REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIÉ

MEMOIRE DE PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE SE CONTENTION DU DIPLÔME DE MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité:

MICROBIOLOGIE ET TOXICOL GIE ALIMENTAIRE

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA QUALTE MICROBIOLOGIQUE DANS LA RESTAURATION AU N. V. LAUTE L'HOPITAL FRANTZ FANON PL' BLIDA

résenté par :

Boudjema Fatma

Soutenu le: 16/12/2013

Devan le july composé de :

M^{me} AISSANI R.

M^{me} CHERRALLAH A.

M^{me} BOULKOUR S.

M^{me} HAMAIDI F.

Promotion 2012-2013

Liste des tableaux

Tableau I. Origine des toxi-infections alimentaires	6
Tableau II : Température et durée de stockage à froid positif de différents aliments	12
Tableau III : Durées pratiques de conservation de certaines denrées congelées	13
Tableau IV : Différents prélèvements concernés dans cette étude	18
Tableau V : Différents prélèvements des équipements	18
Tableau VI : Nombre des prélèvements des mains et des fosses nasales du cres nr el	19
Tableau VII : Qualité microbiologique globale des plats cuisinés	35
Tableau VIII : Niveau de contamination par la Flore aérobie 30°C	37
Tableau IX : Niveau de contamination par les colifornes tota x	37
Tableau X : Niveau de contamination par les colife au s técauxs técaux	38
Tableau XI: Niveau de contamination par Stoph Pococcus aureas	<i>3</i> 8
Tableau XII: Niveau de contamination per l's pores acarobies sulfito-réducteurs	39
Tableau XIII: Niveau de contamin tion par Les annonelles	39
Tableau XIV: Taux de convernité is-a-vi. les Staphylococcu saureus	41
Tableau XV: Taux de conformité vi sevis des des salmonelles	41
Tableau XVI. Taux le conformité vis-à-vis des Staphylococcus aureus	41
Tablea XV : 1 x de conformité vis-à-vis des des Salmonelles	42
Tableau XVIII : Nombre de non-conformité des mains par les différents germes	43
Tableau XIX : Nombre de contamination des germes au niveau des fosses nasales 4	5
Tableau XX : Contamination des équipements de cuisine par les différents germes 4	7
Tableau XXI : Qualité bactériologique de l'eau utilisée dans la préparation des plats 4	9

Sommaire

INTRODUCTION

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : GENERALITES

I.1 Définition d'un aliment	3
I.1.1 Qualité d'un aliment	3
I.2 Définition d'un plat cuisiné et qualité microbiologique.	4
I.3 Origine des contaminations	5
I.3.1 Personnel	5
I.3.2 Air	5
I.3.3 Eau	5
II. TOXI-INFECTIONS ALIMENTAIR	
II.1 Origine des toxi-infections	7
II.2 Principales toxi-infection with staires	7
II.2.1 Intoxinations	7
II.2.2 Intoxications	9
IN. H GI' NE ALIMENTAIRE APPLIQUE EN RES	TAURATION
III.1 Définition de l'hygiène alimentaire	
III.2 Nettoyage et désinfection	11
III.2.1 Hygiène des locaux	11
III.2.2 Hygiène du matériel	11
III.2.3 Hygiène de la matière première	11
III.3.1 Dispositions générales	12

II.1.3 Contrôle du matériel
II.1.4 Qualité bactériologique de l'eau
CONCLUSION
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES
ANNEXES

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE









RESULTATS ET DISCUSSIONS



CONCLUSION



ANNEXES



RESUMES

Liste des abréviations

JORA: Journal Officiel de la République Alvéri n'

ISO: International Organisation for Stand reporting

TIA: Toxi Infection Alimentaire

VF: Gélose Viande Foie

TSE: Tryptone-Sel-Fau

SFB: Selenite F Bre 1

D/C: Double concer ration

ASR: And robie Sulfito Réducteur

FMAT: Flore Mésophile Aérobie Totale

CT: Coliforme Totaux

CF: Coliforme Fécaux

UFC: Unité Formant Colonie

C: Conforme

NC: Non Conforme

HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Points

GT: Germe Totaux

Staphyloccocus aureus : S. aureus

Cl: Clostrdium

Sal: Salmonelle

Dédicaco

Je dédie ce a du le travail:

Ames parent amaterie mère.

A celle que j'aime beaucoup 't qui m'a souvenue tout au long de ce projet : à toi Mon mari

A mes très che es sœurs Sabika Pella et Bahia et mes frère Billel et youcef, pour leurs encouragements et soutiens.

mes leveux et mièces : Amina, Wassila, yasmine et Rafik A mes oncles et mes tantesa madame Drifa, halima.

A mes chères cousines Naouel, khadidja, Fzohra, Samia

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études, mes aimables amies, toi Souad, Karima, ouahiba et Fzohra.

A tout mes ami(e)s surtout Sid ali, Yasmine, Imene, Chaima, Manel, Leila, Sarah, Amina, Sihem, Aicha, Feriel, Imene, Hanane, Hafidha, Nawel, Naima, et à tout ce qui me sont chers.

A mes ami(e)s de master 2 microbiologie et toxicologie alimentaire pour les bons moments qu'on a passé ensemble.

Remerciement

Tout d'abord, je tiens à exprimer ma profence gratitule envers dieu de m'avoir donné la santé la patience et les moyens, fin que je paisse accomplir ce travail. Ce travail a été effectué au laborat ir contrale de CHU de BLIDA et au labo d'hygiène de Ferondja, sous la direction de professeur BELLOUNI et Mr TEFAHL le contrale de m'avoir accueillie.

Mes remerciements à n on en acreur docteur F.HAMAIDI, pour m'avoir confié ce travail de recherches, le tiens es acement à la remercier pour sa disponibilité, ses conseils précieux et son air set pour ses efforts qu'elle a consacrés pour la réalisation de ce projet.

Mes remerciements s'auressent également à tous mes professeurs pour leurs généro ités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Je remercie très sincèrement, les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de faire partie de la commission d'examinatrice :

M^{eme} AISSANI B.

M^{eme} CHERRALLAH A.

M^{eme} BOULKOUR S.

Un très grand merci a Mr salim, khadidja pour leurs soutiens, leurs sympathies, leurs disponibilités, ainsi que pour leurs aide précieuse lors des manipulations tout au long de ce stage.

A toute personne qui a participé de près ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sommaire

INTRODUCTION

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : GENERALITES

I.1 Définition d'un aliment	3
I.1.1 Qualité d'un aliment	3
I.2 Définition d'un plat cuisiné et qualité microbiologique.	4
I.3 Origine des contaminations	5
I.3.1 Personnel	5
I.3.2 Air	5
I.3.3 Eau	5
II. TOXI-INFECTIONS ALIMENTAIR	
II.1 Origine des toxi-infections	7
II.2 Principales toxi-infection with staires	7
II.2.1 Intoxinations	7
II.2.2 Intoxications	9
IN. H GI' NE ALIMENTAIRE APPLIQUE EN RES	TAURATION
III.1 Définition de l'hygiène alimentaire	
III.2 Nettoyage et désinfection	11
III.2.1 Hygiène des locaux	11
III.2.2 Hygiène du matériel	11
III.2.3 Hygiène de la matière première	11
III.3.1 Dispositions générales	12

III.3.2 Dispositions spéciales
III.4 Hygiène du personnel
III.4.1 Programme de santé
III.4.2 Hygiène corporelle
III.4.3 Hygiène vestimentaire
III.4.4 Formation professionnelle
III.5 Principes généraux de construction et de fonctionnement hygiénique15
III.6 La réglementation algérienne liée à l'hygiène

PARTIE PRATIQUE

I.MATERIEL ET METHODE

1.1Matériel
I.1.1 Matériel de laboratoire
I.2Méthode17
I.2-1Prélèvement
I.2-2. Méthode de prélèvement des échantillons des denrées alimentaires
I.2-3 Préparation de la solution mère et des dilutions décimales
I.2-4 Dénombrement
I.2-5 Méthode de prélèvement pour les personnels et les surfices
I.2.6 Analyse de l'eau
II.RESULTAT ET DISCUSSION
II.1 Qualité hygiénique en fonction les crières fixes par la réglementation
II.1.1 Variation du niveau de conta nination en fonction des germes des plats cuisinés34
II.1.2 Contrôle du jerso nel
HT3 Contrô's du ni térrel hall. 45
H 1.40 allit bac riologique de l'eau

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

RESUME

Dans le but de surveiller la qualité bactériologique et d'identifier les différents germes en cause (flore aérobie mésophile, coliformes totaux et fécaux, anaérobies sulfito-réducteurs, staphylocoque doré et Salmonelles) dans la restauration en milieu hospitalier, nous avons prélevé 99 échantillons tout le long de la chaîne alimentaire du CHU(centre hospitalo-universitaire)Frantz fanon à Blida (60 prélèvements de denrées alimentaires, 10 d'équipements et/ou matériels, et 24 échantillons répartis entre les mains et les fosses nasales du personnel cuisinier ainsi que cinq échantillons d'eau provenant du robinet de la cuisine). Les résultats ont été interprétés par rapport aux normes et aux critères du Journal Officiel République Algérienne.

D'après cette étude, il ressort que sur les 60 plats cuisinés, seules les viandes sont contamineés (soit un taux de non-conformité de 20%). Les bactèries les plus fréquemment isolées des mains étaient *Staphylococcus* à coagulase négative (9/12). Pour les fosses nasale 11 prélèvements se sont avérés positifs (*Staphylococcus* à coagulase négative, *S. aureus et Pseudomonas aeruginosa*). Le contrôle des ustensiles de cuisine a permis de mettre en évidence deux genres de pathogènes *Klebsiella et Enterobacter*

Les auteurs insistent sur l'importance de la surveillance bactériologique des aliments en milieu de soins, laquelle présente un triple intérêt : s'assurer de l'âbsence de contamination bactérienne des aliments proposés aux patients hospitalisés (avoir une valeur éducative pour le personnel de restauration et contrôler de façon globale, la qualité du travail tout au long de la chaîne de préparation des aliments pour gerer le risque interfieux d'origine alimentaire.

Mots-clés: Analyse bactériologique, Plats cuisinés, Equipements et matériels de cuisine, Contrôle du personnel, Eau.

ABSTRAT

In order to monitor the bacteriological quality and identify different causative (aerobic mesophilic flora, total coliforms and faecal sulphite-reducing anaerobes, Staphylococcus aureus and Salmonella) in the hospital food, we collected 99 samples all along the food chain CHU (university hospital) Frantz Fanon in Blida (60 samples of food, 10 equipment and / or materials, and 24 samples distributed between the hands and nasal cavities of the cook staff and five water from the kitchen tap samples). The results were interpreted in relation to the standards and criteria of the Official Gazette Republic of Algeria.

According to this study, it appears that the 60 dishes, only meat is contaminated (a rate of non-compliance of 20%). The bacteria most frequently isolated from the hands were coagulase-negative Staphylococcus (9/12). For nasal pits 11 samples were positive (Staphylococcus coagulase-negative S. aureus and Pseudomonas aeruginosa). Control kitchenware helped highlight two kinds of pathogenic Klebsiella and Enteropacter

The authors emphasize the importance of bacteriological monitoring of food in health care, which has a triple benefit to ensure the absence of bacterial contamination of food offered to hospitalized patients, have an educational value for the catering staff and monitor a comprehensive, quality of work throughout the chain of food preparation to manage the risk of infection from food.

Keywords: bacteriological analysis, meats, equipment and kitchen equipment, control staff, Water.

ملخص

و الحد من سلفيت البراز ، المكورات العنقودية الذهبية و السالمونيلا) في الطعام المستشفى، جمعنا 99 جميع العينات على المستشفى الجامعي) فرانز فانون في البليدة (60 عينات من المواد الغذائية ، و 10 CHU (10 طول السلسلة الغذائية المعدات و / أو المواد ، و 24 عينات موزعة بين اليدين و الجيوب الأنفية من الموظفين كوك و خمس عينات المياه من . حنفية الممطبخ) . وقد تم تفسير النتائج في ما يتعلق المقاييس والمعابير الجمهورية الجريدة الرسمية للجزائر

وفقا ل هذه الدراسة ، يبدى أن 60 أطباق اللحوم الملوثة فقط (معدل عدم الامتثال من 20 ٪) . كانت البكتيريا في معظم الأحيان معرولة عن البدين المخترة سلبية المكورات العنقودية (9 /12) . ل حفر الأنف كانت 11 عينة إيجابية (المكورات العنقودية السلبية المخترة بكتريا المكورة المعنقودية البرتقالية و الزائفة الزنجارية) . ساعد المطبخ تحكم تسليط الضوء على نوعين من الكلبسيلة المسببة للأمراض و الأمعائية

التأكيد على أهمية الكتاب من رصد البكتريولوجية من المواد الغذائية في الرعاية الصحية ، والتي لديها مصلحة الثلاثي لضمان عدم وجود التلوث الجرثومي من المواد الغذائية المقدمة لل مرضى في المستشفيات ، لها قيمة تعليمية لموظفي التموين ورصد شامل في جودة الممل في جميع أنحاء سلسلة من إعداد الطعام لإدارة مخاطر العدوى من المواد الغذائية

، وتحليل البكتريولوجي ، وأرجبات الطعام ، ومعرات وتجهيزات المطبخ، و موظفي مراقبة ، المياه : الكلمات الرئيسية



INTRODUCTION

La qualité d'un aliment est une association de quatre composantes : la qualité hygiénique, la qualité nutritionnelle, la qualité hédonique et la qualité de service.

L'hygiène dans le secteur alimentaire est une importance capitale en milieu hospitalier. En fait, les micro-organismes peuvent proliférer et atteindre un seuil dangereux dans les cuisines où règnent des conditions de croissance optimale, c'est à dire une humidité relativement importante et une température élevée. Par ailleurs, du fait de sa maladie, le patient est plus sensible aux toxi-infections alimentaires que les autres groupes de la population. Ainsi, des aliments préparés selon des règles d'hygiène moins strictes peuvent l'infecter ou l'intoxiquer, alors que cela ne serait pas le cas dans une population saine. C'est pourquoi les règles d'hygiène doivent être respectées d'une façon particulièrement stricte dans les cuisines où sont préparés les repas destinés aux établissements de soins (Hygis, 1988)

Les infections transmises à l'homme malade par les aliments (salmonellose, listériose, campylobactériose, yersiniose, toxoplasmose, infections virales) persistent dans le milieu hospitalier. L'importance de leur maîtrise est justifiée, d'une part, par leur impact sur la santé des patients déjà fragilisés, et d'autre part le coût des infections qu'elle peut engendrer.

Le risque infectieux d'origine alimentaire en milieux hospitalier est une association de cinq facteurs, à savoir la fragilité des consommateurs (Patients), la contamination du produit, l'amplification et/ ou contamination en unité de soins, la virulence du germe et la quantité de germes ingérés (**Decade** al., 2005).

Les matériaux et objets en contact des denrées alimentaires sont définis comme étant non seulement les emballages et conditionnements, mais aussi les récipients et ustensiles de cuisine, materiaux, machines et matériels utilisés dans la production, le stockage ou le transport de denrées alimentaires. (DGCCRF, 2007)

Par denrées alimentaires on entend les aliments et les boissons (y compris l'eau destinée à l'alimentation humaine ou animale et les eaux minérales naturelles). Sont ainsi visés tous les aliments aussi bien à l'état de produit fini que de produits intermédiaires, destinés à l'alimentation humaine. Toutefois, les matériaux d'enrobage et les installations fixes de distribution d'eau potable ne sont pas concernés (**Règlement CE,2002**).

L'objectif de notre étude est d'évaluer le rôle de la surveillance bactériologique dans la gestion du risque infectieux d'origine alimentaire le long de la chaîne de distribution des repas servis aux patients du centre hospitalier universitaire de FRANTZ FANON à BLIDA.



I. GENERALITES

I.1/ Définition d'un aliment

Un aliment est une substance absolument nécessaire à l'entretient et à la croissance de notre organisme. Elle est de ce fait complexe, le plus souvent naturelle, ayant subi un traitement technologique et/ou culinaire, conservée avec ou sans traitement particulier. (**Joffin et Joffin, 2005**).

L'aliment joue un rôle dans la transmission des agents microbiens infectieux qui peut être soit :

- ♣ passif : l'aliment n'est alors qu'un simple vecteur de micro-organisme
- Actif : c'est le cas générale, l'aliment est le siège d'une multiplication des agents pathogène avec ou sans production de toxines.

Le risque engendré par l'ingestion d'aliments contaminés par des micro-organismes est très différent en fonction des types de micro-organisme ingérés. De la dose ingérée et de la personne qui les consomme.

Contrairement aux autres types de dangers, les micro-organismes doivent pouvoir se multiplier dans l'aliment pour provoquer des intexications. Ce n'est donc pas la seule présence de quelque germe, qui va provoquer une TIA (toxi-infection alimentaire). L'ingestion d'un aliment mal prépare, qual emballé ou mal stocké permet le développement de germe et peut donc provoquer une TIA (Branger et al., 2007).

I,1.1/Qualité d'un aliment

La qualité, ce n'est pas seulement le résultat d'un « contrôle » d'une acceptation ou d'un refus, c'est le savoir-faire continu. C'est une mentalité, c'est la compréhension du rôle social, dans l'acte de fournir la nourriture. C'est donc aussi une responsabilité intégrée dans le concept de l'utilité. C'est également les propriétés organoleptiques perçues par les organes sensoriels. L'évaluation de la qualité des produits alimentaires est bien plus complexe que pour d'autres produits (European Organization for Quality Control, 1981).

Elle concerne divers aspects:

I.1.1.1/ La Qualité hygiénique

C'est-à-dire la non toxicité de l'aliment, une exigence de sécurité, théoriquement absolue. L'aliment ne doit comporter aucun élément toxique à des doses dangereuses pour le consommateur (Roudot, 2001).

I.1.1.2/ La Qualité nutritionnelle

C'est l'aptitude à l'aliment de nourrir. Elle comporte un aspect quantitatif et un aspect qualitatif concernant la recherche de l'équilibre nutritionnel (Roudot, 2001).

I.1.1.3/ La Qualité organoleptique

Elle peut être considérée comme le caractère hédonique d'un aliment. C'est principalement le plaisir gustatif que recherche le consommateur dans un établissement de restauration (Roudot, 2001).

I.2 /Définition d'un plat cuisiné et Qualité microbiologique

Un plat cuisiné se présente souvent comme un produit complexe d'un point de vue microbiologique (Bourgeois et Leveau, 1980). Ces aliment sont riches en élément nutritifs et peuvent donc être le siège d'une prolifération microbienne. L'activité de ces microorganismes a une grande incidence sur la qualité intrinsèque des produits qui peut être améliorée ou abaissée, mais également sur leur qualité hygiénique.

Il faut cependant noter que la qualité hygiénique peut être affectée par la présence de germes ne se multipliant pas et donc n'altérant pas l'aliment (Guiraud, 2003).

Les aliments sont riches en aliment nutritifs et peuvent être le siège d'une prolifération microbienne dite flore de contamination. Ces activités ont une grande incidence sur la qualité intrinsèque et donc commerciale des produits qui vent êtres améliorées ou abaissées, mais également sur la qualité hygiénique. Il faut cependant noter que la qualité hygiénique peut être affectée par la présence de germes ne se multipliant pas et donc n'altérant pas l'aliment. La présence de microorganisme dits flore originelle dans les aliments n'ayant pas subit de traitement antimicrobien est tout à fait normale et de nombreux apports exogènes peuvent accroitre la charge microbienne initiale (Guiraud, 2003).

I.3/ Origine des contaminations

I.3.1/Personnel

L'homme peut en effet contribuer de façon notable à la contamination des aliments, soit parce qu'il risque de véhiculer des contaminations d'un objet à un autre, soit parce qu'il héberge toujours des germes banaux mais parfois pathogènes (Cheftel et al., 1977).

*Les porteurs sains

Est un porteur de germes, ou porteur sain, tout individu qui héberge un germe dangereux et qui ne présente aucun signe apparent de maladies parce qu'il est immunisé contre ce germe. Le portage est soit périodique, soit permanent. Le portage des staphylocoques dans le nez et la gorge et/ou sur le visage et le portage fécal des germes éliminés dans les matières fécales sont principalement propagés par les mains lors des manutentions et autres manipulations (**Brunet-Loiseau**, 2005).

I.3.2/Air

L'air renferme des particules poussiéreuses sur les guelles les microbes (bactéries, moisissures) sont adsorbés. Il représente donc un risque plus ou moins élevé de contamination secondaire (Multon 1985).

I.3.3 /Eau

La qualité microbiologique de l'eau a une très grande influence sur la contamination des produits alimentaires. L'eau contient en suspension des micro-organismes très divers (Bourgeois et al., 1988).

II. / TOXI-INFECTIONS ALIMENTAIRES

Une toxi-infection alimentaire est définie comme étant un ensemble de disfonctionnements de l'organisme résultant de l'ingestion d'un aliment contaminé par des micro-organismes pathogènes (Bonnefoy et al., 2002).

D'après Roudaut et Lefranq (2005), le rôle de l'aliment dans la transmission des bactéries entéropathogénes est généralement actif. L'aliment est le siège d'une multiplication de l'agent pathogène, avec ou sans production de toxine. La contamination étant presque toujours microbienne, elle présente un risque potentiel qui devient réel après multiplication microbienne dans l'aliment.

Selon ces mêmes chercheurs, le vocabulaire officiel regroupé sous le nom de toxiinfection alimentaire représente l'ensemble des accidents résultant de l'ingestion d'un aliment contaminé par des micro-organismes pathogènes.

Le tableau I récapitule, de façon non exhaustive, les micro-organismes responsables des toxiinfections alimentaires, les symptômes des maladies qu'ils engendrent ainsi que les principaux produits alimentaires dans lesquels on peut les rencontrer.

Tableau I. Origine des toxi-infections alimentaires

	T			
micro-	période (Symptomes (Aliments les plus	Précautions à
organismes	d'incubation \	Symptomes	touchés	prendre
		Nausées, fiévres	→ Viandes, volailles,	Cuire
		diarrhées douleurs	œufs, produits laitiers.	longuement les
C 1 11	12/241		_	aliments, éviter
Salmonella	12\à\24 heures	abdominales, maux de		les
		tête, frissons,		contaminations
		prostrations.		croisées
G. 1.10		Corres vomissements,	Crèmes, volailles,	Maintenir les
Staphylococcus	1à6 heures	diarrhées, crampes	œufs (présence de	aliments au
(aureus		intestinales.	toxine).	réfrigérateur.
			Viandes, volailles,	Refroidir
		\triangleright	aliments maintenus	rapidement les
		diarrhées, crampes	tièdes.	aliments.
Clostridium	8 à 24heures	abdominales, maux de		Maintenir les
perfringens		tête, frissons et fièvre.		aliments chauds
				ou desserts de
· ·				55°C
	12 à 36heures	NI Z P. m.h.Z	Conserves faiblement	Fabriquer
Cl		Nausées, diarrhées,	acides, viandes,	correctement les
Clostridium		vomissements, maux de	poissons (présence de	conserves, cuire
botilinum		tête, bouche sèche,	toxines).	longuement les
		visions doubles.	,	aliments
	2 à 4 jours		Bœufs hachés, lait cru,	Cuire
		Colites hémorragiques,	poulets.	longuement les
F coli o157:U7				viandes, éviter
<i>E,coli</i> o157:H7		urémie hémolytiques et fièvres.		les
		nevies.		contaminations
				croisées.

(Moll et Moll, 2000)

II.1/Origine des toxi-infections

Les contaminations microbiologiques représentent des risques majeurs sur le plan sanitaire et leur évaluation est très difficile La majorité des cas de toxi-infections alimentaires sont dus à des aliments préparés à la maison, au restaurant, dans les cantines scolaires, les hôpitaux, les maisons de retraite et 5 à 10% des cas à des denrées alimentaires produites par l'industrie (Moll et Moll, 2000).

II.2/ Principales toxi-infections alimentaires

II.2.1/ Intoxinations

Lors d'intoxinations, les bactéries produisent leurs toxines en quantité importante dans l'aliment contaminé avant sa consommation.

II.2.1.1/ Agents responsables d'intoxinations

• Staphylococcus aureus

Découverts et isolés par Pasteur en 1876, à partir du pus d'un anthrax, les staphylocoques dorés appartiennent à la famille des Micrococcaceae. Ce sont des cocci à Gram positif, aéro-anérobies facultatifs, non sporules, immobiles, produisant une catalase (Federighi, 2005).

Ces bactéries sont ubiquistes, saprophytes de l'homme et de l'animal.

Le terme d'intoxination serait plus juste dans le cas des staphylocoques car c'est l'ingestion de la toxine et non du germe qui importe. *Staphylococcus aureus* ou staphylocoque doré est la principale espèce enterotoxinogène (**Bourgeois et al., 1988**).

La contamination principale des préparations culinaires est affectée par les personnes portant le staphylocoque, qui peuvent les héberger dans la gorge, le nez, la salive et dans les lésions infectées. Les aliments favorables à ce type de contamination sont généralement les produits carnés (surtout les viandes hachées), la charcuterie, les desserts à la crème pâtissière et les crèmes glacées ainsi que les plats cuisinés à base d'œufs et d'amidon (**Brunet-Loiseau,2005**)

• Clostridium botulinum

C'est un bacille à Gram positif, anaérobie strict, mobile par ciliature péritriche, formant des spores (**Federighi**, 2005).

Il est capable de produire des neurotoxines dans les conditions d'anaérobiose (Bourgeois et al., 1988) particulièrement dans les aliments à faible acidité (Branger et al., 2007).

Le botulisme n'apparait que dans les aliments conservés car trois conditions doivent être réunies : un milieu non acide, strictement anaérobie et une température entre +10°C et +48°C. Une ébullition à 100°C (de 10 minutes) détruit la toxine, tandis que les spores sont hautement thermorésistantes et supportent des températures de l'ordre de 120°C ou d'avantage (**Brunet-Loiseau**, 2005).

• Escherichia coli

Escherichia coli est un bacille, aéro anaerobies facultatifs, mobile à Gram négatif.

C'est un indicateur de contamination fécale récente de l'eau et des aliments. Il s'agit de coliformes thermotolérants (Bugnicout, 1995).

Les bactéries peuvent être présentes dans nombreux aliments crus et poussent facilement dans les aliments cuits du fait de la contamination des mains du personnel, des plans de travail, des recipients et appareils divers. En cas d'hygiène insuffisante et en absence générale de moyens d'assainissement, un nombre important de personnes, adultes ou enfants risquent d'être contaminés par voie alimentaire (INSP, 2008).

Mycotoxines

Une mycotoxine est un métabolite toxique, élaboré par une moisissure. L'ingestion d'un aliment contenant cette substance en quantité suffisante provoque une intoxination chez le consommateur (Bourgeois et al., 1988).

L'apparition et la survie des moisissures dépend de quatre facteurs : la température, l'humidité, le pH du milieu et la présence de substances nutritives adéquates (eau et nutriments). La prévention se fait par déshydratation des produits, baisse de la température de stockage et/ou par acidification du produit (Charreau et al., 2006).

Partie Bibliographique

Une mycotoxine provoque un désordre alimentaire qui n'est ni infectieux ni contagieux, ainsi, toutes les moisissures n'élaborent pas de mycotoxine. Elles ne sont pas toutes toxinogénes (**Bourgeois et** *al.* 1990).

De telle intoxinations provoquent de façon passagère ou durable des troubles d'une ou plusieurs fonctions de l'organismes ; des altérations du fois, des reins, des centres nerveux, de la circulation sanguine ou du tractus digestif (**Bourgeois et** *al.*, **1990**).

Un grand nombre de matière première destinée à l'alimentation humaine ou animale peut être contaminé par des moisissures toxinogénes : blé, mais, arachide, cacao, fèves, orges, soja, farines de céréales, pain, pâtisseries réfrigérée ou congelée et denrée alimentaires (stockage domestiques) (Moll et Moll, 2000).

II.2.2/ Intoxications

Contrairement aux intoxinations, les intoxications sont dues à une contamination massive et une multiplication des germes chez la personne, avec éventuellement, une production de toxines au niveau de l'organe cible. Les salmonelloses et les listérioses sont les plus répandues (Bonnefoy et al., 2002).

II.2.2.1/Agent responsables d'intoxications

Salmonelles

Les salmonelles sont à l'origine d'un plus grand nombre d'accident alimentaires. Ce sont des bacilles aéro-anaérobies à Grano négatif appartenant à la famille des Entérobactéries. Presque toutes les espèces cont mobiles et peuplent les intestins des organismes atteints de salmonelloses (Feillet, 2002).

Dans la cuisine, elles peuvent passer des aliments crus aux aliments cuits si elles sont présentes sur les mains du personnel, sur les ustensiles ou les divers appareils (INSP, 2008).

• Clostridium perfringens

Appartenant à la famille des *Bacillaceae*, c'est un bacille à Gram positif, anaérobie strict, immobile, produisant des spores, classé dans le groupe des anaérobies-sulfito-réducteurs (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

Le réservoir de *Clostridium perfrigens* est le sol ainsi que le tube digestif des porteurs sains.Lorsque les conditions sont défavorables ou lorsque le refroidissement ou la

réfrigération ne sont pas efficaces, *Clostridium perfringens* forme des spores. Ces spores ne sont pas détruites par la cuisson ou la pasteurisation, elles le sont par la stérilisation à chaleur humide. Elles sont également relativement résistantes à certains désinfectants. (**Brunet et Loiseau, 2005**)



III. / Hygiène alimentaire appliquée en restauration

En règle générale, le contrôle de l'hygiène alimentaire appliqué en restauration concerne essentiellement le contrôle de l'aliment.

III.1/ Définition de l'hygiène alimentaire

Ce sont toutes les mesures nécessaires prises par l'opérateur (le restaurateur) pour garantir l'innocuité, le bon état et la salubrité des aliments à tous les stades, depuis la production ou la fabrication jusqu'à la consommation finale (Caque, 1998).

III.2/ Nettoyage et désinfection

Le nettoyage et la désinfection sont des opérations dont le but est d'assurer l'hygiène des locaux et du matériel qui entrent directement en contact avec les aliments et de garder sain l'environnement des aliments (surfaces, sol, air...) (Brunet-Loiseau, 2005).

III.2.1/ Hygiène des locaux

Les locaux seront disposés de telle sorte que puissent être respectés les principes de la marche en avant, de la séparation nette des secteurs sains (propres) et des secteurs souillés (règle des 5 S). La construction des murs, des sols, des plafonds fera appel à des matériaux résistants à l'usage et faciles à nettoyer et à désinfecter

L'usage de l'outil est d'une très grande importance, car aussi bien conçus que soient les installations, les matériels, la qualité hygiénique dépendra de l'usage qui en sera fait. (Rosset, 1982)

IN.2.2/Hygiène du matériel

Les matériaux doivent être nettoyés et désinfectés régulièrement selon des techniques précises. Il est prévu de plus en plus souvent des lavages automatiques ou sur place. Il faut envisager l'égouttage des pièces non démontables, lors de la conception des appareils (Rozier, 1990).

III.2.3/ Hygiène de la matière première

Le choix des matières premières de bonne qualité : poisson frais, viande provenant d'abattoirs agréés et une préparation hygiénique conduisent à une forte diminution de la contamination microbienne. (Rozier, 1990).

III.3/ Dispositions à prendre lors de la conservation par le froid

III.3.1/ Dispositions générales

Des chambres froides spécialisées au maximum et en nombre suffisant doivent être disponibles. Elles seront munies d'un thermomètre de contrôle externe et interne, d'étagères, de palettes ou de crochets pour éviter l'entreposage des deprées à même le sol, de voyants lumineux, d'éclairage suffisant. Les températures de ces chambres froides seront vérifiées tous les jours et le bon fonctionnement de l'ensemble du système de réfrigération au moins une fois par an, de préférence avant le début des périodes de chaleur (Anonyme, 1968).

III.3.2/ Dispositions spéciales

Les températures de stockage varient en fonction des denrées, et le temps de conservation maximal est lui fonction de la température d'entreposage. Les températures d'entreposage pour chaque denrée sont consignées dans les tableaux II et III.

Tableau II. Température et durée de stockage à froid des différents aliments

Nature de l'aliment	Température (°C)	Durée maximale
Quartier de viande	0 à 7	2 semaines
Poissons frais	0 à 2	3 à 7 jours
Viandes dépiécées	0 à 3	1 semaine
Coquillages vivants	5 à 15	1 à 2 semaines
Œufs	0 à 8	2 semaines
Semi conserves	5 à 10	6 mois
Viande hachée à l'avance	0 à 3	1 à 2 jours

(Poumeyrol et *al.*, 1994)

Tableau III. Durée pratique de conservation de certaines denrées congelées

	Durée pratique de conservation(en mois)		
Produit	-18°C	-25°C	-30°C
Légumes			
Asperge	15		
Haricots verts	15	24 (/	≥24
Haricots en grain	18	(24)	≥24
Brocoli	15	≥ 224	≥24
Choux-fleurs	15	24 >>	≥24
Carotte	18	24	≥24
Maïs en épis	12	≥24	≥24
Pois	18	18	24
Pommes de terre frites	24		≥24
Epinards	()	<u> </u>	≥24
Viandes et produits carnés crus		24	≥24
Boeuf	12	\Diamond	
Rôtis et steaks emballés	12 ()		
Viande hachée emballée (non salée)	90	18	24
Veau (carcasses)		18	24
Rôtis et côtelettes.		≥12	≥12
Agneau (carcasses)	\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\	12	24
Rôtis et côtelettes	10	10-12	12
Porc (carcasses)		12	24
Rôtis et côtelettes.	6	12	24
Saucisses	6	12	15
Lard (bacon non fume)	2-4	12	15
Saindoux	9	10	12
Volaitle (poulet et dinde) éviscérée et	12	6	12
convenablement emballée	6	12	24
Poulet frit	4	24	9
Abats	12	9	≥24
Pulpe d'oeuf			
Produits de la mer			
	4	24	12
Poissons gras	8		12
Poissons maigres	10		24
Poissons plats	6	8	≥24
Homards et crabes	6	18	15
Crevettes	U	24	13

Partie Bibliographique

Crevettes emballées sous vide	12	12	12
Palourdes, huîtres	4	12	18
		15	12
Produits laitiers		10	15
Beurre (de crème pasteurisée et maturée)	8	12	
Crème	6		
Crème glacée	6		18
			18
		12	≥24
		\lozenge 2 ()	24
Produits de boulangerie et pâtisserie	12	~ 24\\(\)(\(\)	
Gâteaux (au fromage, mousseline, au chocolat,		(18)	
aux fruits, etc.)			
Fruits	12		≥24
Pêche, abricots ou cerises (douces ou acide)		\searrow	
dans le sucre	18	24	
Pêche dans le sucre avec acide ascorbique	12	> 4///	
T 1	18		
Framboises et fraises, sans sucre		(18)	24
Framboises et fraises, avec sucre	24	≥ ≥24	
Jus de fruits			≥24
Concentrá d'agrumas of mutral fruits			
Concentré d'agrumes et autres fruits			
		≥24	
			≥24
			1005
		(Rosset et Lame	eloise, 1983)

111.4/Hygiene du personnel

III.4.1/Programme de santé

Un certificat médical est exigé à l'embouche pour tous les employés devant travailler dans une cuisine. Ce document devrait être renouvelé tous les ans et chaque fois que le vétérinaire inspecteur en fait la demande. Une visite médicale est nécessaire voir obligatoire tous les six mois au sein de l'établissement (**Merouz et Todusson 1997**).

III.4.2/ Hygiène corporelle

Elle comprend la toilette du corps, de la chevelure de façon régulière et la toilette fréquente des mains et avant bras, avant toute reprise du travail, après chaque contact avec une surface sale, en particulier à la sortie des cabinets d'aisance.

Les mains sont également soignées : ongles courts et propres, lutte contre les gerçures avec des crèmes hydratantes vitaminées et antiseptiques. (Rozier et al.,1985).

III.4.3/ Hygiène vestimentaire

Les vêtements de travail de couleur claire pour y déceler facilement la saleté, seront changés le plus souvent .Une coiffure recouvrant totalement la chevelure. Parfois il sera demandé le port d'un masque bucco nasal. L'usage de gants pour certaines opérations peut être envisagé. (Rozier et al.,1985)

III.4.4/ Formation professionnelle

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

III.5/ Principes généraux de construction et de fonctionnement hygiénique

Ces principes sont au nombre de six

- La Séparation des Secteurs Sains et des Secteurs Souillés
- La marche en avant
- Le non entrecroisement des courants de circulation ;
- La mécanisation des transferts de charges ou des opérations ;
- ★ L'utilisation précoce et généralisée des techniques de préservation (froid et chaleur);
- ❖ La formation professionnelle pour disposer d'un personnel compétent et des opérations de nettoyage et de désinfection appropriés (rédaction d'un programme de Nettoyage- Désinfection des locaux et du matériel).

III.6 Réglementation algérienne liée à l'hygiène

Elle tire son essence de la loi de base : loi n°89/02 du 7 février 1989 relative aux règles générales du consommateur, notamment ses articles 1,3 et 5 (voir Annexe V).

Cette loi est suivie par des textes d'application, puis sous forme de décrets exécutifs. Ceux touchant directement à l'hygiène et applicables à la restauration, sont :

- Le décret exécutif n°91.53 du 23 février 1991 relatif aux conditions d'hygiènes lors du processus de la mise à la consommation des denrées alimentaires.
- L'arrêté, interministériel du 24 Janvier 1998 complétant l'arrêté du 23 JUILLET 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.
- L'arrêté interministériel du 21 novembre 1999 relatif aux températures et procédés de conservation. Pour la réfrigération, congélation ou surgélation des denrées alimentaires.

I. MATERIEL ET METHODES

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire centrale du CHU de Blida (Frantz Fanon) et au laboratoire d'hygiène de Feroudja durant une période de cinq (05) mois (du mois de Janvier jusqu'au mois de Mai 2013).

Pour s'assurer de la qualité hygiénique d'une panoplie de plats servis au niveau de cet hôpital ainsi que les équipements de cuisine, le personnel et l'eau, nous avons réalisé une analyse bactériologique sur 99 échantillons qui porte essentiellement sur la recherche des germes indiqués dans le Journal Officiel Algérien N°35/1998(voir Annexe I).

I. 1 MATERIEL

I.1.1 Matériel de laboratoire :

I.1.1.1 Matériel non biologique

Appareillages, verrerie, réactifs, solutions, et milieux de cultures (voir Annexe II et III).

I.1-1-2Matériel

Plats cuisinés, équipements de cuisiné, personnel, eau.

I. 2 Méthodes

I.2-1Prélèvement

Les prélèvements sur lesquels nous avons effectué cette étude sont des plats, des ustensiles de cuisine et des échantillons des surfaces de travail provenant de la restauration de l'hôpital de Frantz fanon. Nous avons également prélevé des échantillons à partir des mains et des fosses nasales du personnel cuisinier et enfin des échantillons d'eau.

Le tableau suivant illustre la répartition de ces prélèvements :

Tableau IV. Différents prélèvements concernés dans cette étude

Lieu de prélèvement	Nombre d'échantillonnage	Nature du prélèvement
		Salades
Plats de restauration	60	Viandes
		Sauces et féculents
Contrôle du personnel	24	mains et fosses nasales
Contrôle des ustensiles de cuisine	10	ustensiles, table de travail, plateaux,
Contrôle de l'eau	5	eau de robinet

Le détail de la nature des prélèvements effectués sur les surfaces de travail, les ustensiles de cuisine et le personnel (mains et fosses nasales) sont illustrés par les Tableaux IV et V:

Tableau V. Différents prélèvements des équipements

Équipement de cuisine	Nombre des prélèvements
Ustensiles contenant les préparations chaudes	2
Ustensiles contenant les préparations froides	2
Table de travail	2
Plateaux	2
Chariots	2
TOTAL	10

Tableau VI. Nombre des prélèvements des mains et des fosses nasales du personnel cuisinier

	Nombre des prélèvements effectués		
Fonction du Personnel	MAINS	NEZ	
Personnel qui charge les plateaux	3	3	
Manipulateurs des chariots	3	3	
Serveurs de repas	3 /> <		
Cuisinier	3	3	
TOTAL	12	12	

I.2-2. Méthode de prélèvement des échantillors des denrées alimentaires

A l'aide de cuillères, on réalise des prelevements des plats chauds et des plats froids dans des sacs de stomacher stériles lors du dressage, du transport et/ou de leur présentation aux patients (Photos 1,2).

I.2-2-1. Transport des échantillons au laboratoire

Le transfert des échantillons s'est effectué dans une glacière contenant plusieurs unités de carboglace à des températures voisines de +4°C. Comme il s'agit de produits frais, le transport se tera le plus rapidement possible

(2-2,2) Technique d'analyses bactériologiques des denrées alimentaires

La recherche des germes a été effectuée suivant les critères microbiologiques préconisés par l'arrêté interministériel relatif aux spécifications microbiologiques des plats cuisinés, publié au JORA N°35 du 27 mai 1998(voir Annexe I). en procédant par la technique des suspension-dilutions. Les germes recherchés sont :

- Les germes totaux (Flore mésophile aérobie à 30°C),
- ♣ Les coliformes totaux à 37°C,
- Les coliformes fécaux à 44°C,

- ♣ Les Anaérobies-sulfito-réducteurs à 37°C,
- Les Salmonelles et Staphylococcus aureus.

I.2-3 Préparation de la solution mère et des dilutions décimales

Peser une quantité de 25g de l'échantillon à analyser à proximité immédiate d'une flamme. Après broyage au stomacher, cette quantité est ajoutée à un volume de 225 ml de Tryptone-Sel-Eau (TSE) afin d'obtenir une dilution mère au1/10.

Cette dilution est mise dans l'étuve à 37°C pendant ½ heure, à partir de l'aquelle sont préparées les autres dilutions décimales (10⁻² et 10⁻³).

I.2-4 Dénombrement

I.2.4.1 Dénombrement de la flore mésophile total à 30 C selon la norme ISO 4333

La flore mésophile aérobie total (FMAT) est un indicateur de la qualité hygiénique et fournit une idée générale sur la qualité du produit. Elle permet d'évaluer le nombre d'unités (UFC), présent dans ce produit.

- La méthode consiste à prelever à l'aide d'une pipette stérile, un volume de 1ml de la suspension mère et la mettre dans une boite de petri. De la même manière, les autres suspensions 10^{-2} , 10^{-3} sont ensemencées, en trangeant de pipette à chaque dilution.
- Verser ensuite, dans chaque boite un volume 10 à 12 ml de gélose TGEA préalablement fondu et ramente à 45°C.
- Réaliser un ensemencement en masse.
- L'homogénéisation du mélange (inoculum et milieu) se fait par des mouvements de huit.
- Après refroidissement des boites, Placer les, face retournée dans une étuve à 30°C
- Incuber pendant 24h à 48 h.

Lecture

En tenant compte des boites contenant entre 30 et 300 colonies, dénombrer toutes les colonies lenticulaires d'au moins 0.2 mm de diamètre.

On multiplie toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution afin d'avoir le nombre exact de germes et on réalise ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

I.2.4.2 Dénombrement des coliformes selon la norme ISO 4832

La même démarche que précédemment est suivie pour la culture des coliformes seul le milieu de culture diffère.

- Mettre dans une boite de pétri contenant 1 ml de la solution diluée de 10⁻¹ jusqu'à 10⁻³, un volume de 12 ml de gélose VRBL préalablement fondue et ramenée à 45°C.
- Après refroidissement des boites, une deuxième couche de gélose est rajoutée afin de réaliser l'anaérobiose.
- Après séchage des boites. Incuber les coliformes fécaux à 44°C et les coliformes totaux à 37°C pendant 24h à 48h (figure).

• Lecture et interprétation des coliformes

Les deux dilutions successives les plus fortes où le nombre de colonies dénombrées varie entre 15 et 150 sont retenues.

Le nombre de coliformes totaux ou de coliformes fécaux er est calculé selon la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma}{1}$$
, $\Sigma c = \omega + \omega 2$

C1: nombre de colonies de la 1ère diffution.

C2: pombre de colonies de la 2^{ème} dilution.

D: taux de dilution de la 1ère boite retenue.

N: nombre de coliformes totaux ou coliformes fécaux/gr.

1.2.4.3 Dénombrement de Saphylococcus aureus selon la norme ISO 6888

La recherche et le dénombrement des souches de *Staphylococcus aureus*, seules à produire éventuellement une entérotoxine protéique à l'origine d'intoxications alimentaires, permet donc de savoir si le produit à analyser présente des risques pour le consommateur.

L'enrichissement se fait sur milieu Giolitti Cantoni additionner de tellurite de potassium basé sur le principe de l'inhibition par tellurite de potassium et le chlorure de lithium (le tellurite de potassium qui est un agent sélectif est un indicateur de réduction et de noircissement des colonies).

Les étapes sont les suivantes :

- Enrichissement
- Mélanger 15 ml d'une solution de tellurite de potassium au flacon contenant le milieu de Giolitti Cantoni.
- Prélever 1 ml de la solution mère et des dilutions décimales et les porter chacun dans des tubes contenant ce milieu (15 ml par tube préparé préalablement).

> Incubation

Incuber les tubes ensemencés à 37°C pendant 24 à 48 h.

> Lecture

Les tubes qui virent du jaune au noir sont considérés comme positifs.

Pour s'assurer qu'il s'agit bien de colonies de *staphylococcus* qu'eus, il est préconiser d'effectuer sur 2 à 3 colonies de chaque boite des tests biochimiques rapides à savoir un test de catalase et un autre de coagulase.

Recherche de catalase

- -Prendre une colonie typique sur une lame.
- -Ajouter quelques goutes de H2O2> s'il y a présence des bulles d'air : catalase +.

• Recherche de coagulase

- Rrelever une partie de la colonie (catalase positive)
 - Ensemencer dans un tube contenant du bouillon (cœur cervelle),
- Incuber à 37°c pendant 20 à 24 h.
- Lecture : Après incubation, un volume de 0.1 ml du bouillon est additionné à 0.3 ml de plasma de l'homme. Ce mélange est incubé de nouveau à 37°C pendant 4 à 6 h. On considère que la réaction de coagulase est + lorsque le coagulum occupe plus de ¾ du volume, initialement occupé par le liquide.

• Lecture et interprétation

Pour avoir le nombre exact de *Staphylococcus aureus*, il faudrait retenir 02 boites de dilutions contenant entre 15 et 150 colonies caractéristiques puis appliquer la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma}{}$$
 / gr ou ml,

 \sum a: Somme de colonies

D: taux de la première dilution retenue.

I.2.4.4 Dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs

Les bactéries sporulées anaérobies sont cultivées sur des milieux très réducteurs comme viande et foie (VF). Autre la thermo résistance des spores, la sélection est basée également sur la culture en anaérobiose stricte.

Préparation du milieu

- Quatre tubes (deux 10⁻¹ et deux 10⁻²) contenant un un la de notre dilution sont chauffés à 80°c pendant 8 à 10 minutes, puis refroidis immédiatement sous l'eau de robinet afin d'eliminer les formes régétatives et ne garder ainsi que les formes sporulées
- 1 ml de chaque tube est porte aseptiquement dans un tube à vis stérile. Ce dernier est additionné d'environ 15 ml de gélose viande foie, prête à l'emploi.
- Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes.
- Incuber à 37°c pendant 24 à 48h,
 - Lecture : les colonies caractéristiques sont noires, poussant en masse et d'un diamètre supérieur à 0.5 mm.

Pour le dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs, nous avons appliqué l'équation suivante :

Nombre d'ASR/gr ou ml=

 (x_1+x_2) x inverse de la 1^{ère} dilution + (x_3+x_4) x inverse de la 2^{ème} dilution

2

 \mathbf{x}_1 : nombre de colonies dans le 1^{er} tube.

 \mathbf{x}_2 : nombre de colonies dans le $2^{\text{ème}}$ tube.

 x_3 : nombre de colonies dans le $3^{\text{ème}}$ tube.

 x_4 : nombre de colonies dans le $4^{\text{ème}}$ tube.

I.2.4.5 Dénombrement des Salmonelles selon la norme ISO6579

Lors de notre étude, la recherche s'est limitée seulement à signaler la présence ou l'absence de cette bactérie.

Mode opératoire

> Pré enrichissement

Prélever 25 grammes du produit à analyser dans un flacon stérile contenant 225ml de Tryptone Sel Eau (T.S.E.), puis incuber à 37°C pendant 18h.

Enrichissement

L'enrichissement doit être effectué dans un tube à essai contenant 10 ml de bouillon S.F.B. plus 2 disques S.F.B et en ajoute 1 ml de notre solution.

> Isolement

Chaque tube fera l'objet d'un isolement sur milien gélose Hektoen plus additif. Toutes les boites ensemencées seront incubées à 370 pendant 24h à 48h.

> Lecture

- Le premier tube de S.F.B. (1) positif (apparition de couleur rouge brique), est utilisé pour effectuer l'ensemencement sur la première boite de gélose de Hektoen (1).
 - Ruis, prendre 2 disques S.F.B. (1) dans un tube de S.F.B. (2) * positif, on fait ainsi l'ensement sur la deuxième boite de gélose Hektoen (2).
 - Prendre du S.F.B. (2) dans un tube de S.F.B. (3) on fait l'ensemencement sur gélose Hektoen.

I.2-5 Méthode de prélèvement pour les personnels et les surfaces

Lors de l'échantillonnage, des paramètres importants ont été considérés : le niveau de risque de contamination des surfaces et du personnel, la représentativité des échantillons ainsi que le temps nécessaire pour les prélever.

Dans le but d'avoir des analyses de bonne qualité, il est important de prélever d'une manière aseptique. Ainsi le manipulateur doit veiller à respecter son hygiène corporelle (surtout les mains) et vestimentaire.

I.2-5-1-Ecouvillonnage

Pour les prélèvements des surfaces et du personnel (mains et fosses nasales) et des équipements qui sont en contact avec la préparation des aliments, nous avons opté pour la méthode d'écouvillonnage humide qui est plus efficace que l'écouvillonnage à sec. Cette analyse se fait par des écouvillons stériles enfermes dans des tubes en plastique

I.2.5.2. Techniques de prélèvement

Le principe de la technique d'éconvillonnage est de faire le prélèvement par frottement de surface des mains du personnel, les fosses nasales et les équipements. On note dans la fiche de prélèvement de l'écouvillon l'heure, le lieu de prélèvement et la surface ou la nature de l'équipement prélevé.

Les différents échantillons sont ramenés au laboratoire central de l'hôpital de Frantz Fanon et au laboratoire d'hygiène de Feroudja.

Etapes:

- Effectuer un enrichissement sur miliex BHIB et incuber à 37°C pendant 24h.
- Les prélèvements sont mis en culture après avoir observé un trouble sur le milieu BHIB.
- Les ensemencements des prélèvements traités sont réalisés à la surface des milieux de cultures, il s'agit de:
- ➤ **Gélose Nutritive** : Elle permet la culture des bactéries peu exigeantes et d'observer le nombre de colonies (description macromorphologique).
- ➤ **Gélose Hektoen** : L'identification des entérobactéries repose sur la non utilisation des glucides présents dans le milieu (salicine, lactose, saccharose), l'indicateur

permet de visualiser la réaction du bleu de bromothymol qui vire au jaune à l'acidité et la fuchsine qui se colore en présence d'aldéhyde d'où une teinte saumonée.

➤ **Gélose Chapman**: Ce milieu permet la croissance des germes halophiles (tolérant à une forte teneur en Na Cl). Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre staphylococcies mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, et de rares bactéries à Gram négatif.

I.2.5.3. Technique des analyses microbiologiques

- Stériliser l'anse de platine.
- Refroidir l'anse dans l'eau physiologique.
- Travailler dans la zone stérile (15-20 cm autour du Bec Bunsen)
- Prendre une goutte de BHIB (déjà incubé).
- Prendre une boite de Pétrie stérile contenant la gélose (secher les avant leur utilisation).
- Mettre l'inoculum dans la partie antérieure de la boite de Rétrie (gélose).
- Séparer les colonies par la methode des quadrants.
- Incuber à une température de 37°C pendant 24h.

I.2.5.4. Identification

❖ Galerie API 20E

• Préparation de la galerie

Réunir fond et couvercle d'une boite d'incubation et remplir les alvéoles de l'eau distillée pour créer une atmosphère humide, ensuite déposer stérilement la galerie dans la boite d'incubation.

Préparation de l'inoculum

Prélever à l'aide d'une pipette Pasteur une colonie isolée et réaliser une suspension bactérienne ; on introduit quelques gouttes d'eau distillée stérile.

■ Incubation de la galerie API20E

- Avec la suspension bactérienne et la pipette ayant servi au prélèvement, remplir les tubes et les cupules des tubes : CIT, VP, GEL.
- Remplir uniquement les tubes (et non pas les cupules) des autre tests.
- -créer une anaérobiose dans les tests ADH, LDC, ODC en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.

- Refermer la boite d'incubation et la placer dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures

Lecture et détermination

Elle se fait selon l'apparition des couleurs après l'adition de :

TDA: Ajouter une goutte de réactif TDA.

IND (indole): Ajouter une goutte de réactif Koxacs.

VP : Ajouter une goutte de réactif VPI et VPII.

Les résultats sont lus en se référant au tableau AP120E

I.2.6 Analyse de l'eau

Pour constituer un aliment essentiel puisqu'il est indispensable à la vie, l'eau potable est une eau possédant toute les qualités chimiques, microbiologiques et organoleptiques la rendant apte à la consommation humaine.

C'est pour cette raison qu'on doit procéder à des analyses fréquentes (analyse microbiologique) afin de s'assurer de la potabilité de l'eau. Cette dernière partie expérimentale a été réalisée au laboratoire de Feroudja

Prélèvement des échantillons

Dans cette étude, l'eau analysée est une eau de distribution (eau de robinet). Pour cet effet :

- Prélever 500 ml après avoir désinfecté le robinet avec l'eau de javel (nous laissons l'eau couler quelques minutes)
- Remplir deux flacons stériles et les transporter dans une glacière

■ Technique d'analyse

Avant d'entamer la recherche des germes, on précède à un test appelé « test chlore » qui permet la confirmation de la présence ou de l'absence du chlore.

Ce test est réalisé par l'utilisation d'une pastille DPP Diethy -p- phenylenediamine)

- Introduire dans un tube à essai stérile une pastille

Verser 9 ml d'eau à analyser

Lecture : si la couleur vire au rose, le résultat est positif, s'il est négatif, on entanne le recherche des germes.

1.2.6.1 Recherche et dénombrement des Coliforme totaux et fécaux

Cette recherche fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

Test de présomption : réservé à la recherche des coliformes totaux.

Test de confirmation : appelé encore Test de Mac Kenzie réservé à la recherche des coliformes fécaux à partir des tubes positifs de présomption.

■ Test de présomption

- Introduire 50ml d'eau à analyser dans un flacon contenant 50ml de BCPL (bouillon lactose au proupre bromocrésol) double concentration (D/C) muni d'une cloche de Durham.
- Mettre 10ml d'eau dans 5 tubes le BCPL double concentration (D/C).
- Mettre 1ml d'eau dans 5ml tubes contenant le BCPL simple concentration (S/C).
- Bien mélanger en agitant le flacon et les tubes.
- Incuber l'ensemble à 37°c pendant 24 à 48 heures.

Lecture

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- ✓ Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche),
- ✓ Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu.

Ces deux caractères étant témoins de la fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrites.

L'expression des résultats s'effectue par la méthode NPP (nombre le plus probable) par l'utilisation de la table de MAC GRADY pour obtenir le nombre de coliformes totaux présents dans 100ml

Test confirmatif

Le test de confirmation ou test de Mac Kenzie est basé sur la recherche de Coliformes thermotolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'Escherichia coli.

- Les coliformes thermotolérants ont les mêmes propriétés de fermentation que les coliformes mais à 44°C. *Escherichia coli* est un coliforme thermotolérant qui entre autre :
- produit de l'indole à partir du tryptophane à 44°C,
- donne un résultat positif à l'essai au rouge de méthyl,
- ne produit pas de l'acéthyl méthyl carbinol,
- n'utilise pas le citrate comme source unique de carbone.
 - ✓ Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des Coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une öse bouclée dans tube contenant le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham.

Matériel et Méthodes

- ✓ Chasser le gaz présent éventuellement dans les Cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.
- ✓ Incuber à 44°C pendant 24 heures.

Lecture

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

- ✓ un dégagement gazeux,
- ✓ un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par Escherichia coli après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kowacs. ✓

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table NPP en tenant compte du fait que l'*Escherichia coli* est à la fois producteur de gaz et d'indole à 44°C

1.2.6.2 Recherche et dénombrement des spores de Clostridium Sulfito-réducteur

La recherche de Clostridium sulfito-réducteurs est basée sur la recherche des formes sporulées selon la technique suivante :

- Agiter soigneusement l'eau à analyser et introduire 25 ml en iron dans un tube stérile, le porter 5 à 10 minutes à 80 C afin de détruire la forme végétative et préserver la forme sporulée.
- Refroidir rapidement sous l'eau de robinet.
- Répartir le contenu dans quatre tubes stérilles à raison de 5 ml par tube, ajouter 20ml de gélose viande toie (VF) qui a été au préalable fondue au bain marie, refroidie à 45±1° cet additionnée d'une ampoule de sulfite de sodium et d'une ampoule d'alun de fer.

Mélanger soigneusement sans faire des bulles en évitant l'introduction d'air.

Laisser solidifier sur paillasse pendant 30minutes environ, puis incuber à 37°C durant 18 heures.

Après une première lecture, incuber à nouveau jusqu'à 24 heures et éventuellement 48 heures Lecture: sont considérés comme (+), les tubes qui renferment des colonies noires de spores de C.S.R, on compte des colonies dans chaque tube et la somme des colonies présente le nombre final de spores de CSR/20ml et CSR/1ml.

I.2.6.3 Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux en milieu liquide

Tout comme la méthode de recherche des coliformes en milieu liquide, celle de la recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- > le test de présomption
- le test de confirmation : réservé à la confirmation réelle des Streptocoques fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

■ Test de présomption.

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement :

- 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu ROTHE D/C,
- 5 fois 10 ml dans 5 tubes contenant 10 mlde milieu ROTHE D/C
- 5 fois 1 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE &
- Bien mélanger le milieu et l'inoculum
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures

Lecture

sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien, seulement ces derniers:

- ✓ Ne doivent en aucun cas faire l'objet de dénombrement
- Doivent par contre, absolument faire l'objet d'un repiquage sur milieu EVA LNSKY dans le boit d'erre confirmés.

Test de confirmation

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des Streptocoques fécaux éventuellement présents dans le test de présomption.

- Les tubes de ROTHE trouvés positifs feront donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'une öse bouclée dans tube contenant le milieu EVA LITSKY.
- Bien mélanger le milieu et l'inoculum.
- Incuber à 37°C, pendant 24 heures.

Lecture

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

- ✓ un trouble microbien
- ✓ une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP.



II-RESULTATS ET DISCUSSION

Pour l'interprétation des résultats des analyses microbiologiques, nous nous sommes basés sur les critères définis par la réglementation et fixés par l'arrêté du journal officiel (JORA) du 24 Janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23 Juillet 1994.

Cette interprétation se fait donc selon deux classes qui n'acceptent aucune tolérance, et correspond aux expressions :

- -Résultats considérés comme satisfaisants.
- -Résultats considérés comme non satisfaisants, le produit est déclaré impropre à la consommation

L'échantillon est conforme lorsque les résultats sont inférieurs ou égaux aux normes établies : produit propre à la consommation. L'échantillon est non conforme lorsque les résultats sont supérieurs aux normes fixées: produit impropre à la consommation (JORA N°35, 1998Voir annexe I).

II.1 Qualité hygiénique en fonction des critères fixés par la règlementation

Les résultats des analyses des denrées alimentaires sont rapportés dans le Tableau suivant:

Tableau VII. Qualité microbiologique globale des plats cuisinés

Produits	Viande	Salade	Sauce	Nombre de plats (%)
Résultats Conforme	16	20	20	56
Comornie	80%	100%	100%	80%
Non	4	0	0	4
conforme	20%	0%	0%	20%

Selon les critères bactériologiques réglementaires, nous notons que près de 80 % des échantillons étaient de qualité microbiologique satisfaisante. Ce sont des produits propres à la consommation. Les repas de mauvaise qualité représentent 20 % étaient. Plats cuisinés à l'avance pourrait expliquer ce taux de conformité (80% pour les viandes). Ce résultat est

proche de celui obtenu en Tunisie par (Jaafar et al.,2005) dans les restaurants et sont cependant largement inférieurs à ceux de (Wade,1996) et (Balde, 2002).

Bien que ce taux de non satisfaction soit faible dans cette étude, il est supérieur à celui retrouvé par **Tine en (2007)**. D'où la nécessité d'améliorer les mesures correctives mises en œuvre pour réduire le taux de non conformité des repas chauds à l'hôpital.

II.1.1 Variation du niveau de contamination en fonction des germes des plats cuisinés

♣ Viande

Les prélèvements ont été effectués au hasard, directement sur les repas prêts à être servis aux patients. La figure suivante montre que les coliformes sont responsables de la presque totalité des résultats non satisfaisants.

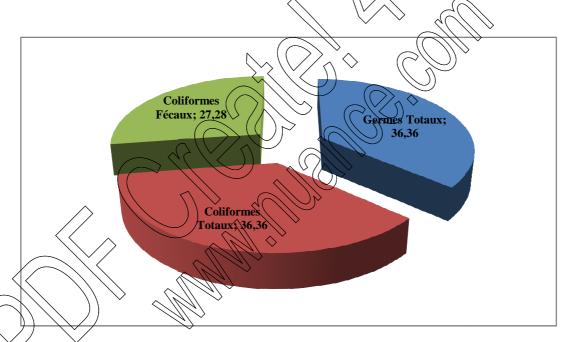


Figure 1. Principaux agents pathogènes incriminés les viandes

La charge trop élevée de certains échantillons de viande en coliformes totaux témoigne de la contamination fécale de ce produit. Ceci est probablement du à la contamination de ces viandes lors de l'abattage et/ou à la chaleur de cuisson non contrôlée.

Le tableau ci-dessous montre le taux de contamination par la flore mésophile aérobie à 30°C :

Tableau VIII. Niveau de contamination par la flore aérobie à 30°C des viandes

	Nombre	Résultats	Conformité%	Résultat	Non-
	d'échantillon	conformes		non	conformité%
				conformes	
Germes	20	16	80%	04	20%
totaux				_	

Nous notons que 20% des viandes contaminées par les FMTA retrouvés sont non conformes. La présence de FMAT dans les repas même à un taux aussi faible temoigne du non respect total des bonnes pratiques de préparation (rupture de la chaîne du froid, propreté etc.....).

La flore aérobie à 30°C est composée de germes de contamination qui se développent à des températures comprises entre 30°C et 37°C cette flore nous renseigne sur la propreté (ou non propreté) lors des manipulations, l'efficacité des procédés de traitement et la fraîcheur des produits.

Selon les normes du JORA (1998), les échantillons les plus contaminés ont un taux de flore total supérieur à 300000 germes g et sont considérés comme non satisfaisants.

Le taux de satisfaction comparé à celui retrouvé par Cisse, (2005) estimé à 98 % prouve qu'il y a une amélioration des règles d'hygiène au niveau de cet hôpital.

Le tableau n IX montre que 4 des 20 plats prélevés (viandes) correspondant aux mêmes prélevements qui présentaient des taux en coliformes totaux dépassant la norme qui est de 1000 colonies/mil et sont donc resonnues impropres à la consommation.

Tableau IX. Niveau de contamination par les coliformes totaux dans les viandes

	Nombre d'échantillon	Résultats conformes	Conformité%	Résultat non conformes	Non- conformité%
Coliformes	20	16	80%	4	20%
Totaux					

Le tableau montre que les plats v4, v8, v9, v20 ont des taux en coliforme fécaux non conformes aux normes (15%), vu que le taux en coliformes fécaux qu'ils renferment dépasse le taux admissible de 10 colonies/ml **JORA(1998)**. Ce taux de non conformité est supérieur à celui signalé par **Wade,(1996)**: 9,54%. La contamination des plats non conformes serait probablement due à une mauvaise hygiène des manipulateurs ou mauvaises conservations du matériel utilisé (entreposage des ustensiles, surfaces de travail sales).

Tableau X. Niveau de contamination par les coliformes fécaux dans les viandes

	Nombre d'échantillon	Résultats conformes	Conformité%	Résultat non conformes	Non- conformité%
Coliforme fécaux	20	17	85%	3	15%

Les coliformes fécaux comme *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* et plus particulièrement *Escherichia coli* sont les principaux indicateurs de la contamination fécale des aliments.

S'agissant des Staphyloccocus aureus on Lhomme est la principale source de contamination des aliments par ce type de staphylocoques présumés pathogènes et généralement assimilés à Staphyloccocus aureus. Il héberge les germes sur la peau, les cheveux la bouche et les narines.

Les valeurs obtenues dans cette étude montrent que les produits analysés sont propres à la consommation (Tableau XI). En effet, aucun des échantillons de viande étudiés ne renferme de *Staphylococcus aureus*, soit 100% de conformité. **Cisse**,(2005) dans ces travaux a signalé un taux de satisfaction de 99,4 %.

Tableau XI. Niveau de contamination par Staphylococcus aureus dans les viandes

	Nombre d'échantillon	Résultats conformes	Conformité%	Résultat non	Non- conformité%
				conformes	
Staphylocoques	20	20	100%	0	0%

Les ASR n'ont été à l'origine d'aucun échantillon de mauvaise qualité. L'absence des ASR dans les repas chauds peut être liée d'une part au bon lavage des denrées d'autre part à une cuisson suffisante des denrées pour éliminer les spores comme l'ont déjà signalés plusieurs auteurs dans la littérature **Wade**, (1996) et Cisse, (2005).

Tableau XII. Niveau de contamination par les spores anaérobies sulfito-réducteur des viandes

	Nombre	Résultats	Conformité%	Résultat	Non-
	d'échantillon	conformes		non	conformité%
				conformes	
ASR	20	20	100%		0%

Les salmonelles vivent dans le tube digestif des animaux à sang chand et des animaux à sang froid. Elles peuvent se multiplier dans le milieu extérieur ou leur survie est de longue durée. La présence des salmonelles dans les aliments est rare et accidentelle. Mais la fréquence élevée des coliformes fécaux dont la survie dans l'environnement est semblable à celle des salmonelles, entraîne une forte suspicion. Cependant, aucune viande n'a été contaminée par ce type de germe (Tableau XIII).

Ce taux de conformité de 100% peut s'expliquer par les méthodes de recherche utilisées car comme l'indiquent Catsaras et Grebot (1984), la recherche des salmonelles par la méthode classique peut être négative. Ce fait est die selon ces auteurs à la présence de germes inhibiteurs coliformes, *Proteus*)

Tableau XIII. Niveau de contamination par les salmonelles dans les viandes

	Nombre d'échantillon	Résultats conformes	Conformité%	Résultat non conformes	Non- conformité%
Salmonelles	20	20	100%	0	0%

L'analyse bactériologique des échantillons a révélé la présence de 3 types de germes : la flore mésophile aérobie totale, les coliformes totaux et les coliformes fécaux. On note l'absence de germes pathogènes : Salmonelles, Anaérobie sulfito réducteurs et Staphylocoques.

La flore mésophile aérobie totale (FMAT) est un indice de la qualité hygiénique des plats cuisinés, sa recherche nous renseigne sur la charge bactérienne et sur la qualité de l'aliment. La nature de l'aliment et son environnement vont conditionner les possibilités de survie et de développement des divers germes constituant la flore. Ces germes commensaux, qui à faible quantité ne posent souvent pas des problèmes sanitaires, peuvent se révéler dangereux lorsqu'ils se multiplient abondamment (10 à 10 UFC). Ils peuvent produire des substances toxiques spécifiques (enzymatiques) pouvant favoriser un pouvoir infectieux, mais aussi des catabolites toxiques à partir de certains composés organiques de l'aliment. Des symptômes digestifs se manifesteront ainsi (Bourgeois et al., 1988).

Les coliformes totaux (CT) sont des bactéries très répandues dans l'environnement, leur présence en quantité élevées dans les plats, indique une mauvaise hygiène générale, mais ne donne pas l'indication sur la présence ou l'absence de germes pathogènes. La présence des coliformes totaux dans certains plats cuits comme dans ce cas le cas de cette étude qui témoigne d'une cuisson insuffisante ou d'une contamination par des ingrédients non cuits comme cela a été signalé par Feillet (2002).

Les coliformes fécaux, quant à cux présent dans 3 de 20 plats analysés, sont des bactéries habituelles du tube digestif de l'homme et des animaux. Ce sont les seuls coliformes à se développer à une température 4°C. Leur présence dans un produit est généralement en relation avec une contamination d'origine fécale, près souvent, due à une défaillance dans le respect des règles d'hygiène du manipulateur (Feillet, 2002).

Les TIA sont dans la propart des cas sans réelle incidence sur la santé. Ils sont à l'origine de simples accidents de confort. Maux de ventre, diarrhées, vomissements, maux de tête, vertige et nausées en sont les symptômes les plus fréquents.

Neanmoins, les personnes possédant un système immunitaire affaibli, tels que les jeunes enfants, les femmes enceintes, les personnes âgées et les malades atteints de cancers, de diabète ou du SIDA en sont les plus vulnérables et doivent donc prendre des précautions particulières (Feillet, 2002).

II.1.1.2 Salades et sauces

Pour les salades et les sauces et selon les recommandations du JORA(1998), la recherche ne se fait que pour les Staphylococcus aureus et Salmonella.

Les résultats obtenus montrent l'absence totale de *Staphylococcus aureus et Salmonella* (Tableaux XV et XIV). Les hors d'œuvres à base de salade sont de bonnes qualité microbiologique.

Tableau XIV. Taux de conformité vis-à-vis des Staphylococcus aureus dans les salades

	Nombre	Résultats	Conformité	Résultats	Non-
	d'échantill	conformes	%	non	conformité
	on			conformes	%
Staphylocoques	20	20	100%	0	0%

Tableau XV. Taux de conformité vis-à-vis des salmonelles dans les salades

	Nombre	Résultats	Conformité %	Résultats	Non-
	d'échantillon	-conformes		non	conformité%
				conformes	
Salmonelles	20	20	00%	0	0%

Pour les sauces, les résultats obtenus comme le montre les tableaux ci-dessus sont identiques à ceux des salades. Vous notons une absence totale des germes pathogènes (staphylocoque et salmonelles).

Tableau XVI. Taux de conformité vis-à-vis des Staphylococcus aureus dans les sauces

	Nombre d'échantill on	Résultats conformes	Conformité %	Résultats non conformes	Non- conformité %
Staphylocoques	20	20	100%	0	0%

Tableau XVII. Taux de conformité vis-à-vis des des Salmonelles dans les sauces

	Nombre d'échantillon	Résultats conformes	Conformité%	Résultats non conformes	Non- conformité%
Salmonelles	20	20	100%	0	0%

Les salades composées de légumes crus, de sauces accompagnatrices soit d'une vinaigrette classique à base d'huile et d'acide soit d'une crème à base de produits laitiers (yaourt nature, crème) ou de mayonnaise, qui par leur origine contiennent des microorganismes tels les levures, favorisent la multiplication bacterienne. Lorsqu'il s'agit des sauces à base d'œufs, ces dernières sont d'excellents milieux de culture pour les microbes, ce sont des préparations dit à grand risque. Le délai entre la preparation et la consommation doit être le plus court possible à défaut, on ne doit pas conserver les excédents (Brunet-Loiseau, 2005).

Le séjour de certains légumes dans l'eau on dans les chambres froides, pour des utilisations ultérieures peut aussi jouer un rôle même mineur et l'aliment se contaminera d'avantage. La nature de certains légumes, les rendant plus fragiles, en hébergeant des germes au cours des manipulations peuvent les propager à d'autres produits par contact (Bourgeois et



II.1.2 Contrôle du personnel

Le nombre de germes retrouvés après analyse bactériologique des mains (n= 12) est résumé dans le tableau suivant :

Tableau XVIII. Nombre de non-conformité des mains par les différents germes

Germes retrouvés	Nombre
Staphylococcus à coagulase négative	09
Klebsiella pneumoniae	07
Staphylococcus aureus à coagulase positive	03
Pseudomonas aeruginosa	06
Enterobacter cloacae	04
Citrobacter sp.	0.5

Les bactéries les plus fréquemment isolées des mains étaient *Staphylococcus* à coagulase négative (9/12). L'isolement plutôt élevé des staphylocoques à coagulase négative à partir des échantillons de la main par rapport aux autres micro-organismes peuvent être expliqués par le fait que ces organismes sont présents cans la flore permanente de la peau. En effet, environ 35% à 40% des adultes en bonne santé possèdent des *S. aureus* asymptomatique et des *Staphylococcus* à coagulase négative (**Lowbury et al, 1964 et Ulrich, 1965**).

Il a été signalé que les staphylocoques à coagulase négative pourrait produire une entérotoxine (Brickenridge et Bergdoll, 1971; Udo et al, 1999; Holmberg et Blake, 1984). La presence de ce type de germes sur les mains des manipulateurs d'aliments doivent être considérés à l'avenir comme un risque pour la santé publique.

La charge de *Klebsiella pneumoniae* dans les échantillons prélevés à partir des mains du personnel cuisinier est de 7/12. Cette bactérie est apte à sécréter une toxine thermostable qui provoquerait une diarrhée sécrétoire chez certains enfants présentant une malnutrition.

Dans cette étude, l'hygiène personnelle des manipulateurs d'aliments n'est pas satisfaisante. Ceci est dû en grande partie à l'absence de rigueur des services officiels de contrôle. Des agents arborant toutes sortes de bijoux et de bracelets, devraient en principe être réprimandés.

Les tenues vestimentaires sont pour la plupart sales. Cet état des tenues est dû au contact avec les locaux et les équipements également sales. La responsabilité d'après le personnel incombe aux responsables d'établissements qui ne mettent pas suffisamment de tenue de rechange à leur disposition.

Les manipulateurs d'aliments sont obligés d'avoir une connaissance de base sur la bonne hygiène personnelle. Cette connaissance est cruciale car le manque d'hygiène personnelle est un risque à l'origine d'importants facteurs d'intoxication alimentaire car les mains peuvent être un vecteur important de transmission de micro-organismes à la nourriture en raison d'une mauvaise hygiène personnelle (**Taylor et al, 2000**; **Aarnisalo et al, 2006**; **Bao et al, 2006**; **Lues et Van Tonder, 2007**).

DeVita et al. (2007) ont constaté que les surfaces de contact (surfaces de travail) sont les plus fréquemment contaminés et pourraient également etre responsable de ce type de contamination.

Par conséquent, la procédure de lavage des mains approprié doit être pratiqué par tous les travailleurs en cuisine afin de réduire le risque de propagation des microbes comme le soulignent certaines études tells que celles de Sobel et al. (1998); de Sattar et al. (2002) et de Curtis et Cairncross (2003).

Selon (Campos et al., 2009), les pratiques incorrectes parmi le personnel de cuisine manipulateur de denrées alimentaires conduisant à une contamination croisée ont également été soulignées, comme par exemple

- Ne pas utiliser de protection pour les cheveux,
- Des ongles longs
- Bijoux,
- Et des infections de la peau.

D'autres mauvaises habitudes telles que toucher la bouche avec les mains et les essuyer sur des vêtements sales tout en travaillant **Dag**, (1996) pourraient être à l'origine des contaminations des plats cuisinés.

Bien que la taille de notre échantillon soit faible, on peut conclure que les connaissances en matière d'hygiène personnelle de base des manipulateurs d'aliments étaient

mauvaises. L'amélioration des pratiques des manipulateurs d'aliments et le port des gants sont nécessaires pour prévenir l'incidence des maladies d'origine alimentaire. Les anomalies concernent dans cette étude presque toutes les catégories d'employés et peuvent s'expliquer par l'insuffisance de l'application des règles de bonnes pratiques d'hygiène (BPH) lors du traitement et de la manipulation des denrées alimentaires comme l'a déjà souligné **Schwartz** (1995).

Ces résultats ont également conclu que les bonnes pratiques de lavage des mains chez les manutentionnaires de denrées alimentaires nécessiteraient à l'avenir une attention rigoureuse.

S'agissant des prélèvements de nez (n= 12) par la méthode d'écouvillonnage humide, les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XIX. Nombre de contamination des germes au niveau des fosses nasales

Germes retrouvés	Nombre
Staphylococcus à coagulase négative	(03)
Staphylococcus aureus à coagulase positive	\bigcirc 05
Pseudomonas aeruginosa 💛 //	\sim 01

Staphylococcus aureus existe sur la péau, dans le nez et sur les plaies de l'homme (Garret, 1988;. Nichols et al, 1999) Sa présence indique des pratiques d'hygiène inappropriées lors de la préparation des plats et leur consommation ainsi qu'une éventuelle contamination croisée.

En effet, sa transmission intra ou interhumaine s'opère généralement par contact direct manuportage, plus rarement, elle peut être indirecte à partir d'une source environnementale (vêtements, draps, matériels médicaux, équipements de cuisine etc...). C'est un germe qui est considéré comme un danger pour la santé publique, en raison de la capacité des souches à produire des entérotoxines. Les aliments le plus souvent incriminés sont les produits laitiers et la viande. L'intoxication est caractérisée par une incubation courte (1 à 6 heures après ingestion), des crampes abdominales douloureuses, des diarrhées, des vomissements et l'absence de fièvre. L'évolution est le plus souvent favorable en l'absence de traitement mais la survenue d'un choc toxique staphylococcique est possible lors d'une intoxination massive. En fonction des études, les intoxications alimentaires à *S. aureus* représenteraient 15 à 30%

des toxi-infections alimentaires (**Protocarrero et al., 2002**), **Atanassova et al 2001**; **Kloos et Bannerman, 1999**).

La survenance de *P. aeruginosa* pourrait être due à l'hygiène personnelle inappropriée et/ou à un environnement insalubre comme l'ont déjà rapporté certains auteurs comme **Tambekar et al. (2007).**



II.1.3 Contrôle du matériel

Le tableau suivant résume les principaux résultats des prélèvements des équipements de la cuisine montrant ainsi la présence de quelques germes. Cet état de fait pourrait s'expliquer par des ustensiles, une table de travail, des plateaux et/ou des charriots défectueux ou mal lavé et/ ou mal désinfecté.

Tableau XX. Contamination des équipements de cuisine par les différents germes

Équipement de cuisine	Résultats
Ustensiles contenant les préparations chaudes	absence
	absence
Ustensiles contenant les préparations froides	Klebsiella sp.
	7 , 4 // //
	Klebsiella sp.
	Kleosiella oxytoca
Table de travail	Enterobacter sp.
Plateaux (())	Klebsiella sp.
	Enterobacter sp.
Chariots	<i>Enterobacter</i>
	Klebsiella

Le genre Klebsiella est omniprésent dans la nature. Ces germes sont de fréquents agents pathogènes humains. Ces organismes peuvent conduire à une large gamme d'états pathologiques, notamment la preumonie, les infections urinaires, une septicémie etc...... (Adiga et al., 2012).

Ainsi, les équipements montrent d'après le nombre de germes retrouvés qu'ils sont une source potentielle de contamination. Il s'agit probablement d'un manque et /ou de l'inefficacité des procédés de nettoyage et de désinfection du matériel avant sa mise en contact avec l'aliment, d'où l'importance de ces procédures pour réduire la charge bactérienne (Bryan, 1994).

Le nettoyage avec des produits désinfectants serait à l'avenir souhaitable et nécessaire, surtout lorsqu'il s'agit d'un milieu hospitalier en présence de personnes vulnérables et sujettes

à des intoxications comme les très jeunes bébés, les personnes âgées et les patients immunodéprimés. Ainsi les serviettes de cuisine doivent être changées fréquemment, en les lavant et en les séchant sous les rayons du soleil connu pour supprimer les bactéries et contrôler ainsi la contamination croisée.

Les éponges utilisées pour le nettoyage des ustensiles doivent également être nettoyées dans un liquide antibactérien et séchées après chaque utilisation. Elles doivent être conservées dans l'eau bouillante pendant 5 minutes pour les décontaminer comme l'ont suggéré (Erdogrul et Erbilir 2005).

Bien que les germes comme Escherichia coli et Shigella n'aient pas été détectés dans cette étude, la présence d'autres Entérobactéries est une indication d'une possibilité de transmission fécale et des insuffisances des bonnes pratiques de traitement dans l'hygiène comme déjà rapporté par certains auteurs comme (Little et al,1998) et (Tambekar et al, 2007).

II.1.4 Qualité bactériologique de l'eau

Les résultats des analyses des cinq échantillons d'eau de consommation prélevés dans la cuisine du CHU Frantz Fanon sont récapitulés dans le tableau suivant et montrent une absence totale des germes totaux, fécaux, streptocoques et spores ASR.

Tableau XXI. Qualité bactériologique de l'eau utilisée dans la préparation des plats

Type d'aliment	Germes recherchés	Résultats	
	C 1'C (100 1	A1	
	Coliformes totaux/100ml	Absence	
	Coliformes fécaux/100ml	Absence	
Eau	Streptocoques fécaux de groupe D	Absence	
	Anaérobie sulfito-réducteur	Absence	
	00sp/20ml		
		Y , 4(///)	

Les coliformes totaux n'entraînent en général aucune maladie, mais leur présence indique qu'une source d'approvisionnement en eau peut être contaminée par des microorganismes plus nuisibles (Figarella et al., 2001). La recherche de ces germes dans les eaux destinées à la potabilisation, n'a d'interêt que pour mesurer l'efficacité du traitement. Les normes algériennes (JORA,2011) ainsi que les lignes directrices de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS,2008) précisent qu'aucun coliforme thermotolérant ne doit être présent dans un échantillor d'eau potable cela a été le cas dans cette. Cette absence est du à la chloration de l'eau depuis la station de traitement. De ce fait, nous pouvons qualifier ces eaux comme étant des eaux de bonne qualité bactériologique.

La persistance des entérocoques dans divers types d'eau peut être supérieure à celle des autres organismes indicateurs (Edberg et al.,2000), notamment à cause de leur résistance notoire aux agents désinfectants (Hasley et Leclerc,1993), ce qui fait d'eux des indicateurs privilégiés pour évaluer l'efficacité du traitement de l'eau (OMS, 2008). Comparativement aux coliformes, ils sont plus résistants à des conditions environnementales difficiles et persistent plus longtemps dans l'eau (Leveau et Bourgois,1991). La réglementation Algérienne impose l'absence de Streptocoques fécaux dans 100 ml d'eau prélevée (JORA, 2011).

L'intérêt de la recherche des ASR réside dans la propriété de leur sporulation, ce qui les rend particulièrement résistant aux traitements de désinfection. Ils permettent en fait de mesurer l'efficacité de la filtration, seule étape de traitement capable de les stopper. Ils sont actuellement considérés comme de bons indicateurs de l'efficacité de traitement (**Jestin**, **2005**). En se référant aux normes algériennes des eaux de consommation, nous pouvons qualifier les eaux de consommation utilisées dans la préparation des repas dans la catégorie supérieure vue l'absence totale des Spores d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs.



CONCLUSION

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la surveillance du risque microbien des aliments servis aux patients dans un centre hospitalo-universitaire en l'occurrence celui de Frantz Fanon de Blida. Les analyses bactériologiques ont montré que les viandes sont conformes à 80% et que les salades et les eaux sont conformes à 100% alors que le personnel est non conforme à 83.3%.

Des mesures très importantes sont donc à prendre au niveau des cuisines tout au long du processus de préparation et de conservation des aliments :

- ♣ Respect strict de la chaine du froid
- Luisson convenable et maintien en température ou réfrigération rapide
- ♣ Hygiène corporelle permanente exigée
- 4 Dépistage du personnel de cuisine avec retrait des porteurs sains
- Nettoyage et désinfection efficaces et contrôlés du matériel, des locaux et des équipements de cuisine

Afin d'éviter l'infection alimentaire, notre objectif est d'intervenir à toutes les étapes de la chaine alimentaire, de répertorie tous les point critique pour aboutir à la mise en place d'un système de sécurité alimentaire type HACCP.

Les troubles dues à l'ingestion des aliments non conformes varient en fonction de la nature des microorganismes ingérés, du niveau de contamination et de l'état physiologique du consommateur. En tenant compte de ces différents aspects, des actions d'amélioration pourront alors être identifiées et intégrées dans un programme complet soutenu par une structure qui pourrait garantie des prestations optimales à ce niveau.

A l'avenir, l'éducation, la formation et la motivation de tous ceux qui manipulent les aliments dans la restauration et particulièrement la restauration hospitalière, constituent un des volets indispensables à une bonne politique de prévention. Ce contrôle préventif servira à mesurer globalement la qualité des plats préparés, à évaluer ses variations dans l'espace et dans le temps et à faire un bilan permanent permettant de limiter les risques d'intoxications et d'améliorer ainsi le bien être des patients dans cet hôpital en particulier, et de tous les malades en général ce qui réduit le cout en matière de santé publique.

Adiga I, L SK, Mustaffa MB, Bismi NB, Yusof NB, Ibrahim NB (2012), Md Nor NB. Bacterial Contamination in the Kitchen: Could It Be Pathogenic Web med Central: International Journal of Medicine and Molecular Medicine;3(4):WMC003256pp271

Aarnisalo, K., Tallavaara, K., Wirtanen, G., Maijala, R. and Raaska, L. (2006). The hygienic working practices of maintenance personnel and equipment hygiene in the Finnish food industry. Food Control 17 (12): pp 1001,1011

Atanassova, V., Meindl, A. and Ring, C., (2001), Prevalence of Staphylococcus aureus and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked fram - A comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR. International Journal of Food Microbiology 68, (1-2),pp 105,113

Anonyme . http://www.sodis.ch/index_EN

Branger.A et Richer.MM et Roustel.S, (2007). Microbiochimie et alimentation. Edition, Educagri pp72

Bourgeois, C.M, et Leveau J.Y (1980), Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires, Vol.3, Le contrôle microbiologique Edition technique et documentation, Lavoisier, pp 278, 279,280

Brunet-Loiseau D, (2005), Hygiéne et restauration, Les guides pratiques des CHR, café hôtel restaurant, BPL, 4^{émé} Edition,pp 39,55,142,174,197,262,268

Bonnefoy. C, Guillet F, Leyral. G, Verne-Bourdais.E, (2002), Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Doin éditeurs, CRDP aquitaine, France, pp 211,212

Bourgeois, C.M., et Mescle J.F., Zucca J. (1988), Microbiologie alimentaire, Vol. 1, Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire, Technique et documentation, Lavoisier, 2 éme Edition pp 89

Bugnicourt.M, (1995), Dictionnaire de microbiologie générale, édition ellipses, pp 241, 356, 867, 868,892

Balde J., (2002) Etude de la qualité microbiologique des repas servis à l'Hôpital Principal de Dakar . Phèse : Méd.vét.: Dakar pp 1

Bao, M., Ersun, A. and Kavanc, G. (2006). The evaluation of food hygiene knowledge, attitudes, and practices of food handlers' in food businesses in Turkey. Food Control 17 (4): pp 317,322.

Cheftel J.C et Cheftel.H et Besancon.P, (1977), Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments, Vol.2, Technique et documentation, Lavoisier.paris. pp 3,4

Charreau. V, Etienne.N, et Ingargiola.E, (2006), A la découverte des aliments. Tester, comprendre et partager les sciences de l'alimentation, Educagri Edition, pp 304

Caque, (1998) Guide d'inspection qualité sur l'hygiène et les contaminations dans les établissements agroalimentaire, pp 6

Cisse, (2005) Contribution à l'amélioration de la qualité bactériologique des Plateaux-Repas servis en restauration différée en liaison froide, cas de Dakar Catering. Thèse:Méd.Vét.: Dakar; pp 150

Catsaras M. et Grebot D., (1984). Multiplication des salmonelles dans la viande hachée. Bull. Acad. Vet., France, 57: pp 501,502

Curtis, V. and Cairneross, S. (2003). Effect of washing hands with soap on diarrhea risk in the community: a systematic review. Lancet Infectious Diseases 3 (5): pp 275,281

Campos, A. K. C., Cardonha, A. M. S., Pinheiro, L. B. G., Ferreira, N. R., deAzevedo, P. R. M. and Stamford, T. L. M. (2009). Assessment of personal hygiene and practices of food handlers in municipal public schools of Natal, Brazil. Food Control 20(9): pp 807, 810.

Decade C, Marty L, Demontrond D, Manuel C, Cabrit R, Mann G (2005). Gestion du risque infectieux d'origine alimentaire dans les unités de soins. XVI EME CONGRES NATIONAL DE LA SFHH. REIMS,

DGCCRF (2007), Sécurité des produits alimentaires, Matériaux au contact des denrées alimentaires, DGCCRF, décembre

Devita, M. D., Wadhera, R. K., Theis, M. L. and Ingham, S. C. (2007). Assessing the potential of *Streptococcus progenes* and *Staphylococcus aureus* transfer to foods and customers via a survey of hands, hand-contact surfaces and food-contact surfaces at foodservice facilities Journal of Foodservice 18 (2): pp 76,79

Dag, A. (1996). Effect of hygiene training program developed for mass feeding services on information, attitudes and behavior. Ankara, Turkey: Hacettepe University, MSc thesis.

European organization for qualité control, (1981), la gestion de la qualité des produits alimentaire, Edition A.P.R. 1335 rues du général –Foy 75008 PARIS-France.

Erdogrul O, ErbilirF. 2005. Microorganisms in kitchen sponges. Internet Journal of Food Safet V.6: pp 17,22

Edberg S-C., Rice E-W., Karlin R-J., Allen M-J: (2000): Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88:pp 106S, 116S.

Federighi M, (2005), Bctériologie alimentaire, Compendium d'hygiène des aliments, 2^{éme} Edition, Economica Edition, pp25

Feillet.P, (2002) Le bon vivant : une alimentation sans peur et sans reproche, Edition INRA, Institut national de la recherche agronomique, paris, pp107, 108

FRANCE REPUBLIQUE, (1968) Circulaire du 06 mars 1968 relative aux mesures de prophylaxie à prendre en matière d'hygiène alimentaire dans les établissements publics universitaires et scolaires. Paris, J.O. de la république française.

Guiraud.J-P. (2003) Microbiologie alimentaires, 1^{ére} Edition, édition Dunod, Ria, paris, France, pp 41, 107, 127,163

Haslay, C. Leclerq, H. (1993). Microbiologie des eaux d'alimentation. Edition Lavoisier, Paris, pp 191, 496

Hygis, V. (1988) Hygiène hospitalière ; Manuel de lutte contre l'infection nosocomiale. Ed. C & R La M Madeleine, p 411

Institut nationale de la sante publique (INSP), (2008), Cours de méthodologie de base pour les professionnels de santé des bureaux d'hygiène communale, Volume II, pp 13,16

Jestin, E (2005). La production et le traitement de l'éau destinée à l'alimentation et à la préparation des denrées alimentaires, pp 34

Jaafar; Imen; Mabrouka et Jridi., (2005) Etude comparative sur les plats un sinés présentés au Buffet entre un groupe d'hôtels appliquant le système HACOP et un groupe sans système. Microbiologie Hygiène Alimentaire -vol. 17 (48) pp 9,14

Jofin.c et Jofin.j-n. (2005) Microbiologie alimentaire 5 Edition, CRDP. Aquitaine, France, pp 15,212

Kloos, W.E. and. Bannerman T. L., (1995). Staphylococcus and Micrococcus. In: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover and R.H. Yolken, Editors, Manual of Clinical Microbiology (5th ed.), ASM Press, Washington, D. C., USA, pp 282,298.

Leveau et Bourgois, 1991. Techniques de contrôle dans les industries agroalimentaire : Le contrôle microbiologique. 2^{ème} Edition Lavoisier, pp 454

Little, C. L., Monsey, H. A., Vichols, G. L. and de Louvois, J. (1998). The microbiological quality of ready-to-eat dried and ermented meat and meat products. International *Journal of Environmental Health Research*, 8: pp 277,284.

Lues, J. F. R. and Van Tonder, I. (2007). The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group. Food Control 18 (4): pp 326,332.

Merouz.R, et Tondusson.O, (1997), Bonnes pratique d'hygiène et plan de nettoyage, Edition Bpi, pp 17,18,19,20

Moll.M et Moll.N, (2000), précis des risques alimentaires, Edition technologie et documentation, Lavoisier, paris, pp 10,11

Multon J.L (1985). La qualité des produits alimentaire, Politique incitations gestion et contrôle, Edition Technique et documentation, Lavoisier, pp 83, 87,89, 180,447

Nichols, S. L., Little, C. L., Mithani, V. and de Louvois, J. (1999). The microbiological quality of cooked rice from restaurants and take-away premises in the United Kingdom. *Journal of Food Protection*, 62: pp 877,882.

OMS. (2008). WHO (World Health Organization), Guidelines for drinking water quality, vol.1, Recommendations (2nd edn.), Geneva, WHO, 1993, pp 130.

Poumeyrol G.; Beaufort A.; Rosset R., (1994) Politique de la qualité dans l'alimentation collective et le fast-food In la qualité des produits alimentaires : politique ; incitation ; gestion ; contrôle. – Paris : Ed TEC et DOC – Lavoisier, pp 160

Protocarrero SM, Newman M, Mikel B, (2002). Staphylococcus aureus survival, Staphylococcal enterotoxin Production and helf stability of country—cured hamsmanufactured under different processing procedures. Meat Science 62:pp 267,273.

Roudot A.C (2001) Rhéologie et analyse de texte des aliments .Edition technique et documentation, Lavoisier, pp 11

Roudaut H. et Lefrancq E, (2005), Alimentation théorique, Doin Editeur, France, pp 87, 88, 196, 197,198

Rambaud J.C, et Rampal.P (1993) Hepato-gastroenterologies Diarrhées aigues infectieuses. Doin Editeur, pp 77,78

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

Rozier, J. (1990) Comprendre et Pratiquer l'hygiène en cuisine Paris: la cuisine collective, pp

Rosset R. et Lameloise P., (1983) Hygnène de la préparation : règles générales. La restauration. INSV pp 113-119.

Rozier J. Carlier V.Bolnot F.; (1985) Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments...Raris Edition SEPAIC, pp 230

Règlement (CE) n° 178/2002 du Parlement européen et du Conseil du 28 janvier 2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires, *Journal Officiel des Communautés Européennes*, n° L31 du 1.2.2002, pp 1

Sattar, S. A., Springthorpe, V. S., Tetro, J., Vashon, R. and Keswick, B. 2002. Hygienic hand antiseptics: should they not have activity and label claims against viruses? American Journal of Infection Control 30 (6): pp355, 372

Sobel, J., Mahon, B., Mendoza, C. E., Passaro, D., Cano, F., Baier, K., Racioppi, F., Hutwagner, L. and Mintz, E. (1998). Reduction of fecal contamination of street-vended beverages in Guatemala by a simple system for water purification and storage, hand washing, and beverage storage. American Journal of Tropical Medicine Hygiene 59 (3):pp 380,387

Tine R.S., 2007. Qualité microbiologique des repas servis au niveau des cases des tout petits. Thèse:Méd.vét.: Dakar, pp 44

Tambekar, D.H., Shirsat, S.D., Suradkar, S.B., Rajankar, P.N., and Banginwar, Y.S. (2007). Prevention of transmission of infectious disease: Studies on hand hygiene in health-care among students. *Continental Journal of Biomedical Sciences*, 1: pp 6, 10

Tambekar DH, Shirsat SD, Suradkar SB, Rajankar PN, and Banginwar YS. (2007). Prevention of transmission of infectious disease: Studies on hand hygiene in health -care among students. Continental Journal of Biomedical Sciences.1: pp 5, 10

Taylor, J. H., Brown, K. L., Toivenen, J. and Holah, J. T. (2000). A microbiological evaluation of warm air driers with respect to kand hygiene and the wastroom environment. Journal of Applied Microbiology 89 (6): pp 910,919

Wade M., 1996. Etude de la qualité microbiologique des repasservis au niveau des restaurants du Centre des Œuvres Universitaires de Dakar (COUD) Sénégal. Thèse: Méd. Vét.: Dakar, pp 39