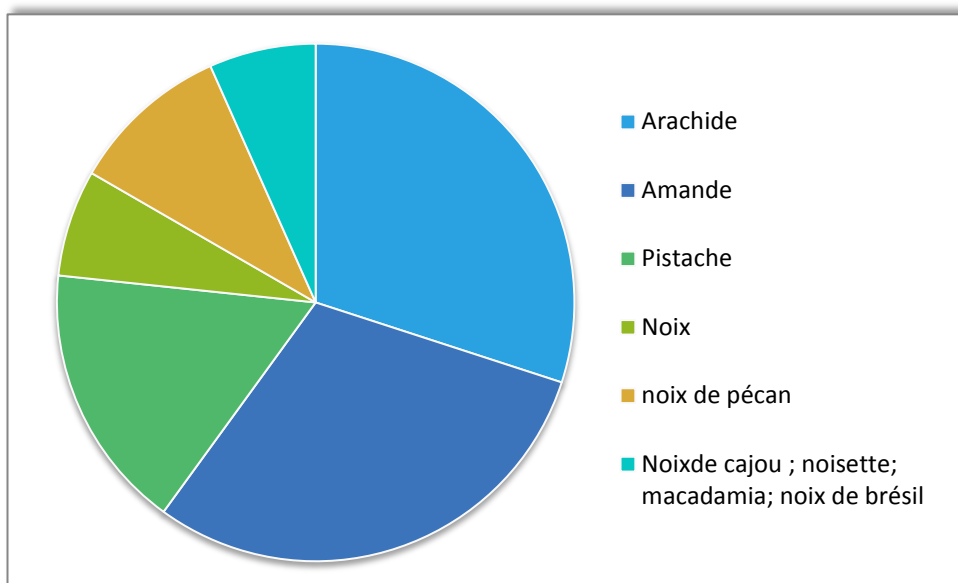
## 2.1 Résultats de l'Enquête socio-économique

Sur les 30 personnes de la ville de Blida interrogées, 87 % confirme une consommation régulière des fruits à coque ce qui indique que ce type de denrée alimentaire est appréciée par la population locale. Les 13 % consommant occasionnellement les fruits à coque appartiennent vraisemblablement à une couche sociale incapable de s'en procurer à cause de leur coût qui reste assez chère (figure 26).



**Figure 26.** La fréquence de consommation du fruit à coque à Blida.

Cette étude a révélé aussi que les fruits secs les plus consommés dans la ville de Blida se divisent en deux groupes distincts (figure 27). Une gamme classique dominante regroupant les amandes, cacahuètes, pistaches, noix de pécan, noix de cajou, et noix. Cette gamme à elle seule représente 93 % de fruits à coque consommés par les personnes interrogés dans la ville de Blida. Une autre gamme regroupant les noisettes, les macadamia, les noix de brésil. Les produits de cette gamme ne dépassent pas le seuil de 7 %, ceci pourrait être expliqué par le fait qu'elles sont introduites nouvellement dans la cuisine algérienne .



**Figure 27.** Les types des fruits à coque les plus consommés à Blida.

## 2.2 Résultats d'Analyse microbiologique

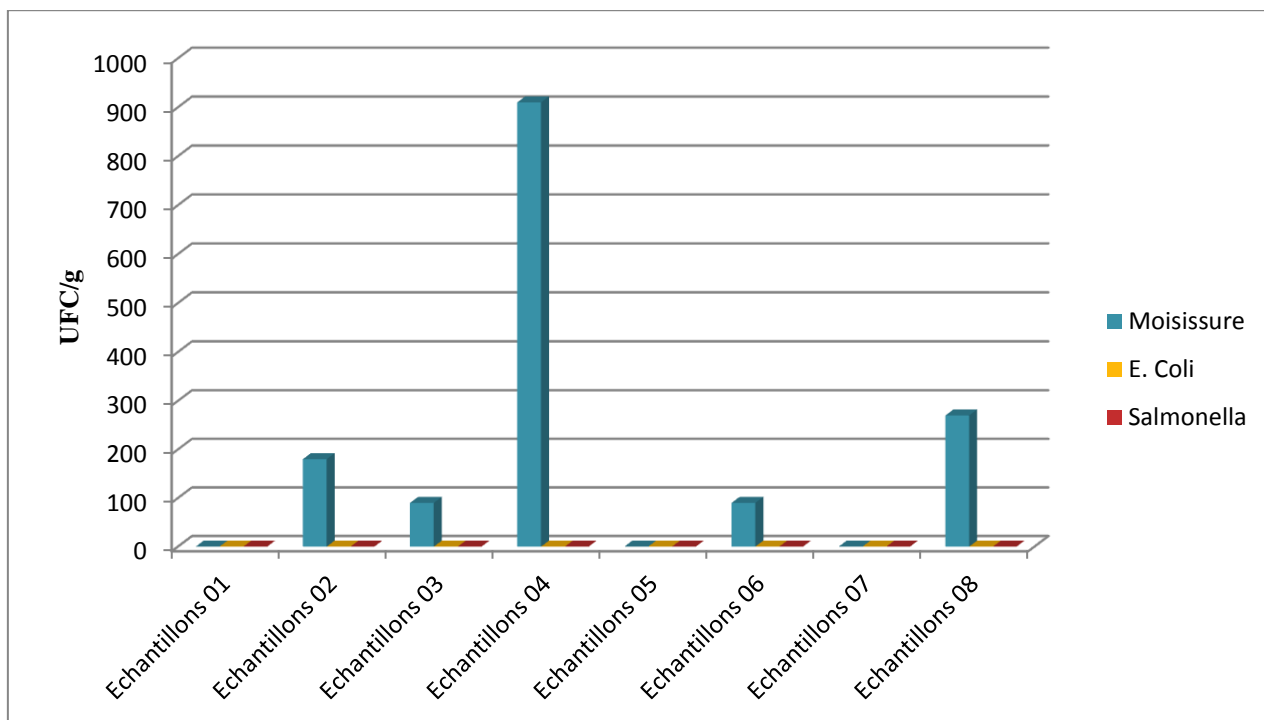
L'enquête socioéconomique nous a incité à évaluer la qualité microbiologique de la gamme des fruits à coque les plus consommés dans la ville de Blida (pistache, arachide, amande).

Dans cette étude, 22 échantillons de fruits à coque composés (d'amandes, arachide et pistache) ont été testés pour la présence de germe d'altération, et les niveaux de contaminants.

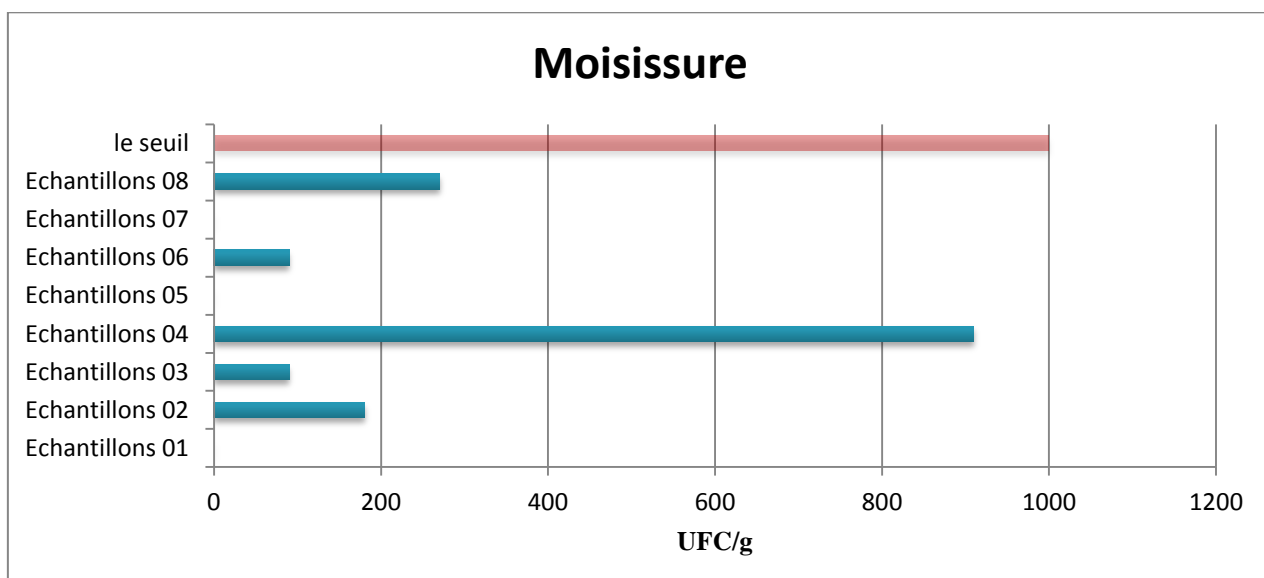
L'échantillonnage a été réalisé durant la saison printanière (ramadan, aide al fitr) de l'année 2021. Selon les critères microbiologiques relatifs aux fruits à coque du journal officiel Algérien (**JORA N° 39 de 2 juillet 2017**).

Les résultats de l'analyse microbiologique des huit échantillons de l'arachide ont montrés que 5/8 des échantillons analysés sont contaminés par les moisissures (figure 28) avec une valeur qui varie entre  $0.9 \cdot 10^2$  UFC/g et  $2.7 \cdot 10^2$  UFC/g, (figure 29). Le seuil de cette contamination est inférieur à la limite maximale fixée par la réglementation algérienne qui est de l'ordre de  $10^3$ UFC/g (tableau 04).

Par ailleurs une absence totale d'*Escherichia coli* et de *salmonella* est enregistrée dans tous les échantillons analysés (figure 28).



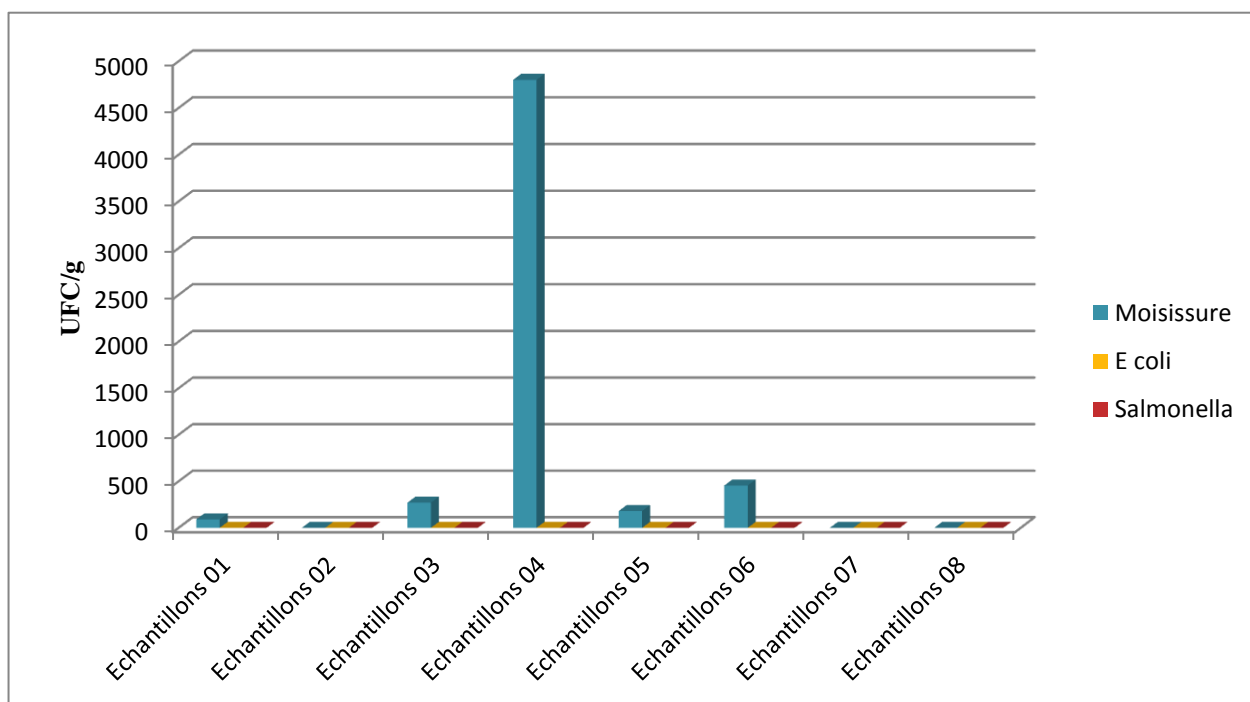
**Figure 28.** Résultats de l'analyse microbiologique des échantillons d'arachide en UFC/g.



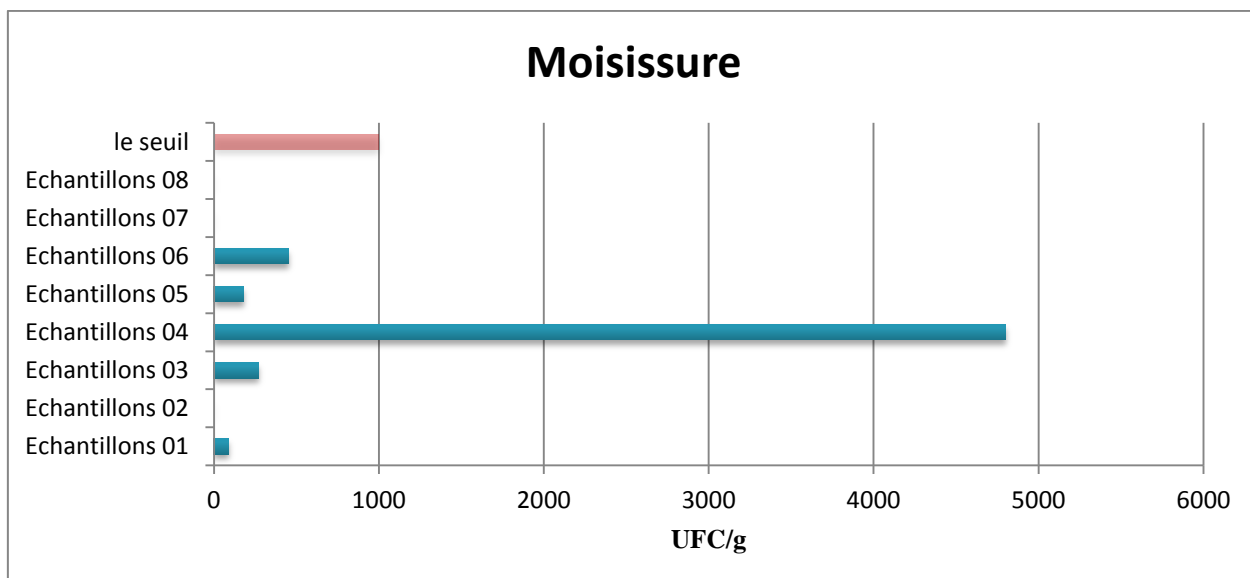
**Figure 29.** Résultats du dénombrement de moisissures des échantillons d'arachide en UFC/g.

Pour l'amande, sur les huit échantillons analysés 5/8 échantillons sont contaminés par les moisissures (figure 30), le taux de cette contamination varie entre  $0.9 \cdot 10^2$  UFC/g et  $4.5 \cdot 10^2$  UFC/g (figure 31), Cependant un échantillon présente un taux de contamination de  $4.8 \cdot 10^3$  UFC/g supérieure à la limite fixée par la réglementation algérienne qui est de l'ordre de  $10^3$  UFC/g (tableau 04).

De plus nous avons trouvés une absence totale d'*Escherichia coli*, et de *salmonella* dans tous les échantillons (figure 30).



**Figure 30.** Résultats de l'analyse microbiologique des échantillons d'amandes en UFC/g.

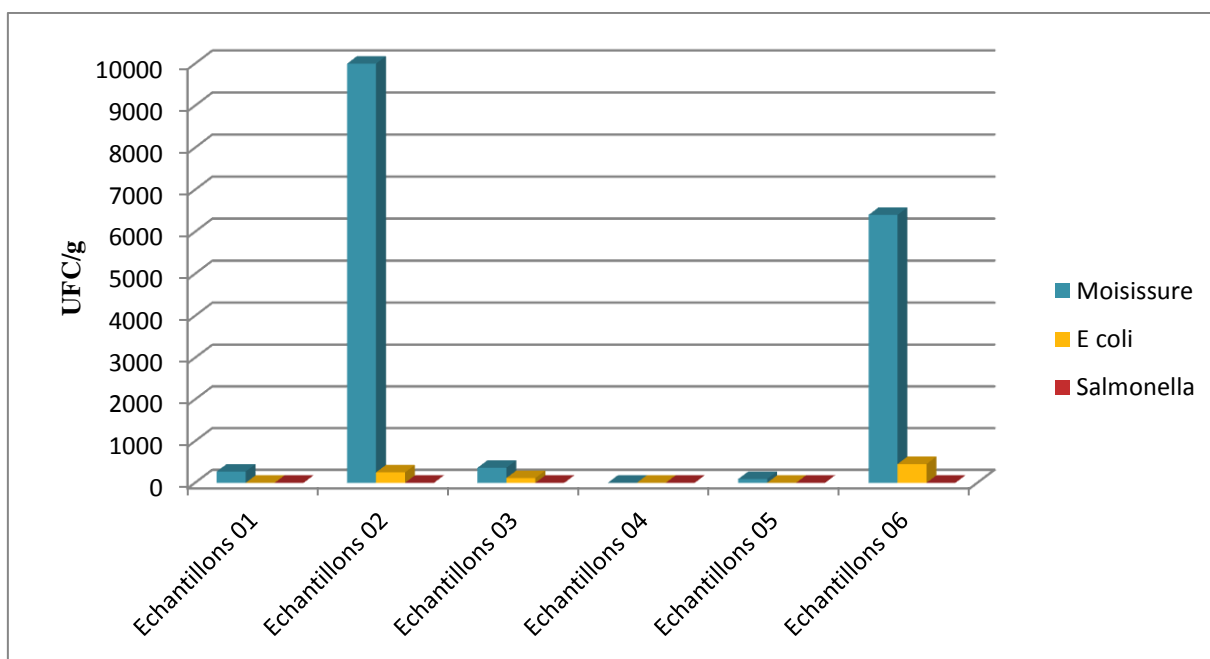


**Figure 31.** Résultats du dénombrement de moisissures des échantillons d'amandes en UFC/g.

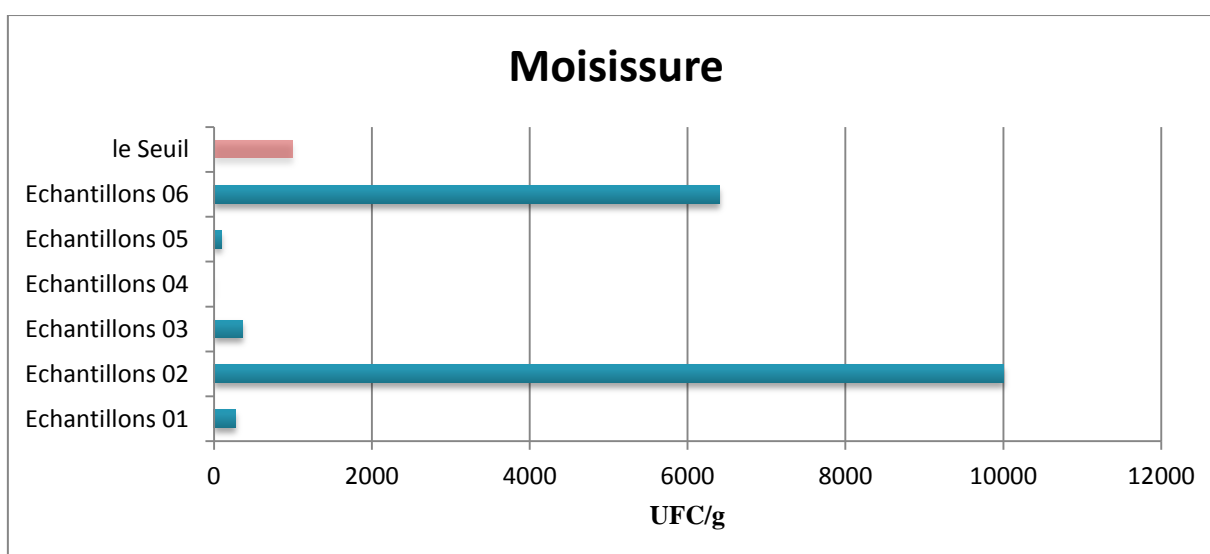
Les analyses microbiologiques sur le pistache indiquent que 5/6 échantillons sont contaminés par les moisissures (figure 32), 2/5 de ces échantillons ont des valeurs très élevés (figure 33) qui dépassent la limite fixée par la réglementation algérienne qui est de l'ordre de  $10^3$ UFC/g (tableau 04).

En contrepartie trois sur six échantillons de pistache analysés relèvent des taux d'E Coli dépassant 20 UFC/g (limites fixées par la norme algérienne) (tableau 04). Ces résultats représentés dans la figure 6 montrent que le taux de contamination oscille entre une valeur maximale de  $4.5 \cdot 10^2$  UFC/g. et une valeur minimale de  $1.2 \cdot 10^2$  UFC/g (figure 34).

Une absence totale de *salmonella* a été notée dans tous les échantillons. (Figure 32).

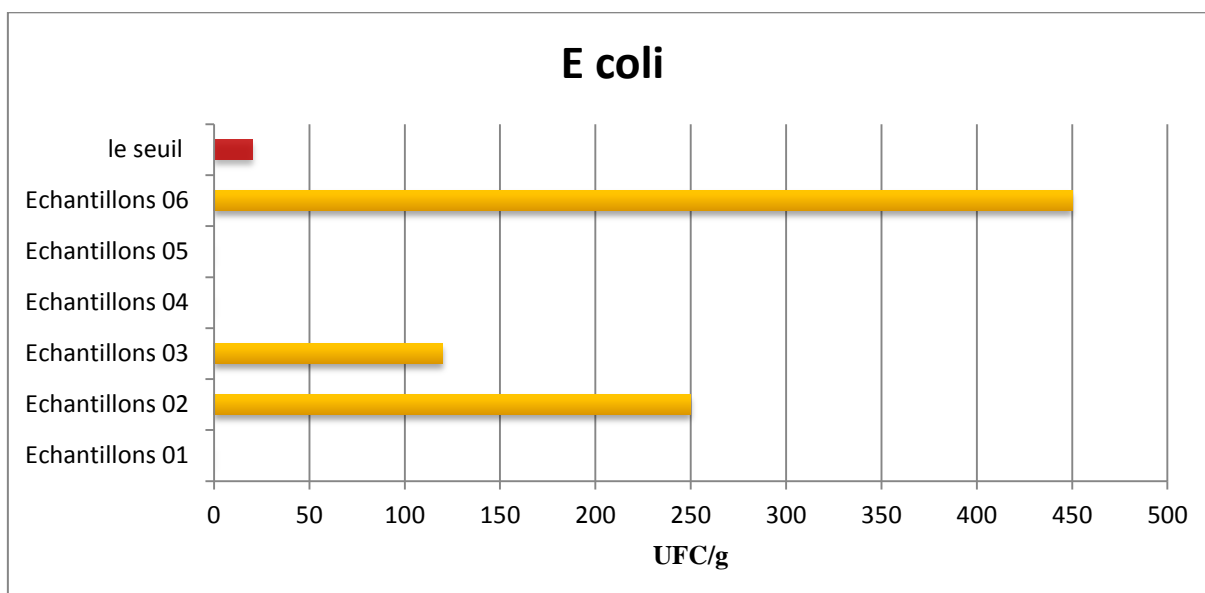


**Figure 32.** Résultats de l'analyse microbiologique des échantillons de pistaches en UFC/g.



**Figure 33.** Résultats du dénombrement de moisissures des échantillons de pistaches en UFC/g





**Figure 34.** Résultats du dénombrement d'E Coli des échantillons de pistaches en UFC/g.

### 2.3 Identifications des genres fongiques :

L'identification des différents genres des moisissures isolés après l'analyse microbiologique de fruits à coque est basée sur l'étude des caractères cultureux (macroscopiques) (couleur, aspect de colonie et le revers des boîtes ...) et microscopiques (forme de thalle et des spores...) des souches fongiques isolées.

#### 2.3.1 Identification macroscopique

Les caractères macroscopiques des différentes souches, isolées des échantillons et cultivées sur milieu DG18 (Annexe : 08), sont présentés dans le tableau 05.

#### 2.3.2 Identification microscopique

Dans le but de caractériser les genres mycologiques des différents échantillons des fruits à coque étudiés, une observation microscopique est réalisée. Les isolats fongiques obtenus sont représentés par un seul genre nommé *Aspergillus* (Tableau 06).

**Tableau 05.** Caractères macroscopiques des souches de moisissures isolées à partir des échantillons des fruits à coque (arachides, amandes, pistache).



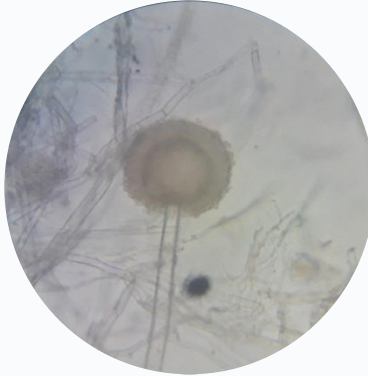
Code de la souche		Recto de la boîte			Verso de la boîte
		Couleur	Forme	Texture	Couleur
AR	AR /2	Blanc	En dôme	duveteuse	Jaune
	AR /3				
	AR /4				
	AR /6				
	AR /8				
AM	AM /1	Blanc-jaune	En dôme	duveteuse	Blanc
	AM /3				
	AM /4				
	AM /5	Blanc	En dôme	duveteuse	Blanc
	AM /6				
PS	PS/1	Blanc-jaune	En dôme	duveteuse	Jaune
	PS/2				
	PS/3	Blanc	En dôme	duveteuse	Blanc
	PS/5				
	PS/6				

**PS : pistache**

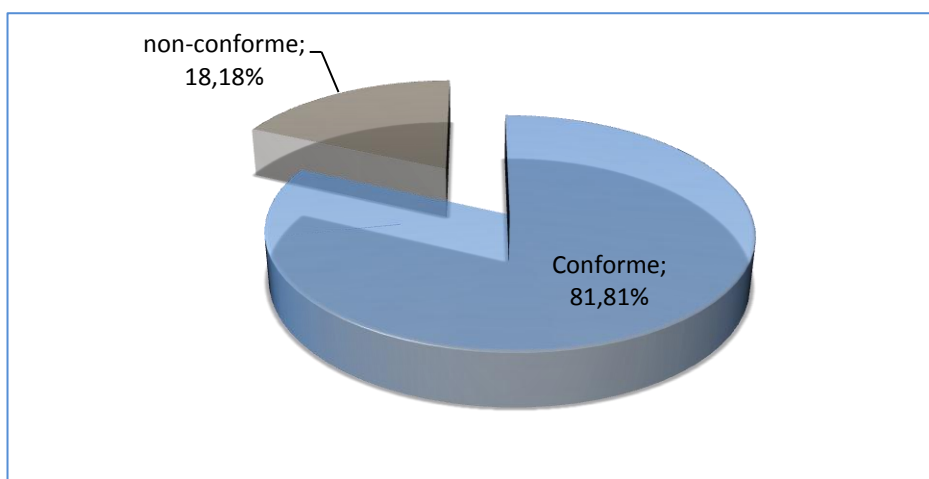
**Am : amande**

**AR : arachide**

**Tableau 06.** Caractères microscopiques des souches de moisissures isolées à partir des échantillons des fruits à coque (Arachide, Pistache, Amande).

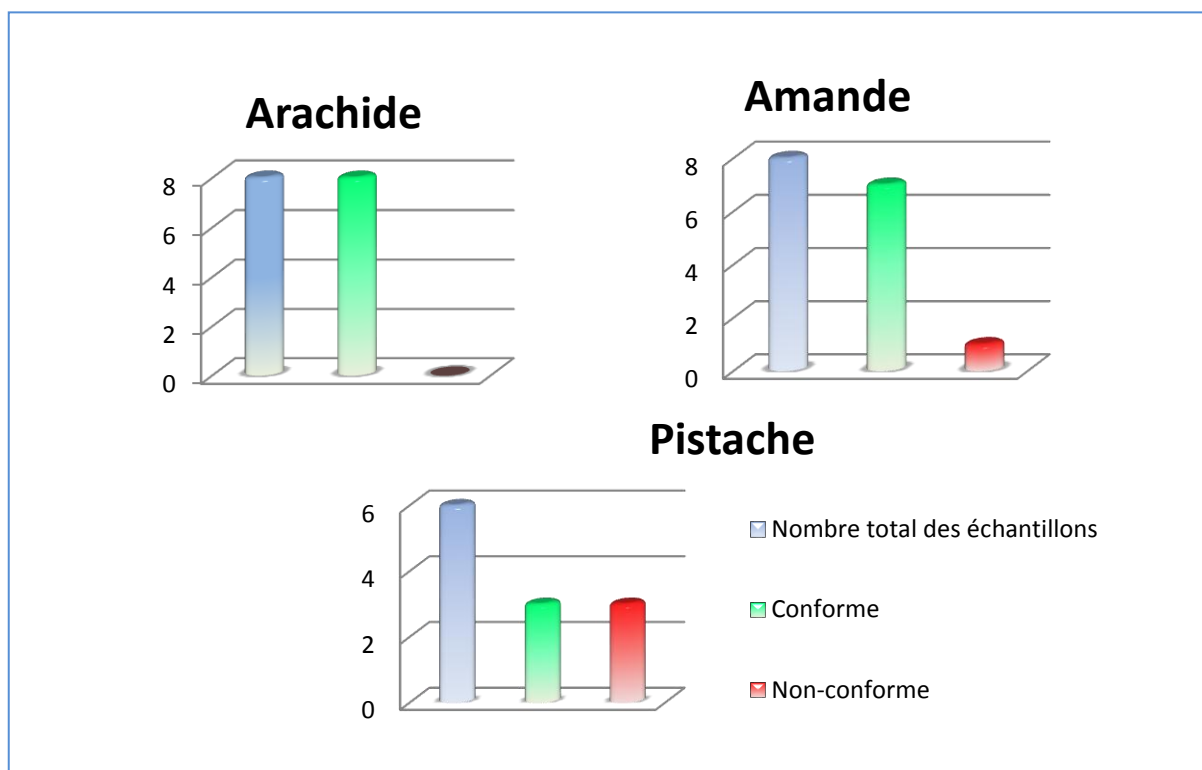
Code de la souche	Identification du germe	Les caractères
<p>AR /2, 3, 4, 6, 8                      AM/1, 3, 4, 5, 6                      PS/1, 2, 3, 5,6</p>	<p>Aspergillus Sp1</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Les têtes conidiennes, unisériées, d’abord radiées, puis reparties en plusieurs colonnes de spores</li> <li>• Les conidiophores longe hyalins</li> <li>• vésicules sont sphériques.</li> <li>• Les phialides sont insérées directement sur la vésicule</li> <li>• Les conidies sont globuleuses verruqueuses.</li> </ul>
<p><b>Quelques exemples d’observation microscopique (GX 400)</b></p>		
		

## 2.4 Evaluation de la non-conformité globale



**Figure 35.** La non-conformité globale.

Selon les critères microbiologiques relatifs au fruits à coque, les résultats des analyses microbiologiques ont montrés que 18.18% des échantillons de fruits à coque prélevés au niveau des magasins de commerce de la ville de Blida ne répondaient pas aux Critères réglementaires (figure 35), la pistache représente le fruit à coque le plus contaminé car 50% de ces échantillons sont non-conformes, suivi par l’Amande qui a une pourcentage d’une non-conformité de 12.5% ( figure 36).



**Figure 36.** Répartition des échantillons de fruits à coque par classe de conformité.

En ce qui concerne les germes incriminés dans la non-conformité de fruits à coque analysés, on constate que :

Pour les moisissures les résultats ont montrés que des colonies appartenant au groupe des moisissures ont été trouvés dans 15/22 d'échantillons analysés. (3/15) de ces échantillons contaminés dépassent les limites fixées par la norme algérienne qui est de l'ordre ( $10^3$  UFC/g). Le pourcentage de la non-conformité par les moisissures est de 0 % pour l'arachide, 9.09% pour la pistache et 4.5% pour l'amande.

D'après **Filtenborg et al, 1996** la contamination d'un aliment par les moisissures provoque des modifications physiques, des altérations de la qualité organoleptique et des modifications chimiques (modification des qualités nutritives) .La présence des moisissures dans les fruits à coque analysés est probablement due au contact du fruit à coque avec le sol de verger pendant la récolte, et aux conditions de stockage (forte humidité, température élevé). De même un mauvais séchage des graines avant le stockage peut aussi contribuer à l'apparition plus fréquente de moisissures (**Codex, 2005**).

La plus part des échantillons analysés sont conformes avec les limites fixées par la réglementation, mais ceci n'empêche pas le danger, car le genre *Aspergillus* identifier à partir des isolats fongiques à des espèces qui peuvent être directement pathogènes pour l'homme et les animaux ,en étant capable d'envahir les tissus vivants et de provoquer des aspergilloses (*Aspergillus fumigatus* responsable de mycoses pulmonaires ; *Aspergillus niger* responsable d'aspergillose du conduit auditif) (**Morin, 1994**).

De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont aussi connues pour leur capacité à produire de substances hautement toxiques au cours de leur prolifération sur ou dans les aliments d'origine végétale notamment les fruits à coque , ces substances qu'on regroupe sous le nom des mycotoxines ont une composition chimique très variable, ce qui fait que leurs propriétés physicochimiques et toxicologiques sont extrêmement variées. L'ingestion répétée au cours d'une vie de petites quantités de mycotoxines ayant des propriétés cancérigènes ou immunotoxiques (**Dragacci et al, 2011**). En effet, des études récentes réalisées sur des denrées alimentaires commercialisées en Algérie ont mis en évidence la présence d'aflatoxines et d'ochratoxines dans le blé et les arachides (**Guezlane-Tebibel, 2016**).

Pour les *E. Coli*, 13.63% des échantillons analysés sont contaminés et dépassent la limite fixée par la norme algérienne (20 UFS/g).

Les *E. Coli* sont des bactéries entériques caractérisés parfois par sa pathogénicité qui peut provoquer des syndromes hémolytiques et urémiques et conduire à la mort, en particulier chez les enfants, et les personnes âgées et les immunodéprimés (**Brandl, 2006**). Selon **Brandl en 2006**, la détection de *E. Coli* dans les échantillons de fruits à coque analysés fournit la preuve que les échantillons ont été contaminés par des matières fécales qui peuvent avoir comme origine le sol de verger ou l'eau d'irrigation contaminé. Ainsi, la présence de cette espèce bactérienne indique que les produits ont été mal manipulés par le personnel impliqué et démontre les mauvaises pratiques d'hygiène pendant la récolte, et au moment du séchage et au cours de la commercialisation de ces derniers. (**Codex 1972**).

Par ailleurs, une absence totale de la *salmonella* est enregistrée dans nos échantillons. Un résultat similaire a été constaté dans une enquête sur la qualité hygiénique des fruits secs réalisés par **Taouda et al, 2011** au centre du Maroc.

La contamination des fruits à coque par la *salmonella* est un problème de santé publique en raison de sa capacité à provoquer des maladies chez l'homme même à des faibles concentrations, et de son potentiel à survivre à l'acide gastrique dans les aliments à haute teneur en matières gras. D'après **Munck et al en 2020**, Une présence de cette dernière dans les aliments est considérée comme insatisfaisant et potentiellement dangereux pour la santé quel que soit le niveau de contamination.

Les fruits à coque peuvent être contaminés par des agents pathogènes d'origine alimentaire à n'importe quel stade de la production, de transformation, de stockage et de la distribution. (**Brar et al, 2018**). À la suite d'une contamination accidentelle, les pathogènes entériques ont la capacité à survivre pendant des périodes prolongées sur le fruit et provoquent une infection d'origine alimentaire (**Brandl, 2006**). Plusieurs études ont été menées pour élucider la survie de *Salmonella*, *E. Coli* O157 sur les fruits à coque, ces enquêtes ont démontrés que les agents pathogènes ne se multiplient pas sur les fruits à coque, mais peuvent y survivre (**Feng et al, 2018**). Une étude réalisée par Blessington et al a enregistré la survie d'*E. Coli* O157: H7 sur les fruits à coque inoculées avec 400 UFC/g après trois mois de stockage dans des conditions ambiantes (**Blessington et al, 2013**). De même, Brar et al. et Kimber et al en 2012 ont démontrés que *E. Coli* O157 peuvent survivre sur les arachides crues, les pacanes, les amandes et les

pistaches, lorsqu'elles sont conservées dans des conditions ambiantes (22–24 ° C, HR 39–64%) pendant 12 mois.

Malgré que le pourcentage des échantillons non conformes (18.18%) est plus faible par rapport au pourcentage des échantillons conformes (81.81), mais ces résultats montrent un danger, car un problème de santé majeur peut survenir lors de la consommation de ces fruits à coque contaminées. Dans ce contexte cette situation demande un haut niveau de vigilance, de surveillance et de contrôle systématique de ses produits afin de pouvoir détecter les sources de contamination, et prendre les dispositions appropriés . L'organisation du contrôle doit aussi s'adapter à la complexité croissante des circuits d'exportation/importation. Elle s'applique tout au long de la chaîne, depuis le stade de production jusqu'au stade de distribution, on mettant en place les méthodes de la démarche qualité tels que la méthode Hazard analysis and critical control point (HACCP).

# **Conclusion**



## Conclusion

Cette étude préliminaire focalisée essentiellement sur la qualité microbiologique des fruits à coque, par le dénombrement des microorganismes d'intérêt hygiéniques et par la recherche des microorganismes d'altération notamment les moisissures. Ce travail a été réalisé au laboratoire de contrôle de qualité et répression des fraudes de la wilaya de Blida durant la saison printanière (ramadan , et aide al fitr ) de l'année 2021, Au total 22 échantillons de fruits à coque (amandes, cacahuètes, pistaches), prélevés et choisis selon les résultats d'une enquête sur terrain sur les espèces des fruits à coque les plus consommés par les habitants de la wilaya de Blida. Les échantillons ont été prélevés au niveau des différents points de vente, à savoir les grandes surfaces, les détaillants et les marchés de Cinq villes de Blida : Ouled yaich, Beni mered, treize mai, Bouinan, Oued el alleug.

En effet, les résultats de l'analyse microbiologique ont montrés que 81.81 % des échantillons de fruits à coque prélevés dans de différents villes de la wilaya de Blida sont conformes aux critères réglementaires, tandis que 18.18 % des échantillons ne répondaient pas aux exigences fixées par la réglementation. Les germes incriminés dans cette non-conformité sont les *E. Coli* et les moisissures. Par ailleurs, il est très important de noter l'absence totale de *salmonella* dans tous les échantillons analysés.

Une contamination de (3/22) des échantillons par *E. Coli* a été enregistré. Un intervalle variant entre une valeur maximale de  $4.5 \cdot 10^2$  UFC/g.et une valeur minimale de  $1.2 \cdot 10^2$  UFC/g est constatée, celle-ci dépasse la limite fixée par la réglementation algérienne qui est de l'ordre de (20 UFC/g). Ce germe a été détecté seulement sur les échantillons de pistache.

Concernant les moisissures (15/22) des échantillons analysés sont contaminés, 13,36% de ces échantillons ont dépassés la limite de la réglementation qui est de l'ordre ( $10^3$ UFC/g), la valeur maximale de cette contamination a été noté dans les échantillons de pistaches qui est de l'ordre  $1.0 \cdot 10^4$  UFC/g, la plus part des isolats identifiées pour cette contamination sont des *Aspergillus*.

La présence des *E. Coli* dans les échantillons analysés est un témoin d'un non-respect des conditions d'hygiène et de stockage des fruits à coque, cela présente un problème de santé majeure, car cette bactérie peut provoquer des syndromes hémolytiques et urémiques et

conduire à la mort. La présence des moisissures pose aussi un problème, car la plus part des isolats identifiés sont des *aspergillus* qui constituent un dommage réel pour la santé humaine et animale par la sécrétion de substances hautement toxiques regroupées sous le nom des mycotoxines, surtout si elles sont ingérées de façon répétée, et ceci a été confirmé par l'enquête qui a montré qu'il y a une bonne majorité de la population blidienne qui consomment les fruits à coque très souvent. Par conséquent, cette situation rend l'évaluation et le contrôle de routine de ce produit important.

De plus, l'application des bonnes pratiques agricoles, de fabrication et de stockage et très importantes pour maintenir la qualité hygiénique de l'environnement et de l'équipement de transformation des fruits à coque, ainsi que la mise en place du système d'analyse des risques et de maîtrise des points critiques (HACCP) qui englobent toutes les étapes de production, de transformation et de distribution pour contribuer à garantir la sécurité microbienne de ce produit.

En perspective de ce travail, nous envisagerons d'entamer une étude plus générale et systématique de la contamination de ce type d'aliments par les moisissures et leurs mycotoxines, et par autres germes qui ne sont pas été mentionnés dans le JORA et qui sont déjà étudiés dans des enquêtes d'analyse microbiologique des fruits à coque dans des pays étrangers comme *staphylococcus Aureus*.

De plus, La sensibilisation du consommateur, la surveillance de ce type d'aliments et la mise en place de procédures de conditionnements appropriées au près des industries seront d'une importance capitale pour améliorer la qualité hygiénique des fruits à coque et épargner le consommateur de ce type d'aliments et des risques sanitaires graves.

# **Références bibliographiques**

## A

**Al-Ahmed, N; Alsowaidi, S; Vadas, P. (2008).** Peanut Allergy: An Overview. Allergy, Asthma, and Clinical Immunology. Winter, Vol 4, N°4. P 139–143.

**Alasalvar, C; Salvadó, J. S; Ros, E. (2020).** Bioactives and health benefits of nuts and dried fruits. Food chemistry.ELSEVIER Vol 314, p126192.

## B

**Benkerroum, N. (2020).** Aflatoxines: moisissures de production, structure, problèmes de santé et incidence dans les pays d'Asie du Sud-Est et d'Afrique subsaharienne. Revue internationale de recherche environnementale et de santé publique, p17.

**Bieler, S ; Société Suisse de Nutrition SSN. (2020).** Table de composition nutritionnelle suisse. .Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaire OSAV.p 148.

**Bilharva, M. G; Martins, C. R ; Hamann, J. J ; Fronza, D; De Marco, R ; Malgarim, M. B. (2018).** Pecan: from research to the Brazilian reality. Journal of Experimental Agriculture International, Vol 23 .N°6. P1-16.

**Bintsis, T. (2017).** Foodborne pathogens. AIMS microbiology, Vol 3, N °3.p529-563.

**Blessington, T; Theofel, C. G; Mitcham, E. J; Harris, L. J. (2013).** Survival of foodborne pathogens on inshell walnuts. International journal of food microbiology, Vol 166, N°3. P341-348.

**Botton, B; Breton, A; Fèvre, M; Gauthier,S; Guy, P; Larpent, J.P ; Reymond,P ;Sanglier, J.J ; Vayssier, Y ;Veau, P. (1990),** Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, Masson, Paris.P 512.

**Brandl, M. T. (2006).** Fitness of human enteric pathogens on plants and implications for food safety. Annu. Rev. Phytopathol., Vol 44, p367-392.

**Bouillet, M. N. (1884).** Dictionnaire universel des sciences, des lettres et des arts. Hachette. p1750.

**Brar, P. K; Danyluk, M. D. (2018).**Nuts and grains: microbiology and preharvest contamination risks. Microbiology Spectrum, Vol 6, N(2), p12.

## C

**Cahagnier, B ; Richard-Molard, D. (1998).** Moisissures des aliments peu hydratés. Technique et documentation Lavoisier, p 225

**Calhoun, S. (2013).** Improving the quality and safety of peanuts. In Harris, J. Improving the safety and quality of nuts. Woodhead Publishing. pp. 330-349.

**Casas-Agustench, P; Salas-Huetos, A; Salas-Salvadó, J. (2011).** Mediterranean nuts: origins, ancient medicinal benefits and symbolism. Public health nutrition, Vol 14, N12, p2296-2301.

**Castegnaro, M; Pfohl-Leszkowicz, A. (2002).** Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans La sécurité alimentaire du consommateur, Technique et documentation Lavoisier.

**Cetin, N; Yaman, M; Karaman, K; Demir, B. (2020).** Determination of some physicochemical and biochemical parameters of hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, Vol44 ,N°5, p439-450.

**Codex.(1972).** Code D'usages En Matiere D'hygiene Pour Les Fruits A Coque. CAC/RCP .

**Codex. (2005).** Code d'usages pour la prévention et la réduction de la contamination des fruits à coque par les aflatoxines. CAC/RCP

## D

**Darriet, F. (1998).** La lutte contre les moustiques nuisants et vecteurs de maladies: l'évaluation de nouveaux insecticides utilisables contre les moustiques en Afrique tropicale. KARTHALA , p120.

**Delacharlerie, S ; de Biourge, S ; Chèné, C ; Sindic, M ; Deroanne, C. (2008).** HACCP organoleptique: Guide pratique. Presses Agronomiques de Gembloux.p167, Belgique.

**Delarras,C .(2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire? Recherche de bactéries et de levures-moisissures. Lavoisier.

**Demjanová, S ; Jevinová, P ; Pipová, M ; Regecová, I. (2021).** Identification de *Penicillium verrucosum*, *Penicillium commune* et *Penicillium crustosum* isolés d'œufs de poule. Processus, Vol 9, N°1. p53.

**Denis, F. (2002).** Les bactéries, champignons et parasites transmissibles de la mère à l'enfant. John Libbey Eurotext ,Vol1, 484 p.

**Denis, F; Cattoir, V.Martin, C., Ploy, M. C., & Poyart, C. (2016).** Bactériologie médicale: techniques usuelles. Elsevier Masson, p600.

**Dhanasekaran, D. ; Shanmugapriya, S. ; Thajuddin, N. ; Panneerselvam, A. (2011).** Aflatoxins and aflatoxicosis in human and animals. Aflatoxins-Biochemistry and Molecular Biology, 221-254.

**Dragacci, S; Zakhia-Rozis, N; Galtier, P. (2011).** Danger dans l'assiette. Quae, 184.

**Dujardin-Beaumetz; Egasse, E. (1889).** Les Plantes médicinales indigènes et exotiques, leurs usages thérapeutiques, pharmaceutiques et industriels. octave doin. Paris.P 940.

## E

**Evreinoff, V. A. (1955).** Le Pistachier. Étude pomologique. Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée, Vol 2, N(7), p 387-41.

## F

**FAO. (2012).** Prévention et maîtrise de Salmonella et Escherichia. coli entérohémorragique dans les fruits à coque Séries d'enseignements tirés, EMPRES Sécurité sanitaire des aliments, Vol. 2, p4.

**Feng, L ; Muyyarikkandy, M. S ;Brown, S. R ; Amalaradjou, M. A. (2018).** Attachment and Survival of Escherichia coli O157: H7 on In-Shell Hazelnuts. International journal of environmental research and public health, vol 15, N°6.p11.

**Filtenborg, O; Frisvad J.C; Thrane U. (1996).** Moulds in food spoilage, Int. J. Food Microbiol., Vol33, N°1. P85-102.

**Forêt, R. (2018).** Dictionnaire des sciences de la vie. De Boeck Supérieur.p1424.

**Forquin, M. P. (2010).** Étude de Brevibacterium aurantiacum, une bactérie d'affinage de fromage: de son métabolisme du soufre à son interaction avec Kluyveromyces lactis (Doctoral dissertation, AgroParisTech). P27.

**Fortin, F. (1996).** L'encyclopédie visuelle des aliments. Québec Amérique.

## G

**Ghebru, H. (1988).** Contribution à l'étude du pouvoir pathogène des Escherichia coli. Mémoire de maîtrise et Sciences Vétérinaires en Microbiologie Immunologie, Nantes.

**Gould, L. H; Mungai, E. A ; Johnson, S. D ; Richardson, L. C ; Williams, I. T ; Griffin, P. M ; Hall, A. J. (2013).** Surveillance for foodborne disease outbreaks—United States, 2009-2010. Morbidity and Mortality Weekly Report, Vol 62, N°3.p 41.

**Guezlane-Tebibel, N; Bouras, N; Ould El Hadj, M. D. (2016).** LES MYCOTOXINES: UN DANGER DE SANTÉ PUBLIC. Algerian Journal of Arid Environment “AJAE”, Vol 6, N°1, p32-49.

## H

**Harris, L. G; Foster, S. J; Richards, R. G. (2002).** An introduction to Staphylococcus aureus, and techniques for identifying and quantifying S. aureus adhesins in relation to adhesion to biomaterials: review. Eur Cell Mater, Vol4, N°3. P100-20.

**Hekimian Lethève, C; Rouzière, A; Schilling, R; Taillez, B. (2009).** Les plantes oléagineuses in Mémento de l'agronome. Quae.1697p .

**Hui, Y. H. (2015).** Plant sanitation for food processing and food service. CRC Press.1308p.

## I

**INC International Nut And Dried Fruit Council (2020).** Nuts & Dried Fruits Statistical Yearbook 2019/2020. INC . Spain. 80p.

## J

**JORA N° 38. 22 juin. (2014).** La méthode de préparation des Echantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique.

**JORA N° 39 . 2 juillet. (2017).** Les critères microbiologiques des denrées alimentaires.

**JORA. N° 44 .23 juillet. (2017).** La recherche des salmonella spp.

**JORA. N° 52 .30 septembre. (2015).** Le dénombrement des levures et moisissures par comptage des colonies dans les produits dont l'activité d'eau est inférieure ou Egale à 0,95.

**JORA. N° 64 .7 novembre. (2017).** La recherche et le dénombrement d'Escherichia coli présumés par la technique du nombre le plus probable (NPP).

## K

**Kandi, V. (2016).** Clinical significance of Bacillus species other than Bacillus anthracis. J Med Microb Diagn, Vol 5,N°2.

**Kim, J ; Srinivasan, S ; You, T ; Bang, JJ ; Park, S ; Lee, SS (2013).** Brevibacterium ammoniilyticum sp. nov. une bactérie dégradant l'ammoniac isolée des boues d'une station d'épuration. Journal international de microbiologie systématique et évolutive, Vol 63.

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

**Krasauskas, A; Paulauskienė, A; Tarasevicienė, Z. (2015).** Micromycetes contaminating nuts used for food. Biologija, vol61.p3-4.

**Kumawat, K. L ; Raja, W. H ;Chand, L ; Rai, K. M. (2017).** Nutritional value and health benefits of nuts. india. P 627- 637.

**Kurzawa , W; Ehrke, J . (2014).** Special sensory analysis of nuts and shell-fruits . Germany. p12.

## L

**Larousse,(2001).** dictionnaire de Français.Larousse/VUEF. France.

**Lautié, E ; Dornier, M ; de Souza Filho, M ; Reynes, M. (2001).** Les produits de l'anacardier: caractéristiques, voies de valorisation et marchés. Fruits, Vol 56 ,N°4.p235-248.

**Le Minor, L ; Popoff, M. Y ; Bockemühl, J. (1990).** Supplement 1989 (n 33) to the Kauffmann-White scheme. Research in microbiology, Vol141, N°9.p1173-1177.

## M

**Maestri , E; imperiale,D; Marmiroli,N (2018).** Nuts, nut products and other seeds. In Jean-François Morin ; Lees, M. Food Integrity Handbook A Guide To Food Authenticity Issues And Analytical Solutions .Eurofins Analytics France. Chapitre: Vol8,N° 5.p1-9.

**Maestre Pérez,S. (2021).** Almonds (Prunus dulcis): Food Chemistry. Encyclopedia.8p.

**Marín, S ;Ramos, A. J. (2016).** Molds and mycotoxins in nuts. In Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods .Academic Press. p. 295-312.



**Marroun, I ; Sené, T ; Quevauvilliers, J; Fingerhut, A. (2017).** Le nouveau dictionnaire médicale . Elsevier masson. 1504p.

**Mason, L. J. (2019).** Effect and Control of Insects, Molds and Rodents Affecting Corn Quality. In Corn . AACC International Press.p. 213-234.

**Morin, O. (1994).** Aspergillus et aspergilloses: biologie, Ed. Techniques Encyl. Med. Chir.(Elsevier, Paris), Maladies infectieuses, p8-600.

**Munck, N ; Smith, J ; Bates, J ; Glass, K ; Hald, T ; Kirk, M. D. (2020).** Source attribution of Salmonella in Macadamia nuts to animal and environmental reservoirs in Queensland, Australia. Foodborne pathogens and disease, Vol17, N°5.p 357-364.

## O

**Okello, D. K ; Kaaya, A. N ; Bisikwa, J ; Were, M ; Oloka, H. K. (2010).** Management of aflatoxins in groundnuts: A manual for farmers, processors, traders and consumers in Uganda. Entebbe: National Agricultural Research Organisation, p 1-38.

**Orbigny, M.C. (1846).** Dictionnaire universel d'histoire naturelle Mart-Oid.

## P

**Pal, M; Kerorsa, G. B; Marami, L. M; Kandi, V. (2020).** Epidemiology, pathogenicity, animal infections, antibiotic resistance, public health significance, and economic impact of staphylococcus aureus: a comprehensive review. Am J Public Health Res, Vol8,N°1.p 14-21.

**Pandey, K; Nautiyal, S. (2019).** Achromobacter: An emerging nosocomial pathogen. Int J. Vol 7,N°8.

**Paster, N ;Bullerman, L. B. (1988).** Mould spoilage and mycotoxin formation in grains as controlled by physical means. International Journal of Food Microbiology, Vol 7,N°3.p 257-265.

**Pfohl-Leskowicz, A. (2001).** Définition et origines des mycotoxines in Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque, Ed. Tec & Doc, p3-14.

**Pitt, J.L. (1988).** Laboratory guide to common Penicillium species. Academic Press, London,

**Prescott, L. M ; Willey, J. M ; Sherwood, L. M ; Woolverton, C. J.(2018).** Microbiologie. De Boeck Supérieur.1120p.

## R

**Rajendran, S. (2003).** Insect Pests of Stored Dry Fruits, Nuts and Spices. In *Insect Pests of Stored Products: A Global Scenario*, Cuttack: Applied Zoologists Research Association. India.p.251-264 .

**Rapper, K.B ; and Fennell, D.I.(1965)** .The genus *Aspergillus*, Williams & Wilkins, Baltimore.686p .

**Revel, TD ; Gourmelon, P ;Vidal, D ; Renaudeau, C. (2005).** Menace terroriste, approche médicale chimique, biologique, radiologique, nucléaire . John libbey Eurotext . France.418p.

**Ropars, J ; Caron, T ; Lo, Y. C ;Bennetot, B ;Giraud, T. (2020).** La domestication des champignons *Penicillium* du fromage. *Comptes Rendus. Biologies*, Vol 343,N°2, p155-176.

**Ros, E. (2010).** Health benefits of nut consumption. *Nutrients*, Vol2,N°7, p652-682.

## S

**Schaechter, M ;Medoff, G ; Eisenstein, B. I. (1999).** *Microbiologie et pathologie infectieuse*. De Boeck Supérieur.1000p.

**Sejiny, M. J ; Thabet, F. M ; Elshaieb, M. K. (1989).** Microbial contamination of various nuts stored in commercial markets in Jeddah. *Science*, vol 1,N°1.p 61-71.

**Singh, P ; Kim, YJ, Singh, H ; Farh, MEA et Yang, DC. (2017).** *Achromobacter panacis* sp. nov., isolé de la rhizosphère de *Panax ginseng*. *Journal of Microbiology* , Vol 55, N°6,p 428-434.

**Sokatch, J.R .(1986).** *The bacteria: A treatise on structure and function*. Elsevier, vol. 12.569 p.

**Swenson, C. E ;Sadikot, R. T. (2015).** *Achromobacter* respiratory infections. *Annals of the American Thoracic Society*, Vol12,N°2, p252-258.

## T

**Tantaoui-Elaraki, A ; Benabdellah, L ; Majdi, M ; Elalaoui, M. R ; Dahmani, A. (1994).** Recherche de mycotoxines dans des denrées alimentaires distribuées au Maroc. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, Vol 14, N°3.p 11-16.

**Taouda, H ; Errachidi, F; Bennani, L ; Aabouch, M ; Berrada, S ; Maniar, Saâd ; El Ouali Lalami Abdelhakim.(2011).** Qualité hygiénique des fruits secs au centre du Maroc. *Fès, Microbiol. Hyg. Alim* ,Vol23, N°67.15p.

**Tournas, V. H ; Niazi, N. S ; Kohn, J. S. (2015).** Fungal presence in selected tree nuts and dried fruits. *Microbiology insights*, Vol 8, N°8.6p.

#### V

**Verma, M. K ; Yadav, A ; Nayan Deepak, G ; Usha, K ;Kumar, S. (2017).** Macadamia Nut. in *Minor Fruits: Nutraceutical Importance and Cultivation* Jaya Publishing House, Delhi .p583-607.

#### W

**Wagener J; Kurzai O. (2020).** Aspergillus. In: Suerbaum S., Burchard GD., Kaufmann S.H.E., Schulz T.F. (eds) *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Springer, Berlin. 821-826 p.

**Walther, G ;Kurzai, O. (2020).** Fusarium. In *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie ..* Springer, Berlin.833-836p.

**Wickens, G. E. (1995).** Non-wood forest products 5: edible nuts. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Rome. 209 p.

#### Y

**Yang, J. (2009).** Brazil nuts and associated health benefits: A review. *LWT-Food science and technology*, vol 42 ,N°10.P 1573-1580.

#### Z

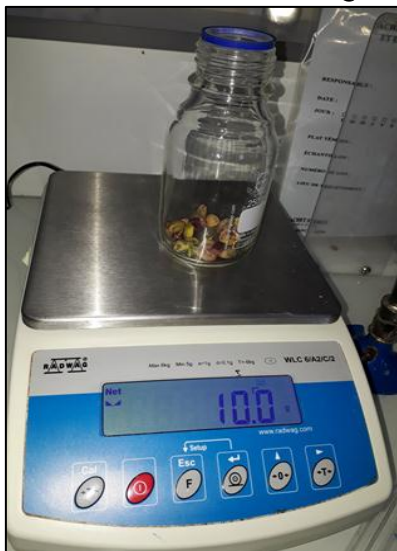
**Zhang, X. L ; Jeza, V. T ; Pan, Q. (2008).** Salmonella typhi: from a human pathogen to a vaccine vector. *Cellular & molecular immunology*, vol 5, N°2. P 91-97.

# **Annexe**

**Annexe 01 : Le matériel utilisé pour la préparation de la solution mère.**



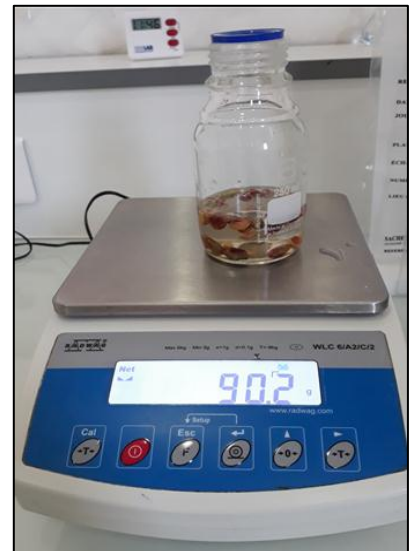
**Annexe 02 : Quelques étapes pour la préparation de la solution mère.**



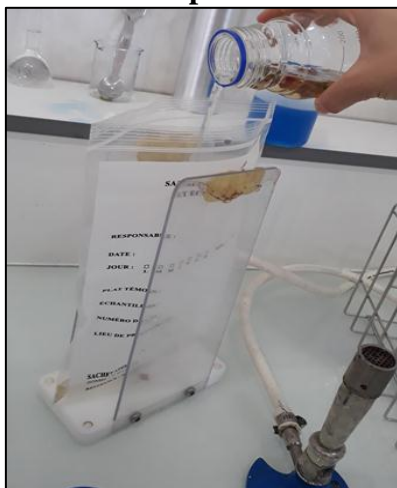
**Etape 01**



**Etape 02**



**Etape 03**



**Etape 04**



**Etape 05**

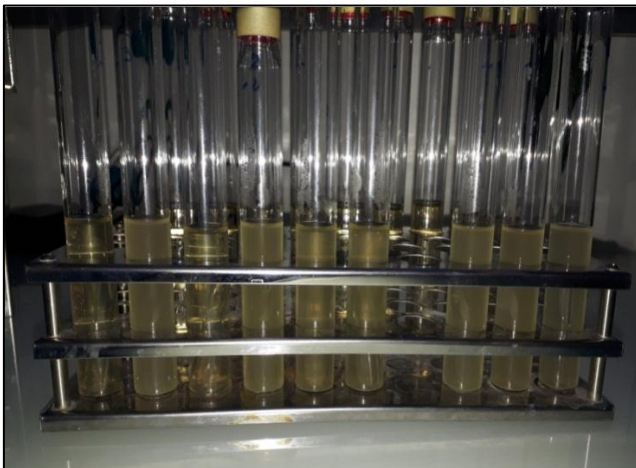


**Etape 06**

**Annexe 03 : milieu d'enrichissement sélectif (bouillon au l'auryl sulfate) avant incubation.**



**Annexe 04 : aspect trouble de milieu d'enrichissement sélectif (bouillon au l'auryl sulfate) après incubation.**



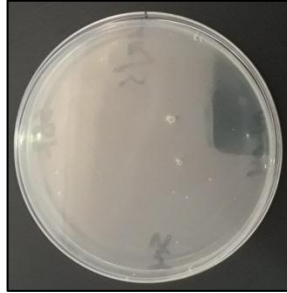
**Annexe 05 : dégagement gazeux dans le milieu d'enrichissement sélectif (bouillon au l'auryl sulfate) après incubation.**



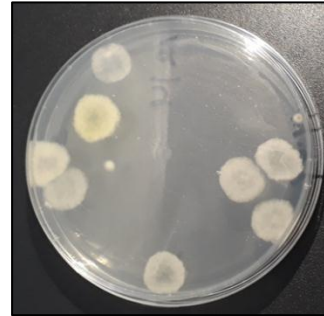
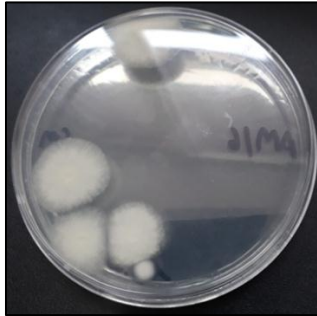
**Annexe 06 : La formation d'un anneau rouge confirme la présence d'E. Coli.**



**Annexe 07 : Milieu DG18 avant incubation.**



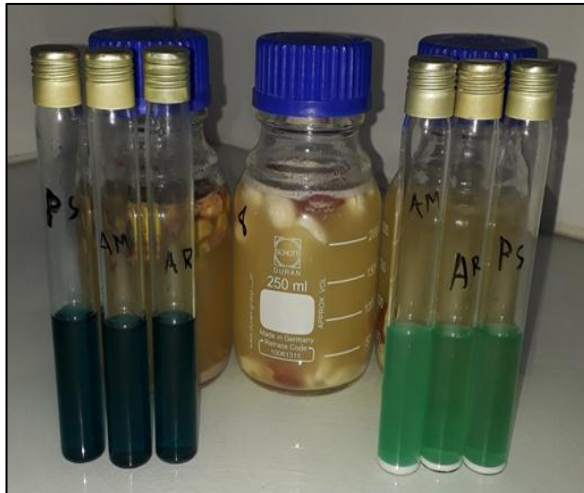
**Annexe 08 : Milieu DG18 après incubation présence des colonies de moisissure.**



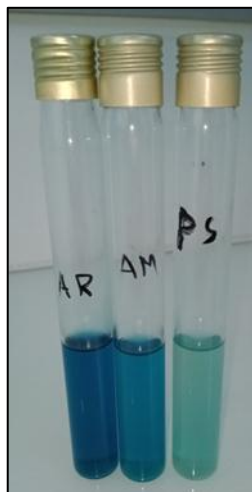
**Annexe 09 : Préenrichissement en milieu non sélectif liquide (l'eau peptonée tamponnée).**



**Annexe 10 : milieu RVS etMKTTn avant incubation.**



### Annexe 11 : le bouillon RVS après incubation.



### Annexe 12 : le bouillon MKTTN après incubation.



### Annexe 13 : Tableau d'interprétation des essais biochimiques.

29 Chaoual 1438 23 juillet 2017		JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N°44						17						
<p><b>8.5.3.4. Milieu de décarboxylation de la L-lysine (4.1.8):</b> Ensemencer le milieu liquide juste au-dessous de la surface. Incuber à 37 °C ± 1 °C durant 24 h ± 3 h.</p> <p>L'apparition d'une turbidité et d'une couleur violette après incubation indique une réaction positive et l'apparition d'une couleur jaune indique une réaction négative.</p>			<p><b>8.5.3.5. Recherche de la β-galactosidase (4.1.9) :</b> Mettre en suspension une anse de la colonie suspecte dans un tube contenant 0,25 ml de la solution saline (4.1.13).</p> <p>Ajouter une (1) goutte de toluène et agiter le tube. Placer ce dernier dans le bain d'eau (5.6) réglé à 37 °C et l'y laisser séjourner quelques minutes (environ 5 min). Ajouter 0,25 ml du réactif pour la recherche de la β-galactosidase et mélanger.</p> <p>Replacer le tube dans le bain d'eau réglé à 37 °C, l'y laisser séjourner 24 h ± 3 h en l'examinant de temps à autre.</p> <p>Une couleur jaune indique une réaction positive. La réaction est souvent visible au bout de 20 min.</p> <p>Dans le cas d'utilisation de disques en papier tout préparés (4.1.9), suivre les instructions du fabricant.</p>			<p><b>8.5.3.6. Milieu pour la réaction de Voges-Proskauer (VP) (4.1.10) :</b> Mettre en suspension une anse de la colonie suspecte dans un tube stérile contenant 3 ml du milieu VP.</p> <p>Incuber à 37 °C ± 1 °C durant 24 h ± 3 h.</p> <p>Après incubation, ajouter deux (2) gouttes de la solution de créatine, trois (3) gouttes de la solution éthanolique de naphthol-1 et ensuite deux (2) gouttes de la solution d'hydroxyde de potassium en agitant après avoir ajouté chaque réactif.</p> <p>La formation d'une coloration rose à rouge brillant dans un délai de 15 min indique une réaction positive.</p>			<p><b>8.5.3.7. Milieu pour la recherche de l'indole (4.1.11) :</b> Ensemencer un tube contenant 5 ml du milieu tryptone/tryptophane avec la colonie suspecte et incuber à 37 °C ± 1 °C durant 24 h ± 3 h. Après incubation, ajouter 1 ml du réactif de Kovacs.</p> <p>La formation d'un anneau rouge indique une réaction positive. Un anneau jaune-brun indique une réaction négative.</p>			<p><b>8.5.3.8. Interprétation des essais biochimiques :</b> Les <i>Salmonella</i> donnent en général les réactions indiquées dans le Tableau 1.</p>		
<b>Tableau 1 : Interprétation des essais biochimiques</b>														
Essai [(8.5.3.2) à (8.5.3.7)]	Souche de <i>Salmonella</i>													
	<i>S. Typhi</i>		<i>S. Paratyphi A</i>		<i>S. Paratyphi B</i>	<i>S. Paratyphi C</i>	Autres souches							
	Réaction	% <sup>a</sup>	Réaction	% <sup>a</sup>	Réaction	Réaction	Réaction	% <sup>a</sup>						
Glucose, TSI (formation d'acide)	+	100	+	100	+	+	+	100						
Glucose, TSI (formation gaz)	-b	0	+	100	+	+	+	92						
Lactose, TSI (formation d'acide)	-	2	-	100	-	-	-	1						
Saccharose, TSI (formation d'acide)	-	0	-	0	-	-	-	1						
Sulfure d'hydrogène, TSI	+	97	-	10	+	+	+	92						
Hydrolyse de l'urée	-	0	-	0	-	-	-	1						
Décarboxylation de la lysine	+	98	-	0	+	+	+	95						
Réaction à la β-galactosidase	-	0	-	0	-	-	-	2 <sup>c</sup>						
Réaction de Voges-Proskauer	-	0	-	0	-	-	-	0						
Recherche de l'indole	-	0	-	0	-	-	-	1						
<p><sup>a</sup> Ces pourcentages indiquent seulement que toutes les souches de <i>Salmonella</i> ne donnent pas les réactions marquées par + ou -. Ces pourcentages peuvent varier au sein d'un même sérotype et d'un sérotype à un autre pour les sérotypes ayant causé des empoisonnements alimentaires à différents endroits.</p> <p><sup>b</sup> <i>Salmonella Typhi</i> est anaérogène.</p> <p><sup>c</sup> Les <i>Salmonella enterica</i> du sous-genre <i>arizonae</i> donnent des réactions lactose positives ou négatives mais sont toujours β-galactosidase positive. Pour l'étude de ces souches, il peut être utile d'effectuer des essais biochimiques complémentaires.</p>														



## **Annexe 14 : Le questionnaire.**

### **1- Les fruits à coque, vous en consommez ?**

- Très souvent
- Occasionnellement
- Rarement

### **2- Quels sont les fruits à coque que vous achetez sur une base régulière (tous les mois)? Plusieurs réponses possibles.**

- Arachide
  - Macadamia
  - Noisette
  - Noix
  - Noix de cajou
  - Pistache
  - Amande
  - Noix de brésil
  - Noix de pécan
- Autre (veuillez préciser)