

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention de Diplôme de Master

Domaine : Science de la Vie

Filière : Microbiologie Générale

Option : Microbiologie Général et Biologie Moléculaire Des Microorganismes

**THEME :**

**Evaluation de la qualité bactériologique des pâtisseries  
commercialisées dans la wilaya de Constantine en  
2013-2014**

*Présenté et soutenu par :*

SOUTI Imen et KAROUAZ Fatima

*Le : 12 juin 2014*

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury : Mme I. Mihoubi**

**M.C. Université de Constantine 1**

**Rapporteur : Pr F. Khelifa**

**M.C. Faculté de médecine**

**Examineur : Mme L. Bouzeraib**

**C.C. Université de Constantine 1**

Année universitaire: 2013/2014

## *Remerciements*

*Nous tenons tout d'abord à remercier **Dieu** le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement Docteur **KHELIFA Foudil** qui nous a permis de bénéficier de son encadrement, des conseils qu'il nous a prodigués. La patience, la confiance qu'il nous a témoignées ont été déterminantes dans la réalisation de notre travail de recherche.*

*Nous remercions les membres du jury, Mme **MIHOUBI** et Mme **BOUZERAÏBE** qui ont bien voulu examiner ce travail.*

*Nous tenons également à remercier Mme **HAIFI Maya** pour toutes ces orientations et ces conseils durant ce travail.*

*Nous remercions toute l'équipe du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Constantine surtout l'équipe du service de microbiologie alimentaire sans exception, pour leur aide et surtout pour leur gentillesse.*

# DEDICACE

*Je dédie ce travail à...*

*Ma chère mère qui m'a éclairée mon chemin et qui m'a encouragée et soutenue tout au long de mes études.*

*L'âme de mon père qui me conseillait et me poussait vers le but le plus sublime dans la vie, comme il a toujours agi tenacement afin de surmonter toutes les difficultés.*

*Mes adorables sœurs Sihem, Afaf et Assia, et mes chers frères Nasser et Khaled pour leur encouragement, leur assistance et leur soutien. Que dieu vous préserve !*

*Mes grandes familles, grandes et petites.*

*Ma chère copine Amal.*

*Karouaz Fatima.*

# DEDICACE

*Je dédie ce travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère.*

*A mon père, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager,*

*A me donner l'aide et à me protéger.*

*A mes chers frères et ma sœur.*

*A tous les membres de ma famille, petits et grands.*

*A toutes mes amies.*

*A tous ceux qui me sont chers.*

*SOUTI Imen.*

## LISTE DES ABREVIATIONS

**A:** Acceptable  
**Abs :** Absence  
**ADH:** Arginine déshydrolyse  
**A<sub>w</sub> :** Activité de l'eau  
**BLBVB:** Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant  
**CSR:** *Clostridium* sulfito-réducteur  
**CT:** Coliformes Totaux  
**CTT:** Coliformes Thermo-tolérants  
**DM:** Dilution Mère  
**EPEI:** Eau Peptonée Exempte d'Indole  
**Ech:** Echantillon  
**EPS:** Eau physiologique stérile  
**FTAM:** Flore Totale Aérobie Mésophile  
**G:** Germe  
**LDC:** Lysine décarboxylase  
**min:** minute  
**N° Ech:** Numéro d'échantillon  
**NPP:** Nombre le Plus Probable  
**NS:** Non satisfaisant  
**ODC:** Ornithine décarboxylase  
**ONPG:** Orthonitrophenyl  $\beta$ -D Galactopyranoside  
**OX:** Oxydase  
**RM:** Rouge de Méthyle  
**S:** Satisfaisant  
**TIAC:** Toxi-infections Alimentaires Collectives  
**TIA:** Toxi-infection Alimentaire  
**T°:** Température  
**TGEA:** Tryptone Glucose Extract Agar  
**TSI:** Triple Sugar Iron  
**Uni:** Unité  
**VF:** Viande- foie  
**VP:** Voges-Proskauer

## **LISTE DES TABLEAUX**

**Tableau 01** : Description des principaux germes responsables des TIAC.

**Tableau 02** : Les échantillons de pâtisserie analysés.

**Tableau 03** : Les critères microbiologique des pâtisseries et des crèmes pâtisseries.

**Tableau 04** : La qualité bactériologique des pâtisseries « Année 2013 ».

**Tableau 05** : Résultat du dénombrement et interprétation de la présence de la FTAM en 2014.

**Tableau 06** : Niveaux de contamination par la FTAM à 30°C

**Tableau 07** : Résultat du dénombrement et interprétation de la présence de Coliforme totaux en 2014.

**Tableau 08** : Niveaux de contamination par la CT à 30°C.

**Tableau 09**: Résultat du dénombrement et interprétation de la présence de Coliformes thermotolérants à 44°C.

**Tableau 10** : Résultat du dénombrement et interprétation de la présence de CSR à 46°C.

**Tableau 11** : Résultat du dénombrement et interprétation de la présence de *S. aureus*.

**Tableau 12** : Niveaux de contamination par la *S. aureus*.

**Tableau 13** : Identification biochimique de *Salmonella enteritidis*.

**Tableau 14** : Résultat du dénombrement et interprétation de la présence de *Salmonella*.

**Tableau 15** : Niveaux de contamination par la *Salmonella*.

**Tableau 16** : La qualité bactériologique de 24 échantillons des pâtisseries analysées en 2014.

## LISTE DES FIGURES

**Figure 01 :** Exemple de pâtisseries.

**Figure 02:** *Escherichia coli* coloré au microscope électrique à balayage (MEB) agrandissement (x8600).

**Figure 03 :** Micrographie électronique à balayage (MEB) montre *Staphylococcus aureus* sous un grossissement (x10000).

**Figure 04 :** *Salmonella typhimurium*, en rouge, sur une culture de cellules humaines.

**Figure 05 :** Distribution de la qualité bactériologique des pâtisseries en 2013.

**Figure 06 :** Colonies de la FTAM sur gélose PCA.

**Figure 07 :** Répartition des niveaux de contamination des pâtisseries par la FTAM en 2014.

**Figure 08 :** Milieu BLBVB avant (a) et après ensemencement (b).

**Figure 09 :** Répartition des niveaux de contamination des pâtisseries par les CT en 2014.

**Figure 10 :** Test d'indole.

**Figure 11 :** Aspect des colonies de CSR sur gélose Viande-foie.

**Figure 12 :** Aspect de colonie de *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman.

**Figure 13 :** Test de coagulation (Plasma de lapin).

**Figure 14 :** Répartition des niveaux de contamination des pâtisseries par les *S.aureus* en 2014.

**Figure 15 :** Aspect des colonies de Coliformes sur gélose Hektoen.

**Figure 16 :** Colonies de *Salmonella enteritidis* sur gélose Hektoen.

**Figure 17 :** Aspect de milieu TSI (+)

**Figure 18 :** Aspect de milieu mannitol mobilité (+)

**Figure 19 :** Aspect du test indole (-)

**Figure 20 :** Aspect de milieu Citrate de Simmons (+)

**Figure 21 :** Aspect du test RM (+)

**Figure 22 :** Aspect du test VP (-)

**Figure 23 :** Aspect du test ONPG (-)

**Figure 24 :** Aspect du milieu LDC (+)

**Figure 25 :** Aspect du test Uréase (-)

**Figure 26 :** Répartition des niveaux de contamination des pâtisseries par la *Salmonelle* en 2014.

**Figure 27 :** Distribution de la qualité bactériologique globale des pâtisseries en 2014.

**Figure 28 :** Distribution de la flore microbienne en 2014.

**Figure 29 :** Distribution de la flore microbienne en 2013.

## *LISTE DES SCHEMAS*

**Schéma 01** : Principales interactions entre aliment, microorganisme, consommateur.

**Schéma 02** : Préparation des dilutions.

**Schéma 03** : Le plan à trois classes.

**Schéma 04** : Le plan à deux classes.

# **TABLE DES MATIERES**

	<b>Page</b>
Liste des Abréviations.....	I
Liste des Tableaux .....	II
Liste des figures.....	III
Liste des Schémas.....	V

<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Revue bibliographique</b>	
I / Généralité sur la pâtisserie.....	2
I-1 / Histoire de la pâtisserie .....	2
I-2 / Définition de la pâtisserie .....	2
I-3 / Les types de pâtisseries .....	3
II / Les risques sanitaires en pâtisseries : .....	3
II-1 / Risques microbiens .....	3
II-2 / Présence de corps étrangers .....	4
III / Effets des micro-organismes sur la pâtisserie .....	4
III-1 / Altération des aliments .....	4
III-2 / Les maladies transmises par les pâtisseries .....	5
III-2-1 / L'infection alimentaire .....	5
III-2-2 / L'intoxication alimentaire .....	5
IV/ Les facteurs de développement des bactéries dans la pâtisserie .....	7
IV-1 / Les facteurs intrinsèques .....	7
IV-1-1/ La composition de l'aliment.....	7
IV-1-2/ Le pH .....	7
IV-1-3/ Activité de l'eau (Aw) .....	7
IV-2 / Les facteurs extrinsèques .....	8
IV-2-1/ La température et l'humidité relative .....	8
IV-2-2/ L'atmosphère .....	8

V/ L'influence de la flore microbienne des pâtisseries sur la santé du consommateur	8
V-1 / La flore totale aérobie mésophile (FTAM)	8
V-2/ Les Coliformes	9
V-2-1/ Les Coliformes totaux (CT)	9
V-2-2/ Les Coliformes thermotolérants (CTT)	10
V-3 / Les Clostridium sulfito-réducteurs	11
V-4 / Staphylococcus aureus	12
V-4-1/ L' intoxication alimentaires Staphylococcique	13
V-5 / Salmonella	14
VI / La maîtrise de l'hygiène dans le secteur de la pâtisserie	16
VI-1 / La matière première :	16
VI-2 / Le personnel	17
VI-3 / Les locaux	17
VI-4 / Les appareils	18
VI-5 / Nettoyage et désinfection des locaux et des appareils	18
VI-6 / Conservation	18

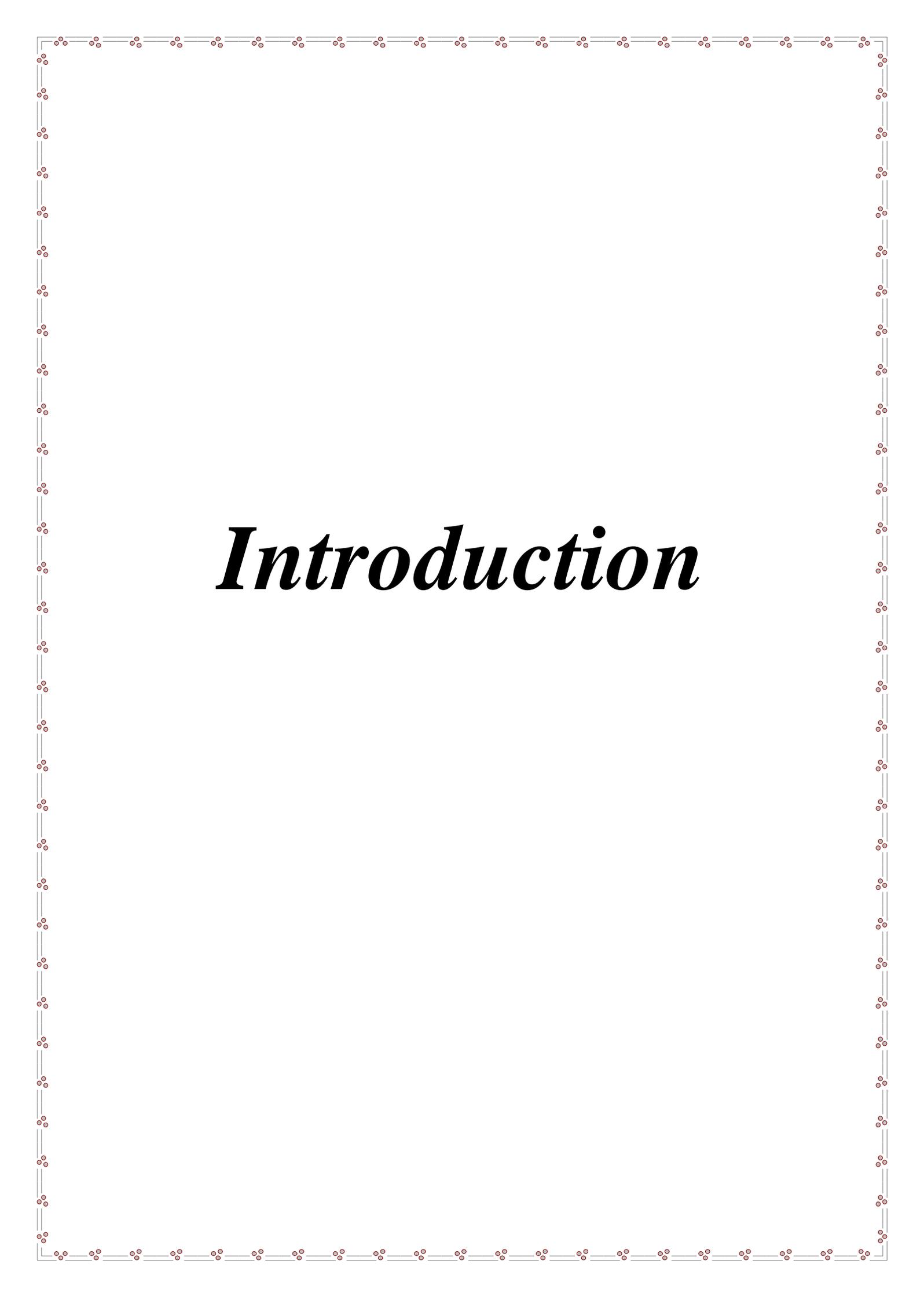
### **Matériel et méthode**

I / Matériels	19
I-1/ Matériels	19
I-2/ Milieux de culture et réactifs	19
II / Méthodologie	20
II-1/ Echantillonnage et prélèvement	20
II-2/ Prise d'essai	21
II-3/ Analyses bactériologiques :	22
II-3-1/ Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux	22
II-3-2/ Recherche et dénombrement des coliformes en milieu liquide	22
II-3-3/ Recherche de Staphylocoque aureus :	23
II-3-4/ Recherche des spores de Clostridium sulfito-réducteurs	24
II-3-5/ Recherche de Salmonella	25
III / Méthode d'interprétation	30
III-1/ Plan a trois classes	30
III-2/ Plan à deux classes	31

### **Résultat et Interprétation**

I / Résultat des analyses microbiologiques	33
--	----

I-1/ Présentation des résultats .....	33
I-1-1/ Qualité bactériologique des pâtisseries « Année 2013 » .....	33
I-1-2 / Qualité bactériologique des pâtisseries au cours de l'année 2014 .....	33
I-1-2-1 / Appréciation du niveau de contamination en fonction des germes	33
I-2/ Appréciation globale des résultats.....	48
<b>Discussion</b>	
Discussion .....	50
<b>Conclusion et Recommandation</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	



# *Introduction*

## ***Introduction :***

La sécurité sanitaire des aliments constitue actuellement le cheval de bataille de toutes les industries agro-alimentaires, les pâtisseries sont largement consommées et sont considérées comme un majeur composant dans le marché alimentaire international [1].

La pâtisserie occupe une place de choix dans notre alimentation. La richesse des ingrédients de la pâtisserie en eau et en protéines fait de ce produit un milieu de culture favorable à la prolifération microbienne [02].

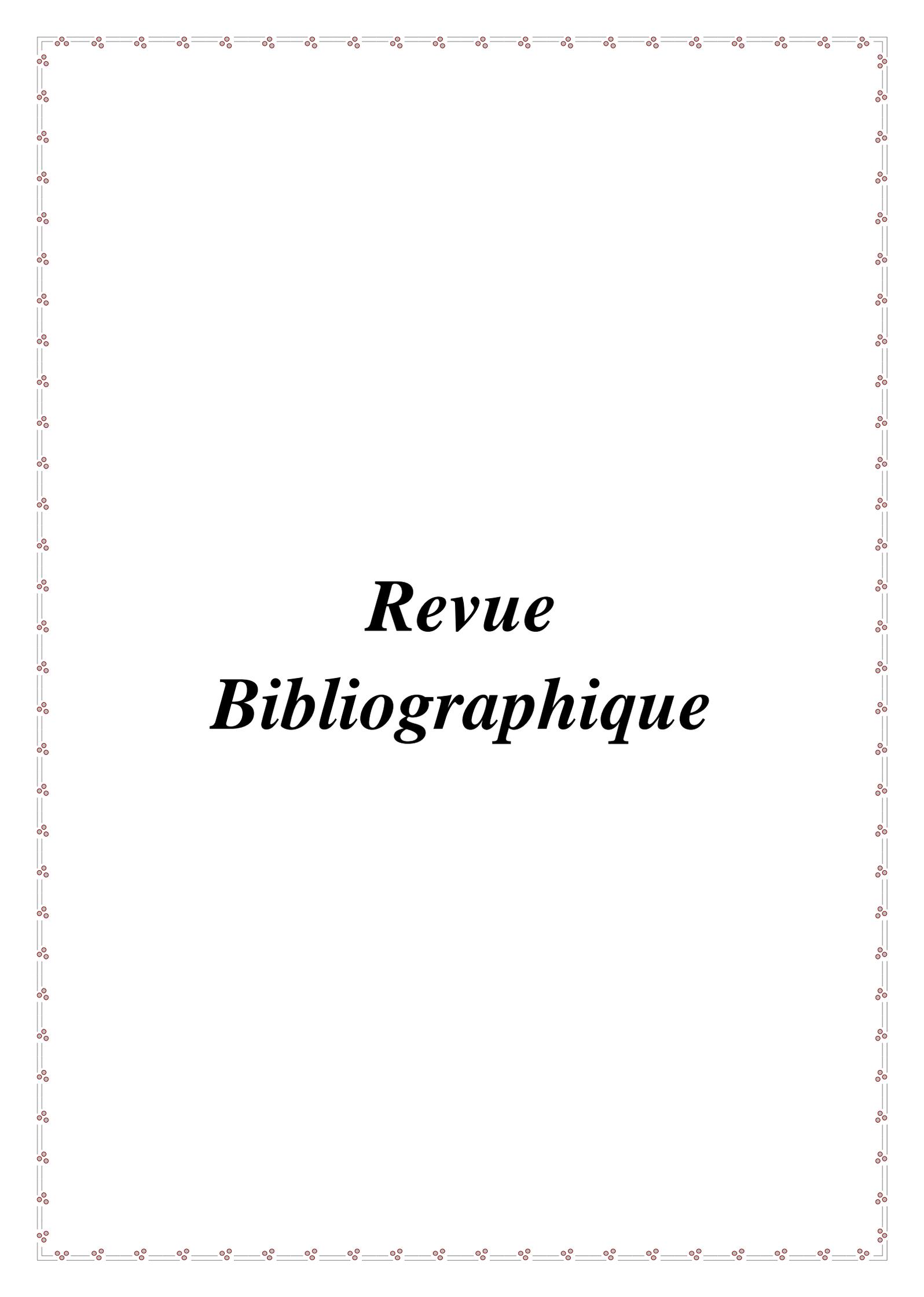
Les microorganismes pathogènes ou responsables d'altération sont apportés par divers façons (l'homme, les insectes, le matériel souillé, l'air, etc), et sont développés sous l'action de diverse paramètres intrinsèques (liées aux aliments) et extrinsèques (liées à l'environnement). Par conséquence cet aliment peut devenir dangereux pour la santé des consommateurs s'il contient des micro-organismes produisant des toxines.

Il est important d'avoir un aliment sain et nutritif, l'absence de respect des lois d'hygiène (locaux, mains, etc.) et de la chaîne du froid ainsi que le contrôle peu efficace des produits alimentaires sont des causes des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) [03].

Le principal objectif de ce travail est d'évaluer la qualité bactériologique des échantillons de la pâtisseries prélevées dans la wilaya de Constantine au cours de l'année 2013 et le premier trimestre de l'année 2014 par le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM), Coliformes totaux et fécaux, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* sulfite-réducteur.

Pour assurer une bonne qualité de fabrication, la connaissance de la microbiologie alimentaire et la maîtrise du contrôle microbiologique des pâtisseries sont nécessaires.

La salubrité des aliments prend de plus en plus d'importance en santé publique.



*Revue*  
*Bibliographique*

## **I / Généralité sur la pâtisserie :**

### **I-1 / Histoire de la pâtisserie :**

Tout d'abord pour comprendre la pâtisserie, les premières pâtisseries dateraient de l'Antiquité sous forme de galettes et d'offrandes faites à base de miel, de dattes, et d'épice.

Au 18<sup>ème</sup> siècle, la pâtisserie était au service de la royauté et du goût. Cette époque voit l'apparition de la crème chantilly et de la meringue.

Le 19<sup>ème</sup> siècle, est quant à lui représentatif d'une pâtisserie esthétique dite « ornementale », Antonin carême est l'un des premiers pâtisseries réellement reconnu pour la maîtrise de cet art.

A partir du 20<sup>ème</sup> siècle, le talent français à commencer à réellement se différencier des gâteaux anglais : la pâtisserie n'est plus seulement un agrément des salons de thé, mais l'art des entremets et des plaisirs individuels qui se démocratise. Gaston Lenôtre est le premier vrai pâtissier, il présente un style unique, une signature et est plébiscité par les restaurants et les consommateurs [4].

1972 /1973 : Utilisation de la surgélation en viennoiserie.

1980 : Emergence des chaîne de croissanterie / viennoiserie.

1995 : Développement de la pâte pré-fermentée, surgelée.

2001 : Développement de pâtisserie crues prêtes à cuire.

### **I-2 / Définition de la pâtisserie :**

La pâtisserie est une discipline majeure de l'art culinaire, cet art qui repose sur la préparation, l'élaboration et la fabrication.

C'est un aliment plaisir qui vient après le nécessaire. La pâtisserie désigne à la fois certaines préparation culinaire sucrées ou salée à base de pâte préparée et cuite au four, l'art de leur confection et la boutique où se vendent ces préparation faites par un pâtisseries [5].

Les ingrédients les plus courants en pâtisserie sont le sucre, l'œuf (de poule), dont le blanc et le jaune sont souvent séparés afin de profiter de leurs propriétés radicalement différentes, la farine, la matière grasse, au gré des productions locales: le beurre, la margarine

et l'huile. Il est à noter que c'est la méthode de travail et le dosage entre ces différents produits qui feront les différentes pâtes de pâtisserie connues. Il est donc très important de bien respecter les doses [6].

### I-3 / Les types de pâtisseries :

- ✓ Artisanale.
- ✓ Industrielle : cuit emballé, cuit surgelé, cru surgelé, préparation en sachet.
- ✓ Industries de distributions.
- ✓ Industriels surgelés.



**Figure 01** : exemple de pâtisseries [6].

## II / Les risques sanitaires en pâtisseries :

### II-1 / Risques microbiens :

Les risques microbiens existent pour les pâtisseries à base de crème chantilly, crème pâtissière, crème au beurre et crème ganache, ainsi que pour les glaces. Ces produits présentent en effet un milieu favorable pour le développement de diverses bactéries qui peuvent être dangereuses pour la santé humaine (Souches entérotoxiques d'*Escherichia coli*, *Salmonella*, et *Staphylococcus aureus*).

Les tartes et les mousses aux fruits, quant à elles, peuvent être contaminés par les levures, les moisissures et la flore lactique. Si ces micro-organismes altèrent les aliments aux niveaux visuel et gustatif, ils ne sont généralement pas responsables de maladies graves chez

l'homme. Par contre, le risque microbien est faible pour les produits peu riches en eau tels que les biscuits, les meringues et les petits fours sucrés ou salés [7].

## II-2 / Présence de corps étrangers :

Il faut veiller à éviter la présence de corps étrangers dans les produits de pâtisserie, tels que les résidus d'emballage, etc.

\* Les risques sanitaires ont été répartis en trois catégories: contamination, multiplication et survie.

Contamination: cette rubrique englobe la contamination initiale (présence de micro-organismes dans les matières premières et produits livrés) ainsi que la contamination secondaire (apport de micro-organismes au cours du stockage, de la fabrication, des manipulations, etc.).

Multiplication: il s'agit de l'augmentation du nombre de micro-organismes présents dans le produit, suite à une rupture de la chaîne du froid ou à un refroidissement mal conduit.

Survie: ce phénomène résulte d'une cuisson insuffisante, c'est-à-dire d'un non-respect des critères du couple temps/température nécessaire pour garantir l'assainissement d'un produit [7].

## III / Effets des micro-organismes sur la pâtisserie :

Les microorganismes peuvent altérer la qualité des aliments et conduire à leur détérioration, les pâtisseries peuvent aussi servir de véhicule pour la transmission de maladies.

### III-1 / Altération des aliments :

Les pâtisseries qui sont des produits consommés par l'homme sont susceptibles d'être altérés par des agents contaminants (bactéries, moisissures). Ces agents se développent alors en dégradant leurs composants, ce qui se traduit par l'altération plus ou moins prononcée de leur qualité : le goût, en texture, l'odeur, l'aspect, la couleur, en la qualité marchande du produit [8].

Les aliments altérés ne sont pas forcément insalubres, mais ils sont souvent considérés comme désagréables et ne sont ni achetés ni consommés [9].

En fonction de l'altération, les aliments peuvent être classés en deux catégories majeures :

- ✓ Aliment périssables: comprenant la plupart des produits frais.
- ✓ Aliment non périssables: stables, tels que le farine, la noix, les noisettes, les amandes et le sucre. Donc les pâtisseries sont des aliments non périssables [9].

### III-2 / Les maladies transmises par les pâtisseries :

Il y a deux grands types de maladies: les infections alimentaires et les intoxications alimentaires, toutes ces maladies sont liées à une mauvaise hygiène.

#### III-2-1 / L'infection alimentaire :

Les infections alimentaires sont des maladies d'origine alimentaire qui surviennent lors de l'ingestion d'aliments ou de boissons contaminées par des microorganismes pathogènes (bactéries, virus, parasites), suivie d'une multiplication dans l'hôte, accompagnée par une invasion tissulaire et /ou la libération de toxines qui causent par la suite des troubles [10].

#### III-2-2 / L'intoxication alimentaire :

Les intoxications alimentaires résultent de l'ingestion d'aliments contaminés par des germes qui prolifèrent dans l'aliment et/ou dans le tube digestif du consommateur. Ces germes peuvent être pathogènes ou reconnus normalement non pathogènes [8].

- L'intoxication alimentaire :

Les intoxications alimentaires sont provoquées par l'ingestion de toxines secrétées dans l'aliment par des germes de contamination. Par exemple toxine botulinique, entérotoxine Staphylococcique, mycotoxine

Les symptômes de la maladie sont seulement dus à la toxine et sans lien avec leur bactérie productrice qui généralement est absente [8].

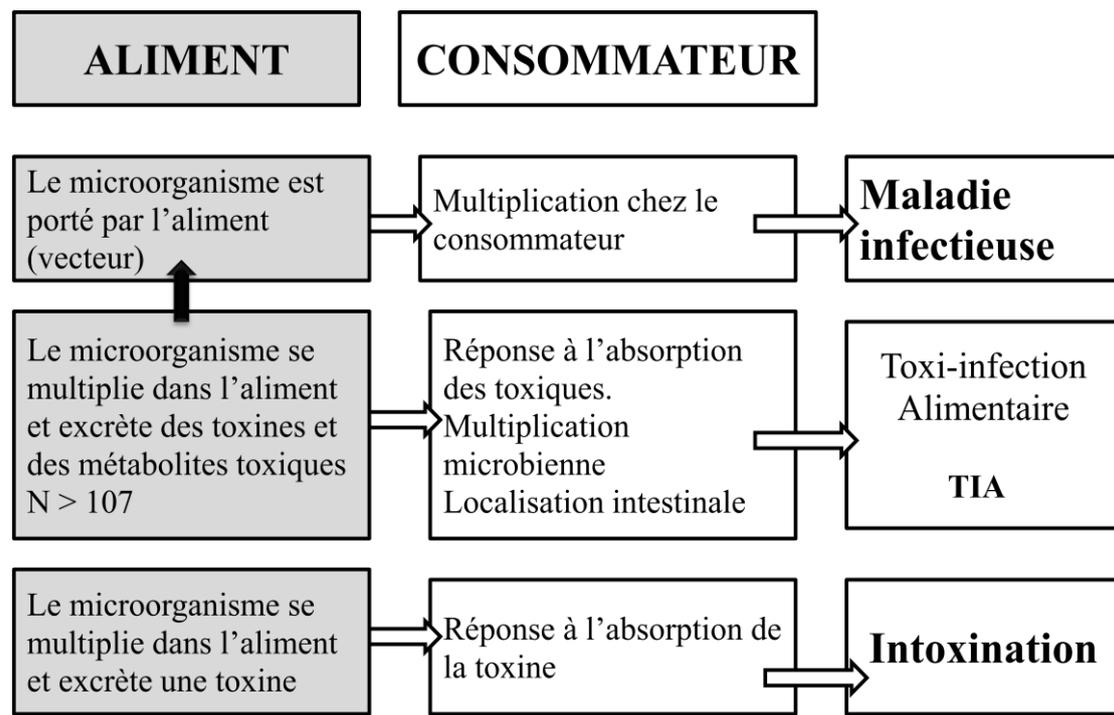
- Les toxi-infections alimentaires collectives (T.I.A.C) :

Une toxi-infection alimentaire (T.I.A) est une maladie, souvent infectieuse et accidentelle causé par l'ingestion d'aliments contaminés par certains agents infectieux ou par leurs toxines.

Une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) est une maladie infectieuse à déclaration obligatoire (MDO) qui a lieu lorsqu'il existe « au moins deux cas groupés, avec des manifestations similaires dues à une contamination par un micro-organisme (bactéries en général) ou une toxine. ». Les plus grandes toxi-infections alimentaires collectives sont des « crises alimentaires ».

Les agents infectieux les plus souvent en cause sont les bactéries (*Salmonella*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Camphylobacter*) et certains virus comme les rotavirus [11].

**Schéma 01:** Principales interactions entre aliment, microorganisme, consommateur [12].



#### **IV/ Les facteurs de développement des bactéries dans la pâtisserie :**

La croissance des microorganismes est contrôlée par des facteurs intrinsèques ou associés à l'aliment, et par d'autres extrinsèques liées à l'environnement où l'aliment est stocké.

##### IV-1 / Les facteurs intrinsèques :

###### IV-1-1/ La composition de l'aliment :

La composition de l'aliment est un facteur intrinsèque crucial qui influence la croissance microbienne. Si les pâtisseries contiennent beaucoup de glucides, leur détérioration ne produira pas beaucoup d'odeur. Par contre s'ils contiennent de grande quantité de protéine et /ou de graisses (par exemple, le beurre) leur détérioration peut s'accompagner de toute une variété d'odeurs infectes. Cette dégradation anaérobie des protéines donne des composés aminés nauséabonds et s'appelle putréfaction. La dégradation des graisses ruine tout autant la nourriture, la production à partir des lipides, d'acides gras à chaînes courtes rend le beurre rance et désagréable [10].

###### IV-1-2/ Le pH :

Le pH est un facteur critique et très important, car à un pH faible le développement des levures et des moisissures est favorisé. À un pH neutre ou alcalin, ce sont les bactéries qui prédominent au cours du processus de détérioration et de putréfaction [13].

###### IV-1-3/ Activité de l'eau ( $A_w$ ) :

La présence et la disponibilité de l'eau ont un effet sur la capacité des microorganismes à se multiplier. Plus l'eau est disponible, plus il sera facile de coloniser un aliment, en limite cette eau disponible par séchage, lyophilisation, déshydratation des aliments pour éviter ou contrôler leur détérioration. Il y a aussi d'autres façons de rendre l'eau moins disponible, il s'agit d'ajouter des solutés comme du sel ou du sucre [10,13]. La diminution de l' $A_w$  est utile pour la protection des produits de la pâtisserie. En dehors du développement bactérien et plus généralement des micro-organismes,  $A_w$  est un facteur important dans la conservation des denrées alimentaires. Elle influence la stabilité des couleurs, du goût, des arômes, l'aspect, etc. [14].

#### IV-2 / Les facteurs extrinsèques :

##### IV-2-1/ La température et l'humidité relative :

La température et l'humidité relative sont des facteurs extrinsèques importants pour déterminer la détérioration d'un aliment. Dans une humidité relative élevée, la croissance bactérienne commence plus rapidement, même à basse température. Quand des aliments secs sont placés dans les endroits humides, ils absorbent l'eau condensée à leur surface ce qui permet une croissance microbienne [10].

##### IV-2-2/ L'atmosphère :

L'atmosphère, dans laquelle la pâtisserie est conservée, est également importante ainsi que l'atmosphère où elle est stockée [10].

### **V/ L'influence de la flore microbienne des pâtisseries sur la santé du consommateur:**

Les principaux agents pathogènes recherchés lors du contrôle bactériologique des pâtisseries sont: la flore totale aérobie mésophile (FTAM), les Coliformes totaux et thermotolérants, le *Staphylococcus aureus*, les spores des *Clostridium* sulfito-réducteurs, et les *Salmonelles*. Ces germes permettent de mesurer la pollution microbienne des pâtisseries.

#### V-1 / La flore totale aérobie mésophile (FTAM) :

La flore aérobie mésophile (aussi appelée flore totale) représente l'ensemble des microorganismes se développant en présence d'oxygène à une température optimale de 30°C (multiplication active de 10°C à 45°C) [15].

Cette microflore peut comprendre des microorganismes pathogènes pour l'homme et l'animal mais aussi des microorganismes d'altération variés. On considère que, en général, il y a risque pour la santé du consommateur que si la flore totale mésophile aérobie est supérieure ou égale à  $10^5$  microorganismes / g, et peut aussi être considérée comme flore d'altération car la présence d'une FTAM revivifiable abondante indique un processus de dégradation en cours. Il n'y a cependant pas de relation étroite entre le nombre totale des microorganismes et le temps d'apparition de l'altération perceptible des caractéristiques organoleptiques de l'aliment.

En principe, une FTAM dépassant  $10^5$  à  $10^8$  microorganismes /g provoque une détérioration visible du produit.

La FTAM est un indicateur microbiologique qui permet d'évaluer la charge bactérienne globale présente dans un aliment ou sur une surface (micro-organismes tests d'hygiène) [16].

V-2/ Les Coliformes :

V-2-1/ Les Coliformes totaux (CT) :

Les coliformes totaux sont des germes ubiquitaire qui existe fréquemment dans l'environnement (Sol, végétaux) ainsi que dans l'intestin de l'homme et des animaux.

Ce groupe bactérien correspond aux espèces de la famille des *Enterobacteriaceae*. Les coliformes totaux se caractérisent par leur aptitude à fermenter le glucose en produisant des acides et du gaz ( $\text{CO}_2$ ) en 48h à une température de  $35^\circ\text{C}$ - $37^\circ\text{C}$  et en présence de selle biliaire au d'autre agent de surface [17,14].

Ce sont des bacilles Gram négatif, oxydase négatif, non sporulés. Ils possèdent un métabolisme respiratoire ou fermentaire (aérobie ou anaérobie facultatif), ils réduisent les nitrates en nitrites en anaérobiose [14].

Les principaux genres inclus dans le groupe sont : *Echerichia*, *Citrobacter*, *Entérobacter*, *Klébsiella*, *Yersinia*, *Serratia*, *Rahnella*, et *Buttiauxella* (RODIER *et al*, 1996 ; JOLY et REYNAUD ,2003). La presque totalité des espèces sont non pathogènes et ne représentent pas de risque direct pour la santé (Edberg *et al*, 2000; OMS, 2000), à l'exception de certaines souches d'*Escherichia coli* ainsi que de rares bactéries pathogènes opportunistes.

Les Coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de qualité microbienne des aliments parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale mais leur présence dans l'aliment n'implique pas nécessairement un risque pour la santé publique [18].

L'analyse des coliformes totaux est un indicateur permettant d'apprécier l'état d'hygiène [14].

### V-2-2/ Les Coliformes thermotolérants (CTT) :

Les coliformes thermotolérants ou fécaux, sont un sous-groupe des coliformes totaux. Ils font partie de la famille des entérobactéries vivant notamment dans l'intestin des humains et des animaux, Leur température optimale de développement est de 44°C contrairement à ceux de l'environnement.

Ils sont utilisés comme un indicateur de contamination fécale d'origine humaine ou animale. L'espèce le plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* [19].

Leur présence dans l'aliment sous-entend qu'il y a eu non respect des règles d'hygiènes et peut en conséquence signifier la présence de bactéries intestinales responsables de toxi-infection [14].

#### ❖ *Escherichia coli* :

*Escherichia coli* appelée également colibacille, c'est une bactérie de la famille des *enterobacteriaceae*, Gram négatif, mobile, ne possède pas de désaminase, fermente le glucose par la voie des acides mixtes et le lactose, a une particularité de transformé le tryptophane en indole du fait d'une activité tryptophanase, ne produit pas H<sub>2</sub>S, uréase négative, incapable d'assimiler le citrate comme seule source de carbone en aérobiose. Il représente l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie.

*Escherichia coli* est un coliforme fécal généralement commensal intestinal cependant certaines souches pathogènes dont la souche entérohémorragique (*O157:H7*) qui est particulièrement dangereuse [14].

Ce germe se développe facilement dans les aliments et leur présence témoigne d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent.

On considère que leur présence rend les aliments impropres à l'utilisation ou à la consommation [14].

❖ *Escherichia coli O157:H7* :

*Escherichia coli O157:H7* est le sérotype prédominant d'*E. Coli* qui forme le groupe d'*Escherichia coli* entéro-hémorragique (ECEH), celle-ci est responsable d'une diarrhée sanglante due à des vérotoxines qui est une entérotoxine voisine à la toxine Shiga qu'elle sécrète quand elle infecte l'intestin grêle lors de l'ingestion d'un aliment contaminé, cet sérotype cause des maladies infectieuses d'origine alimentaire [9].



**Figure 02:** *Escherichia coli* coloré au microscope électrique à balayage (MEB) agrandissement (x8600) [20].

V-3 / Les *Clostridium* sulfito-réducteurs :

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont des bacilles à Gram positif (de taille environ 0,3-1,9 x 2-10µm), isolés ou en chainettes, non capsulés (à l'exception de *Clostridium perfringens*), sporulés ; la spore est de grand taille, elle est parfois plus grande que la bactérie, la plupart sont mobiles (flagelles péritriches), ils sont mésophiles et acceptent des variations assez importantes de pH et de températures ; quelques espèces sont thermophiles. Elles sont anaérobies stricts, à une catalase négatif et ne possèdent pas de superoxyde dismutase, ce qui explique leur intolérance à l'oxygène aussi bien pour la survie que pour la multiplication, l'oxygène est toxique à cause de la formation d' $H_2O_2$  [14, 21, 22].

Les spores de *Clostridium* sont extrêmement résistantes, notamment à la température : la spore de *C.botulinum* résiste jusqu'à 5 h à 100°C et 15 min à 120°C.

Du point de vue métabolique, les clostridies sont protéolytiques, et glucohydrolitiques. Certaines souches produisent des toxines.

Ce sont des bactéries qui cultivent en anaérobiose en réduisant les sulfites ( $\text{SO}_3^{2-}$ ) en sulfures ( $\text{S}^{2-}$ ) à 44°C. Cette réaction est mise en évidence par la formation de sulfure de fer dans un milieu contenant du sulfite de sodium et un sel de fer [22].

Ils sont très répandus dans la nature, en particulier, dans le sol et dans les intestins de l'homme et autres animaux, ils contaminent de nombreux produits : lait, eau, viande, aliments fermentés ou congelés et, surtout, conserves alimentaires. Ils ont un grand pouvoir de dégradation vis-à-vis des sucres et des protéines, libérant de l'acide butyrique ou de l' $\text{H}_2\text{S}$ . Leur présence dans l'aliment est un témoin d'une contamination fécale ou tellurique.

Quelques espèces sont pathogènes, responsables de gastro-entérite (*C. perfringens*) ou de graves intoxications souvent mortelles (*C. botulinum*, *C.tetani*), et les clostridies de la gangrène gazeuse, mais aussi altèrent la qualité des aliments (forte activité protéolytique) [14,21].

#### V-4 / *Staphylococcus aureus* :

*Staphylococcus aureus* ou *Staphylococcus* doré, est un germe ubiquitaire. Il est commensal de la peau et des muqueuses de nombreux mammifères, y compris l'homme. On le trouve surtout dans les fosses nasales et le pharynx (20 à 50 % des individus), dans le tube digestif. Il se trouve aussi comme saprophyte dans l'environnement. La transmission peut survenir d'homme à homme, d'animal à homme mais aussi par des objets contaminés, la poussière, les vêtements, les aliments, etc.

*S. aureus* est une coque Gram positif, de 0,8 à 1 µm de diamètre, disposé en amas, en diplocoque, en courte chaînette, voire en grappe de raisin [23], immobile, asporulé, non capsulé. Les colonies souvent hémolytiques ont un pigment jaune orangé [12].

*S. aureus* se multiplie facilement en aérobiose qu'en anaérobiose [17], halophile (fortes concentrations de NaCl), mésophile (Température optimale de croissance : 37°C), neutrophile (pH optimale de croissance 7). Il tolère une activité de l'eau basse, jusqu'à 0,83.

Le germe présente une forte résistance aux agents désinfectants et antiseptiques. Il est également sensible aux radiations ionisantes [14].

*S. aureus* possède les caractéristiques du genre *Staphylococcus* : il possède une catalase (qui va décomposer l'eau oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), oxydase négatif, réduisent les nitrates et sont capables de fermentation du glucose. Mais *S. aureus* possède bien d'autres caractéristiques biochimiques, propres à l'espèce, notamment :

- Présence d'une coagulase libre et liée ou staphylocoagulase, phosphatase alcaline, hyaluronidase, fibrinolysine, lipase, protéolysines.
- protéine A.
- thermonucléase ou DNase thermostable.
- dégrade le mannitol sur la gélose Chapman, VP positif [24,14].

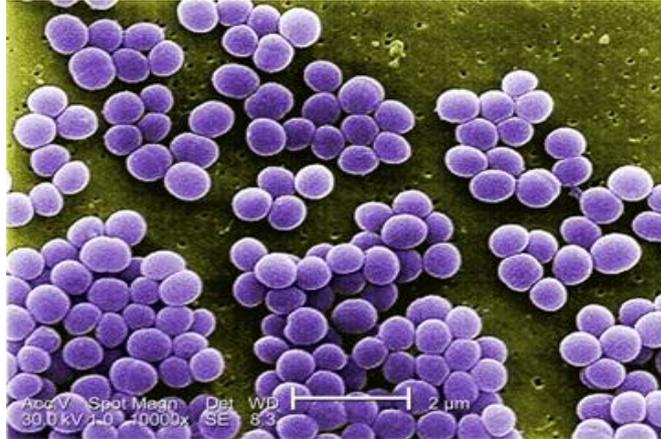
La bactérie est un pathogène opportuniste, son pouvoir pathogène résulte de plusieurs sécrétions particulières : des enzymes ( Coagulase, fibrinolysine ou staphylokinase, hyaluronidase, nucléase,), qui lui confèrent son pouvoir invasif, et des toxines ( Entérotoxines, leucocidines, exfoliative hémolysine) qui lui confèrent son pouvoir toxique [14, 25].

#### V-4-1/ L' intoxication alimentaires Staphylococcique :

Les intoxications alimentaires à *S. aureus* sont dues à une entérotoxine (Stable à la chaleur et à l'acidité) produite dans l'aliment ingéré tel que la pâtisserie à la crème, dessert, mayonnaise, etc. La toxine est responsable de troubles importants de la digestion. Ceux-ci se manifestant en six heures après ingestion de la nourriture incriminée contenant la toxine par de violents vomissements accompagnés le plus généralement par des nausées, diarrhées. Mais l'intoxication à *S. aureus* n'est en général pas mortelle pour un individu en bonne santé par contre elle provoque un problème grave pour les individus affaiblis par d'autres problèmes de santé. Elle guérit presque spontanément dans les 24 heures suivant l'apparition des symptômes.

L'apparition d'une intoxication à *S. aureus* suppose deux conditions :

- ✓ L'aliment contaminé doit être approprié pour la croissance et la production de toxine de la bactérie.
- ✓ L'aliment doit rester à une température qui permet la croissance de la bactérie [26].



**Figure 03** : Micrographie électronique à balayage (MEB) montre une souche de la bactérie *Staphylococcus aureus* sous un grossissement (x10000) [27].

#### V-5 / *Salmonella* :

Les Salmonelles sont des entérobactéries, pour la plupart pathogènes pour l'homme, agents de nombreuses infections comme les fièvres typhoïde et paratyphoïdes, des gastro-entérites (Salmonellose) et de toxi-infections alimentaires parfois collectives, ces maladies sont à déclaration obligatoire [14].

Les Salmonelles sont des bacilles Gram négatif, mobiles à l'aide des ciliatures péritriches, aéro-anaérobies facultatifs, catalase positif, oxydase négative, nitrate réductase positif, capable de fermenter le glucose par fermentation alcoolique mais incapable de fermenter le lactose ou de produire de l'uréase, ne possède pas la bêta-galactosidase, H<sub>2</sub>S positif ou négatif, lysine décarboxylase négative, indole négatif [14,21].

Les Salmonelles sont mésophile mais sont capables de divisions actives entre 5°C et 45°C. Elles sont détruites par la pasteurisation; la surgélation ne permet pas de les éliminer. Globalement sont sensible au pH acide, leur pH optimal de multiplication est de 6,5 à 7,5. en plus ils sont résistent à la dessiccation, leur survie a été rapportée dans des produits à A<sub>w</sub> très faible (0,35), sensibles au NaCl (5,5 %) [14, 17].

Le réservoir naturel est constitué par le tube digestif des espèces contaminées : les mammifères, l'homme, volailles, etc. les Salmonelles survivent plusieurs semaines dans un milieu sec et plusieurs mois dans un milieu humide et le maintien des aliments à T° ambiante est un facteur important qui favorise le développement des Salmonelles [14].

La contamination humaine survient à partir de trois sources majeurs : l'eau, les aliments et notamment les viandes et dérivés, les œufs et leur dérivés (crème pâtissière, crèmes glacées, mayonnaise), les porteurs sains, qui contaminent par manque d'hygiène des surfaces et des aliments [14].

Dans le genre *Salmonella*, plus de 2000 sérotypes sont actuellement décrits, tous présumés pathogènes pour l'homme. Quatre de ces sérotypes, correspondant aux espèces *S.typhi*, *S. paratyphi* A, B et C sont à l'origine de maladies infectieuses appelées fièvres typhoïde et paratyphoïdes [12].

Les TIAC à *Salmonella* se distinguent par une période d'incubation relativement courte (12 à 18h), avec apparition des signes d'une gastroentérite banale qui dure spontanément 2 à 5 jours. Les complications sont rares, sauf chez les sujets fragiles.



**Figure 04** : *Salmonella typhimurium*, en rouge, sur une culture de cellules humaines [28].

**Tableau 01** : Description des principaux germes responsables des TIAC : [11]

	<b>Origine</b>	<b>Conditions nécessaires au développement</b>	<b>Fréquence</b>	<b>Aliments concernés</b>	<b>Mode de contamination</b>	<b>Seuil d'infection</b>
<b>Salmonelles</b>	Volailles, œufs, homme (porteur sain ou atteint de troubles digestifs)	5 à 45 °C, mésophile ; aérobic.	45 %	Volailles, œufs et Plats les comportant, viandes ; poissons ; produits manipulés	Mains, mauvaise hygiène du matériel	<10 germes/g d'aliment
<b>Staphylocoque doré</b>	Homme (porteur sain ou plaie infectée et diarrhée ou bronchite)	6,5 à 45,5 °C; mésophile, aérobic	16 %	Produits manipulés, œufs ou lait et plats les comportant, charcuteries	Mains, air, mauvaise hygiène du matériel, insectes	100 000 germes/g d'aliment
<b><i>Clostridium perfringens</i></b>	Terre <i>via</i> les végétaux	15 à 50 °C; thermophile, anaérobic	12 %	Sauces, plats en sauce, soupes	Mains, légumes mal lavés	100 000 germes/g d'aliment
<b><i>Listéria monocytogènes</i></b>	Végétaux	> 2 °C, psychophile, aérobic	7 %	Charcuteries, viandes, légumes, fromages	Mains, légumes mal lavés, mauvaise hygiène du matériel, notamment les chambres froides	+/- 100 000 germes/g d'aliment
<b><i>Clostridium botulinum</i></b>	Terre <i>via</i> les végétaux	14 à 37 °C, mésophile, anaérobic	0.1 %	Charcuteries, viandes (surtout sous vide), conserve, plats cuisinés, poissons	Boîtes de conserve abîmées, également dans d'autres aliments	

## **VI / La maîtrise de l'hygiène dans le secteur de la pâtisserie :**

L'hygiène est l'ensemble des précautions qui vise à limiter et/ou éviter les contaminations. Certains aliments possèdent à l'état naturel, une protection mécanique contre les contaminations extérieures (Coquilles des œufs).il faut donc veiller à ne pas abimer ces enveloppes protectrices qui évitent les contaminations. Quand cette enveloppe est absente, on utilise une enveloppe protectrice artificielle telle que les plastiques alimentaires ou l'aluminium.

Il y a plusieurs Paramètres conditionnant la qualité d'une pâtisserie :

### **VI-1 / La matière première :**

La qualité de la matière première conditionne celle du produit fini et donc elle doit faire l'objet d'une surveillance attentive afin de la protéger contre toute contamination par :

les insectes, L'eau polluée, et par toute autre source pouvant constituer un risque pour la santé du consommateur.

Les équipements, le matériel et les locaux nécessaires à la production, préparation, transport ou stockage des matières premières doivent être utilisés de manière à éviter toute constitution de foyer de contamination. Ils doivent se prêter à un nettoyage complet et satisfaisant.

#### VI-2 / Le personnel :

Les pâtisseries sont les premiers acteurs de l'hygiène dans cette entreprise, et jouent un rôle important dans la qualité microbiologique du produit fini, ce rôle peut être néfaste par un transfert de germe déjà présents par un contact manuel, les vêtements et chaussures, les cheveux, les mouvements d'air.

Par rapport de germes nouveaux, présentant des incidences sanitaires (Staphylocoques, germes fécaux.)

Indirectement le pâtissier peut permettre la prolifération des microorganismes par des erreurs de manipulation et de nettoyage. Il est important, que le personnel en contact avec la pâtisserie ait reçu une sensibilisation vis-à-vis des problèmes d'hygiène alimentaire.

Il est impératif pour le pâtissier d'avoir une tenue adéquate (Vêtements pouvant être désinfectés).

- ✓ Laver les mains avec du savon antiseptique et de l'eau avant de commencer la préparation des gâteaux.
- ✓ Limiter le contact avec la peau grâce à des gants à usage unique.
- ✓ Tenir son matériel propre en évitant les gestes parasites (Exemple se gratter la tête), et en recouvrant les plaies après traitement par un pansement [29].

#### VI-3/ Les locaux :

Les locaux et leurs annexes, doivent être de dimensions suffisantes selon la nature de leur utilisation, matériels employés et personnel requis.

- ✓ Ne doivent pas communiquer directement avec les vestiaires.
- ✓ L'accès des animaux domestiques y est interdit.

Les locaux et leurs annexes doivent être aménagés de façon à permettre la séparation entre les sections de réception et d'emmagasiner des matières premières et celles de préparation et de conditionnement du produit fini.

- ✓ Doivent comporter pour le personnel des installations sanitaires comprenant lavabos pourvus d'eau courante chaude ou froide.
- ✓ Le balayage à sec des locaux est rigoureusement interdit.
- ✓ Les recoins où peuvent se loger les résidus alimentaires et qui peuvent favoriser l'apparition de biofilms, doivent être évités dans les outils et dans la conception des locaux [29].

#### VI-4 / Les appareils :

Le matériel et ustensile susceptibles d'être mis en contact avec les pâtisseries doivent répondre aux caractéristiques suivantes

- ✓ Présenter un aspect et une forme adéquate de façon à faciliter leur nettoyage.
- ✓ Les surfaces en contact avec les pâtisseries doivent être parfaitement lisses et résister aux opérations répétées d'entretien et de nettoyage. Par conséquent, pour éviter toute contamination et détérioration des appareils deux règles essentielles doivent être respectées :
  - Salir le moins possible pour éviter le développement des microorganismes et risque de corrosion [30].
  - Nettoyer et désinfecter fréquemment.

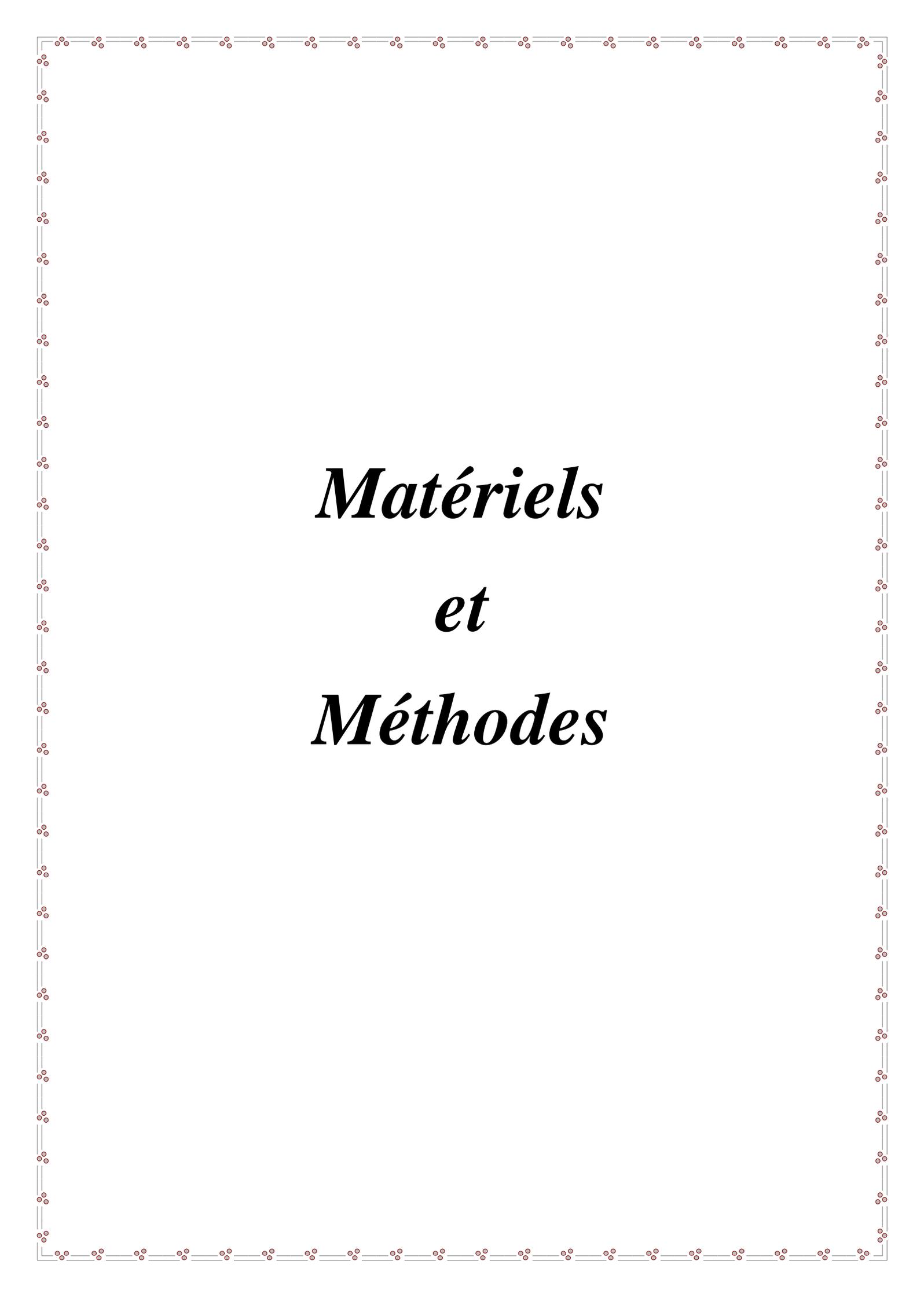
#### VI-5 / Nettoyage et désinfection des locaux et des appareils :

**Nettoyage** : opération qui a pour but de rendre propres les surfaces en débarrassant leurs souillures

**Désinfection** : opération qui a pour but la destruction des microorganismes nuisibles, contaminant les surfaces. Ces deux opérations s'effectuent par des moyens physiques et chimiques [31].

#### VI-6 / Conservation :

Il faut les respecter la chaîne du froid.



***Matériels***  
***et***  
***Méthodes***

L'étude pratique a été effectuée au sein du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Constantine. Elle s'est déroulée au service de microbiologie alimentaire et a duré trois mois (Mars à Mai 2014) et ont été prélevés les résultats statistiques de l'année 2013. Le travail consistait en la détermination de la qualité bactériologique des pâtisseries de différents endroits de Constantine et de ces environs, c'est à dire l'évaluation de leur charge en : flore totale aérobie mésophile (FTAM), coliformes totaux et thermotolérants (fécaux), *Staphylococcus aureus*, les spores de *Clostridium sulfito- réducteurs* et *Salmonella*.

## **I / Matériels :**

### **I-1/ Matériels**

- Bec-bunsen.
- Bain marie.
- Balance électronique.
- Broyeur de type stomacher.
- Etuves à différentes températures (30 °C, 37 °C, 44 °C).

### **I-2/ Milieux de culture et réactifs :**

- Agar mannitol mobilité.
- Agar citrate de Simmons.
- Bouillon sélénite de sodium.
- Eau physiologique stérile.
- Eau peptonée exempte d'indole.
- Eau peptonée tomponée.
- Gélose TSI (Triple Sugar Iron).
- Gélose VF + Alun de fer et Sulfite de sodium.
- Milieu Chapman.
- Milieu Hektoen.
- Milieu de Giolitti et Cantoni.
- Milieu TGEA.
- Milieu urée indole.
- Milieu BLBVB.
- Plasma de lapin lyophilisé.
- Réactifs de Kovacs.

## II / Méthodologie :

### II-1/ Echantillonnage et prélèvement :

L'étude concerne 24 échantillons de pâtisseries représentés dans le tableau 02 provenant de diverses pâtisseries de Constantine et de ses environs qui ont été prélevés par des techniciens du Service d'Epidémiologie et de Médecine Préventive (SEMEP) ou ceux du Bureau Communal d'Hygiène (BHC).

Chaque échantillon est composé de cinq unités (selon les normes du journal officiel algérien numéro 35 du 27 Mai 1998), qui sont acheminé directement au laboratoire dans une glacière munie d'accumulateur de froid.

**Tableau 02:** Les échantillons de pâtisserie analysés.

N° Echa.	Type de pâtisserie.	N° Echa.	Type de pâtisserie.
1	Gâteaux à la crème	13	Gâteaux aux fraises
2	Milles feuilles	14	Génoise
3	Tartelettes au citron	15	Milles feuilles
4	Génoise vanille	16	Pavés cacao
5	Génoise chocolat	17	Castel
6	Génoise vanille	18	Castel citron
7	Milles feuilles	19	Génoise
8	Choux rond	20	Génoise aux fruits
9	Choux ovale	21	Tartelettes aux fraises
10	Génoise citron	22	Pavés aux chocolats
11	Milles feuilles	23	Pavés à la crème chantilly
12	Milles feuilles	24	Tartelette à la crème

## II-2/ Prise d'essai:

La prise d'essai destinée à la préparation de la suspension mère porte sur les parties superficielles et profondes des gâteaux tout en prélevant un peu de tous les ingrédients qui la composent (génoise, la crème, les fruits, la gelée, etc.) [32].

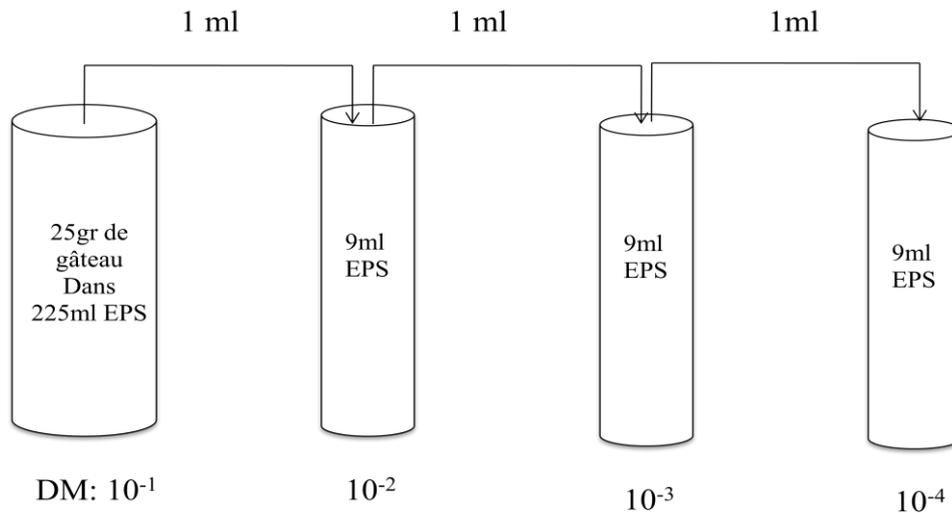
Les pâtisseries étant des produits solides, elles feront donc l'objet de dilutions décimales. Au préalable il est nécessaire de procéder à leur homogénéisation à l'aide d'un broyeur homogénéisateur de type « stomacher ».

Peser 25gr de pâtisserie puis les introduire aseptiquement dans un sachet stérile de type Stomacher contenant au préalable 225 ml de diluant EPS (Eau physiologique stérile), broyer et homogénéiser dans un broyeur de type « Stomacher » pendant 1 à 2 minutes. Cette suspension constitue alors la dilution mère (DM) qui correspond donc à la dilution 1/10 ou  $10^{-1}$ .

### ***Préparation des dilutions décimales :***

- Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile 1 ml de la DM, dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml d'EPS : cette dilution correspondra à 1/100 ou  $10^{-2}$ .
- Introduire par la suite à l'aide d'une nouvelle pipette en verre graduée stérile 1 ml de la dilution  $10^{-2}$  dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du même diluant : cette dilution sera alors de 1/1000 ou  $10^{-3}$ .
- Enfin, introduire à l'aide d'une nouvelle pipette en verre graduée stérile 1 ml de la dilution  $10^{-3}$  dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du diluant : cette dilution sera de 1/10000 ou  $10^{-4}$ .

Ces dilutions serviront à la recherche des : germes aérobies mésophiles totaux (FTAM), coliformes totaux et fécaux, *staphylococcus aureus* et *Clostridium* sulfito-réducteur.



**Schéma 02:** préparation des dilutions.

### II-3/ Analyses bactériologiques :

#### ***II-3-1/ Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (FTAM):***

A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-2}$  à  $10^{-4}$ , porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage et numérotée, compléter ensuite avec environ 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à  $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose. Laisser solidifier sur la paillasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose. Cette double couche a un rôle protecteur contre les diverses contaminations superficielles.

Préparer de la même manière deux boîtes témoins l'une contenant 1 ml du diluant (EPS) en plus de la gélose et l'autre ne contenant que la gélose. Ces deux boîtes servent à tester la gélose et le diluant en cas de contamination.

Les boîtes seront incubées couvercle en bas à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 72 h [33].

#### ***II-3-2/ Recherche et dénombrement des coliformes en milieu liquide (CT):***

Les coliformes sont dénombrés en milieu liquide par la technique du NPP (Nombre le Plus Probable) à du bouillon BLBVB (bouillon lactosé bilié au vert brillant) réparti à raison de 10 ml par tubes munis d'une cloche de Durham.

Elle fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- Le test de présomption : réservé à la recherche des *coliformes totaux*.
- Le test de confirmation : appelé encore test de Mac Kenzie et réservé pour la recherche des Coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

Test de présomption :

Préparer dans un portoir une série de neuf tubes contenant le milieu sélectif (BLBVB) à raison de trois tubes par dilution.

A partir des dilutions décimales  $10^{-2}$  à  $10^{-4}$ , porter aseptiquement 1 ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée, chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h.

Test de confirmation ou test de Mac Kenzie :

Les tubes de BLBVB trouvés positifs lors du dénombrement des Coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'un ose bouclée dans à la fois :

- Un tube de BLBVB muni d'une cloche.
- Un tube d'eau peptonée exempte d'indole (E.P.E.I).

Chasser le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.

L'incubation se fait cette fois-ci au bain Marie à 44°C pendant 24 h [25].

***II-3-3/ Recherche de Staphylocoque aureus :***

Selon la disponibilité des milieux de culture, deux techniques différentes sont recommandées pour la recherche de *Staphylococcus aureus* à savoir :

- Méthode d'enrichissement sur milieu de Giolliti et Cantoni.
- Méthode d'isolement sur milieu Chapman.

### Préparation du milieu d'enrichissement :

Au moment de l'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon contenant le milieu de Giolliti et cantoni pour y ajouter 15 ml d'une solution de Téliurite de Potassium. Mélanger soigneusement. Le milieu est alors prêt à l'emploi.

A partir des dilutions décimales retenues, porter aseptiquement 1 ml par dilution dans un tube à vis stérile, ajouter par la suite environ 15 ml du milieu d'enrichissement. Mélanger bien le milieu et l'inoculum.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h.

Après l'incubation, les tubes ayant virés au noir seront présumés positifs. Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *Staphylococcus aureus*, ces tubes feront l'objet d'une confirmation par isolement sur gélose Chapman préalablement fondue, coulée en boîte de pétri et bien séchées.

Les boîtes de Chapmanensemencées en surface à l'aide d'un râteau fabriqué à partir d'une pipette pasteur et incubés y a leur tour à 37°C pendant 24 à 48 h [25].

### Test confirmatif :

0,5 ml de suspension bactérienne sont prélever et mis dans un tube à hémolyse, on y ajoute 0,5 ml de plasma de lapin. L'incubation se fait à 37°C pendant 1 à 2 h [34].

### **II-3-4/ Recherche des spores de *Clostridium sulfito-réducteurs (CSR) :***

La recherche des spores du *Clostridium* fait appel à la méthode de culture sur gélose Viande-foie à 37°C. Au moment de l'emploi faire fondre un flacon de gélose viande foie, le refroidir dans un bain d'eau à 45°C puis ajouter une ampoule d'alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium, mélanger soigneusement et aseptiquement. Le milieu est ainsi prêt à l'emploi, mais il faut le maintenir dans une étuve à 45°C jusqu'au moment de l'utilisation. L'ensemencement est réalisé sur les tubes contenant les dilutions  $10^{-2}$  à  $10^{-4}$ , ces tubes seront soumis d'abord à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 min dans un bain marie, dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées. Cette étape de chauffage permet de préparer les spores à la germination. On appelle cette étape l'activation. Cette dernière est suivie d'un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet.

A partir de ces dilutions, porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans des tubes à vis stériles, puis ajouter environ 15 ml de gélose viande foie prête à l'emploi, dans chaque tube. Rendre ensuite l'ensemble homogène par un mouvement rotatoire vertical sans faire de bulles et laisser solidifier sur paillasse pendant 30 min.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h [25].

### ***II-3-5/ Recherche de Salmonella :***

La recherche des *Salmonella* nécessite une prise d'essai à part.

#### 1<sup>er</sup> jour : Pré-enrichissement.

Prélever 25 gr de pâtisserie dans 1 sachet stérile de type Stomacher contenant 225 ml d'eau peptonée tamponnée, broyer cette suspension dans un broyeur de type Stomacher, la transposer dans un flacon stérile qu'on incube à 37°C pendant 18 h.

#### 2<sup>ém</sup> jour : Enrichissement.

L'enrichissement s'effectue sur le milieu sélectif de Sélénite de sodium réparti à raison de 5 ml de DM par tube.

Le tube de Sélénite de sodium sera incubé à 37°C, 24h.

#### 3<sup>ém</sup> jour : Isolement.

Chaque tube positif présentant un trouble fera l'objet d'un isolement sur le milieu Hektoenensemencé par des stries à l'aide d'une pipette pasteur. Les boîtes ainsi ensemencées et incubées à 37°C pendant 24 h [25].

### Identification morphologique et biochimique :

#### 1. Identification morphologique :

##### Examen à l'état frais :

L'examen à l'état frais permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de regroupement, de leur mobilité éventuelle et de la quantité approximative de bactéries.

Technique :

- Déposer tout d'abord sur la lame une goutte d'eau physiologique stérile, puis apporter et dissocier dans l'eau un inoculum bactérien à l'aide d'une anse de platine.
- Recouvrir d'une lamelle, puis luter la préparation avec de la paraffine ou de la vaseline.
- Observer au microscope optique à l'objectif x 40. Pour mettre en évidence certains détails de structure, la mobilité éventuelle [34].

Coloration de Gram :

L'examen du frottis coloré au Gram permet d'observer les éventuelles bactéries présentes, les différencier en Gram + et Gram – selon leur morphologie et leur affinité tinctoriale et d'apprécier aussi leur abondance, leur regroupement, leur homogénéité ou hétérogénéité morphologique.

- Préparation de frottis : prélever une quantité infime de cette colonie, puis étaler cette quantité sur une lame contenant une goutte d'eau distillée stérile et sécher par passage rapide sur la flamme du bec Bunsen. L'étalement doit être aussi mince que possible.
- Recouvrir totalement la lame avec le violet de Gentiane soigneusement filtré et laisser agir une minute.
- Eliminer l'excès du violet de Gentiane par la solution de lugol, recouvrir la lame avec le lugol et laisser agir pendant 30 secondes.
- Décolorer à l'alcool-acétone durant 10 s ou le faire couler rapidement sur le frottis en position inclinée, jusqu'à le mélange s'écoule non teinté.
- Rincer abondamment à l'eau de robinet ou à l'eau distillée.
- Recouvrir la lame d'eau et verser quelques gouttes de fuchsine à chaque extrémité du frottis. On peut préparer, juste avant l'emploi, une dilution de fuchsine au 1/10 et verser le colorant ainsi diluer sur la lame et laisser agir une min.
- Rincer à l'eau puis sécher la lame avec du papier absorbant.
- Déposer une goutte d'huile de paraffine sur le frottis, et observer au microscope à l'objectif x 100 à immersion.

## 2. Identification biochimique :

### ➤ **Le test de l'oxydase :**

Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram -, et il met en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé.

Les colonies suspectes subiront le test de l'oxydase (OX) qui consiste à placer un disque sur une lame puis prélever et écraser à l'aide d'une effilure de pipette Pasteur la colonie suspecte sur le disque à (OX) auquel on ajoute une goutte d'eau distillée.

S'il y a apparition d'une tache violette au bout de 30 secondes, la bactérie est oxydase+ et elle possède le phénylène diamine oxydase. Et rien n'apparaît, cela signifie que la bactérie est oxydase- et qu'elle ne possède pas l'enzyme respiratoire (phénylène diamine oxydase) [34].

### ➤ **Ensemencement d'une galerie biochimique :**

On prépare une suspension bactérienne pour effectuer une série de tests biochimiques qui sont les suivants :

#### Le milieu mannitol mobilité :

Ce milieu permet de rechercher simultanément la mobilité, et l'utilisation du mannitol. L'ensemencement du milieu s'est fait par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une anse de platine et incubé pendant 24h à 37 °C.

#### L'utilisation du Citrate :

Certaines entérobactéries sont capables d'assimiler le citrate comme seule source de Carbone et d'énergie et la recherche de cette propriété se fait avec le milieu gélosé incliné de Simmons. Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone; le citrate. Les bactéries possédant l'enzyme citratase sont capables de se développer sur ce milieu. La bactérie qui utilise le citrate, alcalinise le milieu, ce qui fait virer le bleu de bromothymol du vert au bleu en milieu basique.

La pente du milieu est ensemencée avec une strie sur toute la surface. Incubation à 37°C, pendant 24 h.

### Milieu TSI (Triple Sugar Iron)

Ce milieu de culture, proposé par Hajna (1945), est principalement utilisé pour la Caractérisation biochimique des entérobactéries. C'est un milieu différentiel par la capacité à mettre en évidence les fermentations du : glucose, lactose et/ou saccharose, ainsi que la production d'hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S) et de gaz. Le rouge de phénol est l'indicateur colorant virant du rouge au jaune pour un résultat positif.

Ce milieu est réparti en tube à essai sous forme semi-inclinée avec un culot et une petite pente. Il est ensemencé par piqure centrale du culot et par stries sur la pente.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24h.

### Milieu urée- indole :

Ce milieu permet d'étudier simultanément la dégradation de l'urée et la production d'indole. Ce milieu liquide est réparti en tube à hémolyse et il est ensemencé à partir d'une culture sur gélose Hektoen. Incuber à 37°C pendant 24h. Après incubation l'alcalinisation du milieu qui vire au rouge traduit la présence d'une uréase. L'indole est recherché par l'addition de quelques gouttes de réactif de Kovacs qui se traduit par un anneau rouge en surface de milieu.

### Test RM-VP (Rouge de méthyle et voges-proskauer) :

Ce milieu permet de rechercher la fermentation des acides mixtes et la fermentation butanediolique. Pour réaliser ce test, nous avons utilisé le milieu Clarck et Lubs et nous l'avons ensemencé à l'aide d'une anse de platine avec la souche bactérienne à analyser. Après avoir incubé à 37°C pendant 48 nous avons partagé le milieu en deux tubes pour pratiquer les deux tests :

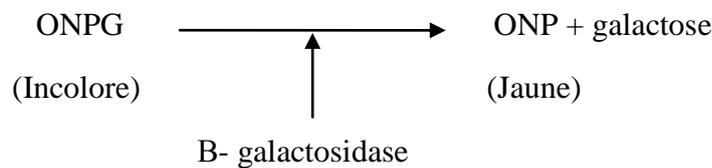
- Réaction de Voges-Proskauer en ajoutant quelques gouttes du réactif VP1 et le même volume du réactif VP2. La lecture s'effectue après quelques minutes.
- Test du rouge de méthyle en additionnant 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle. La lecture est immédiate.

### Le test à l'ONPG (Orthonitrophenyl β-D Galactopyranoside) :

Le but de ce test est d'étudier l'existence d'une galactosidase chez le germe, donc la possibilité de la fermentation effective du lactose.

- Dans un tube à essai mettre 0,25ml d'eau physiologique.
- Emulsionner une anse pleine de germe de la souche à étudier.
- Ajouter une goutte de toluène.
- Agiter.
- Placer au bain- marie à 37°C (2 à 3 min).
- Ajouter un disque ONPG.
- Remettre au bain marie à 37°C pendant 30 min [23].

L'hydrolyse de l'ONPG par une B-galactosidase libère du galactose et de l'orthonitrophénol (ONP) de couleur jaune selon cette réaction :



#### Recherche des décarboxylases des acides diamines (ODC, LDC) et dihydrolases ADH :

Ces trois tests ont été réalisés sur les tubes des bouillons LDC, ODC et ADH appelés milieux de Moeller Falkow.

- Le premier tube contient de la lysine, pour la mise en évidence de la LDC.
- Le deuxième tube contient de l'ornithine, pour la mise en évidence de l'ODC.
- Le troisième tube contient de l'arginine, pour la mise en évidence de l'ADH.
- Le dernier tube étant le tube témoin ne contiendra aucun acide aminé.

Nous avons préparé ensuite une suspension bactérienne en eau physiologique de la souche à étudier ensuite nous avons ensemencé chaque milieu avec 2 à 3 gouttes de cette suspension et nous avons ajouté l'huile de la paraffine pour assurer l'anaérobiose.

A la fin, les trois tubes et le tube de témoin ont été incubés à 37°C pendant 18 h à 24 h.

**III / Méthode d'interprétation :**

Les résultats des analyses bactériologiques sont interprétés à partir des critères microbiologiques fixés par des normes Algériennes. Ces critères d'appréciation sont définis par l'arrêté ministériel du 27 Mai 1998 publié sur le journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire N°35. Ils sont consignés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 03:** Les critères microbiologique des pâtisseries et des crèmes pâtissières

produit	n	c	m	M
FTAM à 30	5	2	$9.10^5$	$3.10^6$
CT	5	2	$10^3$	$3.10^3$
CTT	5	2	$10^2$	$3.10^2$
<i>S. aureus</i>	5	2	$3.10^2$	$10^3$
CSR à 46°C	5	2	30	$10^2$
Salmonelles	5	0	abs	

L'interprétation des résultats se fait selon deux plans, celui à trois classes ou celui à deux classes.

**III-1/ Plan a trois classes :**

Ce plan, illustré par la figure, est ainsi désigné parce que les résultats des examens interprétés sur cette base permettent de fixer trois classes de contamination à savoir :

- Celle inférieure ou égale à « m » ;
- Celle comprise entre le critère « m » et le seuil « M » ;
- Celle supérieure au seuil « M »

Les critères qualitatifs « m » et « M », expriment le nombre de germes dans un gramme (g) ou un millilitre (ml) d'aliment.

**m :** Seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante. Tous les résultats égaux ou inférieures à ce critère sont considérés comme satisfaisants ;

**M :** Seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisant, sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique ;

**c** : nombre d'unités d'échantillons donnant des valeurs comprises entre **m** et **M**.

**n** : étant le nombre d'unités par échantillon.

✓ **La qualité du lot est considérée comme satisfaisante ou acceptable si :**

a) Les valeurs observées sont :

< **m** lors de l'emploi de milieu solide : **Qualité satisfaisante**

b) Les valeurs observées sont :

Entre **m** et **M**

Et **c/n** inférieur ou égal au rapport fixé,  $c/n \leq 2/5$

(Avec le plan  $n=5$  et  $c=2$ )

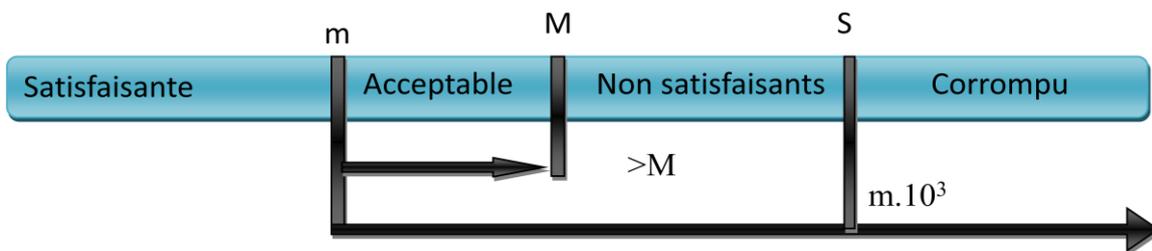
} **Qualité acceptable**

✓ **Les résultats sont considérés comme non satisfaisants :**

a) Lorsque **c/n** est supérieur au rapport fixé ( $c/n > 2/5$ ) ;

b) Dans tous les cas où les résultats obtenus sont supérieurs à **M**.

Toutefois, le produit doit être considéré comme toxique ou corrompu lorsque le niveau de contamination atteint une valeur limite « **S** » qui est fixé dans le cas général à : **S = m.10<sup>3</sup>**. Dans le cas des *S. aureus*, la valeur « **S** » ne doit jamais excéder  $5.10^4$  germes/g.

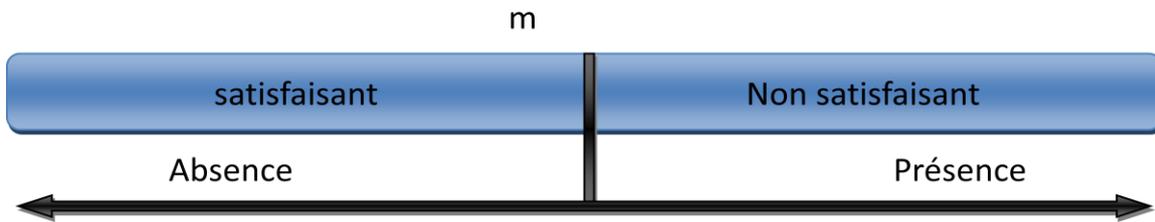


**Schéma 03:** Plan à trois classes.

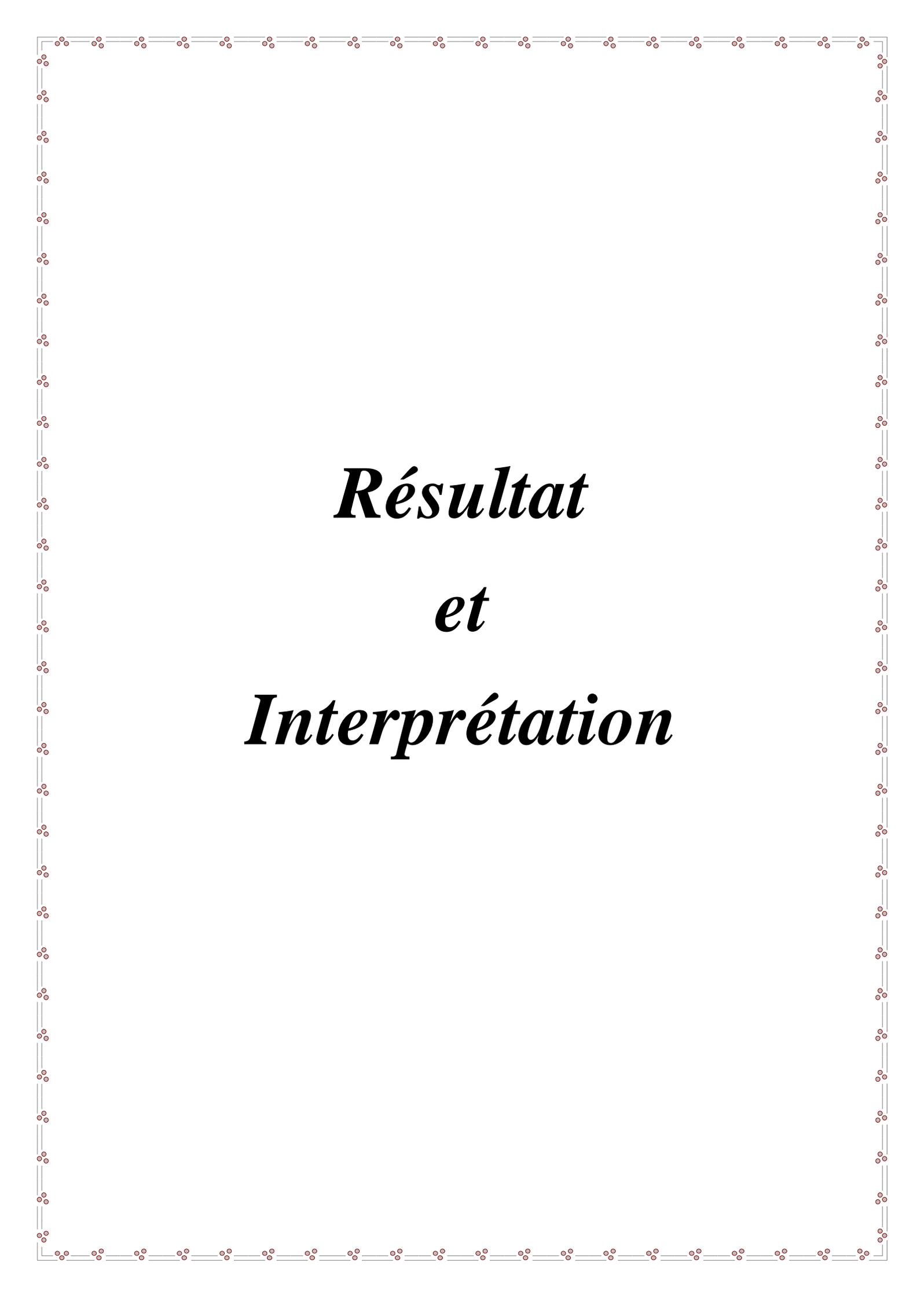
### III-2/ Plan à deux classes:

Ce plan est ainsi car les résultats des examens interprétés sur cette base permettent de déterminer deux classes de contamination. Ce type de plan qui n'accepte aucune tolérance, ne correspond souvent aux expressions :

- « Absence dans » : le résultat est considéré comme satisfaisant ;
- « Présence dans » : le résultat est considéré comme non satisfaisant ; dans ce cas, le produit est déclaré impropre à la consommation.



**Schéma 04:** Plan à deux classes.



*Résultat*  
*et*  
*Interprétation*

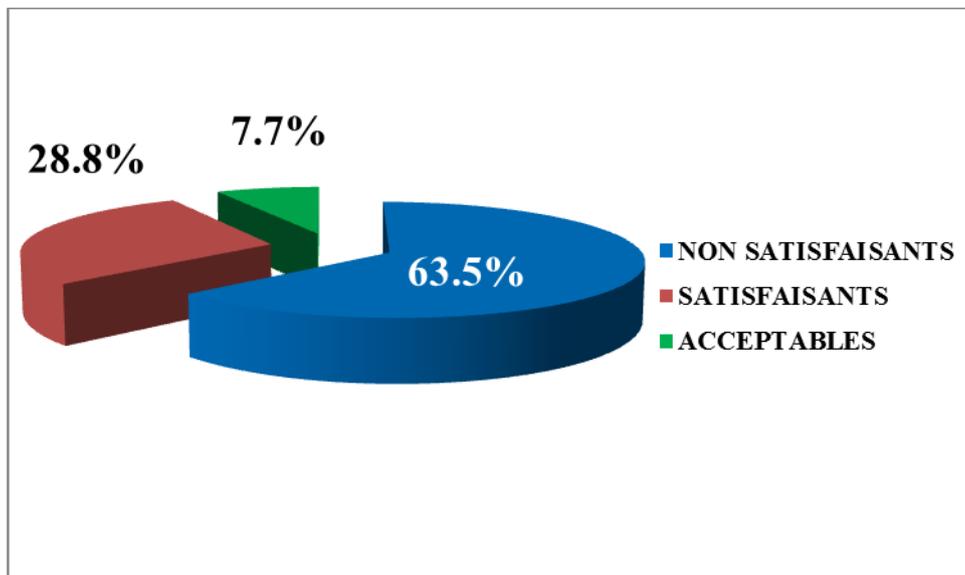
**I / Résultat des analyses microbiologiques :**

I-1/ Présentation des résultats :

I-1-1/ Qualité bactériologique des pâtisseries « Année 2013 » :

**Tableau 04:** Qualité bactériologique des pâtisseries de l'année 2013:

52 échantillons De pâtisseries	Satisfaisants		Acceptables		Non satisfaisants	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
	15	28,8	04	7,7	33	63,5



**Figure 05 :** Distribution de la qualité bactériologique des pâtisseries en 2013.

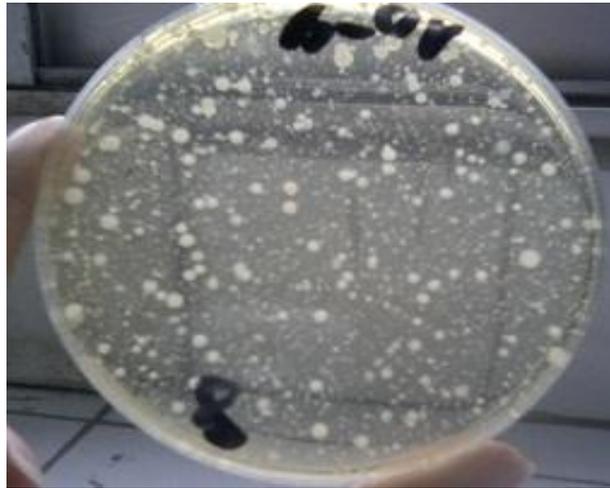
I-1-2 / Qualité bactériologique des pâtisseries au cours de l'année 2014 :

I-1-2-1 / Appréciation du niveau de contamination en fonction des germes :

➤ **Flore Totale Aéroophile Mésophile à 30°C :**

L'aspect des colonies de la FTAM obtenues sur les boîtes de Pétri sont les suivants : forme (ronde, lenticulaire en masse), taille (moyenne, petite), et de couleur blanchâtre crémeuse. (Figure 06)

Le dénombrement de cette flore a été réalisée par comptage du nombre de colonies pour chacune des boites d'une dilution donnée puis, en faisant la moyenne du nombre obtenu. Le résultat est ensuite multiplié par l'inverse de la dilution. Seules les boites comportant un nombre compris entre 30 et 300 colonies ont été prises en considération.



**Figure 06:** Colonies de la FTAM sur gélose PCA .(Ech N°22)

Les résultats du dénombrement et interprétation de la présence de la FTAM sont résumé dans le tableau (05).

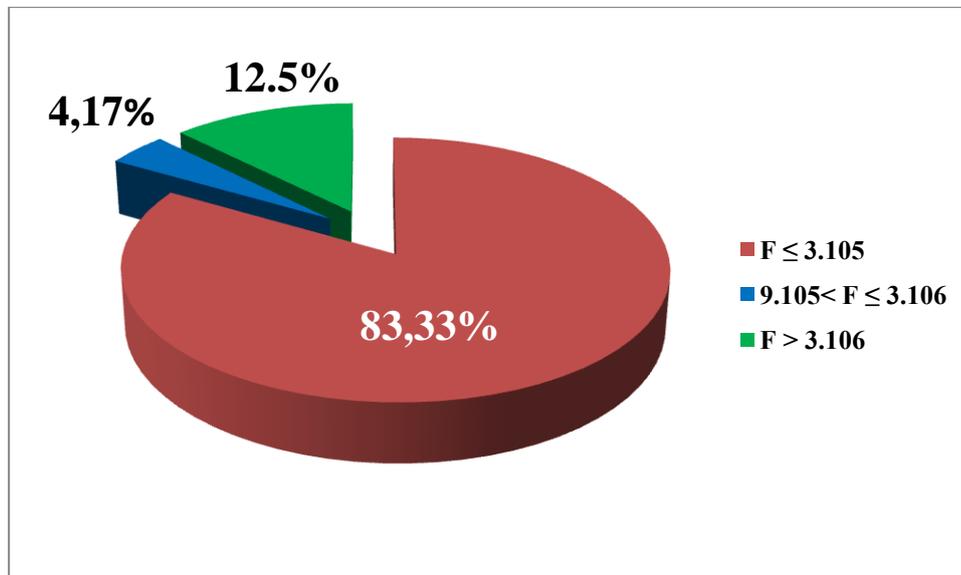
Tableau 05 : Résultat du dénombrement et interprétation de la présence de la FTAM en 2014 :

Germe recherché		FTAM (Germe/g) [9.10 <sup>5</sup> -3.10 <sup>6</sup> ]	Interprétation		Germe recherché		FTAM (Germe/g) [9.10 <sup>5</sup> -3.10 <sup>6</sup> ]	Interprétation		Germe recherché		FTAM (Germe/g) [9.10 <sup>5</sup> -3.10 <sup>6</sup> ]	Interprétation		
Ech	uni				Ech	uni				Ech	uni				Ech
1	1	9.10 <sup>5</sup>	S	A	9	1	1,8.10 <sup>3</sup>	S	S	17	1	2.10 <sup>3</sup>	S	S	
	2	1,6.10 <sup>5</sup>	S			2	5.10 <sup>3</sup>	S			2	2.10 <sup>3</sup>	S		
	3	1,6.10 <sup>6</sup>	A			3	1,6.10 <sup>3</sup>	S			3	10 <sup>3</sup>	S		
	4	1,6.10 <sup>5</sup>	S			4	1,8.10 <sup>3</sup>	S			4	1,5.10 <sup>3</sup>	S		
	5	1,6.10 <sup>6</sup>	A			5	1,6.10 <sup>3</sup>	S			5	2.10 <sup>3</sup>	S		
2	1	4.10 <sup>4</sup>	S	S	10	1	1,6.10 <sup>3</sup>	S	S	18	1	10 <sup>3</sup>	S	S	
	2	5,5.10 <sup>4</sup>	S			2	1,2.10 <sup>3</sup>	S			2	1,5.10 <sup>3</sup>	S		
	3	6.10 <sup>4</sup>	S			3	1,8.10 <sup>3</sup>	S			3	10 <sup>3</sup>	S		
	4	6.10 <sup>4</sup>	S			4	1,6.10 <sup>3</sup>	S			4	10 <sup>3</sup>	S		
	5	4.10 <sup>4</sup>	S			5	1,2.10 <sup>3</sup>	S			5	2.10 <sup>3</sup>	S		
3	1	2.10 <sup>5</sup>	S	S	11	1	3.10 <sup>2</sup>	S	S	19	1	2.10 <sup>4</sup>	S	S	
	2	3.10 <sup>5</sup>	S			2	4.10 <sup>2</sup>	S			2	6.10 <sup>4</sup>	S		
	3	2.10 <sup>5</sup>	S			3	3.10 <sup>2</sup>	S			3	4.10 <sup>4</sup>	S		
	4	3.10 <sup>5</sup>	S			4	4.10 <sup>2</sup>	S			4	6.10 <sup>4</sup>	S		
	5	2.10 <sup>5</sup>	S			5	3.10 <sup>2</sup>	S			5	2.10 <sup>4</sup>	S		
4	1	3.10 <sup>4</sup>	S	S	12	1	7.10 <sup>2</sup>	S	S	20	1	8.10 <sup>3</sup>	S	S	
	2	4.10 <sup>4</sup>	S			2	9.10 <sup>2</sup>	S			2	10 <sup>4</sup>	S		
	3	1,6.10 <sup>4</sup>	S			3	6.10 <sup>2</sup>	S			3	3.10 <sup>3</sup>	S		
	4	3.10 <sup>4</sup>	S			4	7.10 <sup>2</sup>	S			4	8,4.10 <sup>3</sup>	S		
	5	2.10 <sup>4</sup>	S			5	9.10 <sup>2</sup>	S			5	9,2.10 <sup>3</sup>	S		
5	1	5.10 <sup>3</sup>	S	S	13	1	4.10 <sup>6</sup>	NS	NS	21	1	6.10 <sup>3</sup>	S	S	
	2	1,2.10 <sup>3</sup>	S			2	4.10 <sup>6</sup>	NS			2	2,8.10 <sup>4</sup>	S		
	3	3.10 <sup>3</sup>	S			3	5.10 <sup>6</sup>	NS			3	5.10 <sup>4</sup>	S		
	4	10 <sup>4</sup>	S			4	4,5.10 <sup>6</sup>	NS			4	6,1.10 <sup>3</sup>	S		
	5	7.10 <sup>3</sup>	S			5	4,2.10 <sup>6</sup>	NS			5	3,1.10 <sup>4</sup>	S		
6	1	10 <sup>5</sup>	S	S	14	1	1,5.10 <sup>5</sup>	S	S	22	1	5,6.10 <sup>4</sup>	S	S	
	2	7.10 <sup>5</sup>	S			2	3.10 <sup>4</sup>	S			2	1,5.10 <sup>5</sup>	S		
	3	8.10 <sup>5</sup>	S			3	10 <sup>5</sup>	S			3	1,8.10 <sup>4</sup>	S		
	4	5.10 <sup>5</sup>	S			4	4.10 <sup>4</sup>	S			4	5.10 <sup>4</sup>	S		
	5	2.10 <sup>5</sup>	S			5	1,3.10 <sup>5</sup>	S			5	10 <sup>5</sup>	S		
7	1	10 <sup>4</sup>	S	S	15	1	4.10 <sup>2</sup>	S	S	23	1	3,3.10 <sup>6</sup>	NS	NS	
	2	4.10 <sup>3</sup>	S			2	9.10 <sup>2</sup>	S			2	3,6.10 <sup>6</sup>	NS		
	3	4.10 <sup>3</sup>	S			3	1,2.10 <sup>3</sup>	S			3	3,2.10 <sup>6</sup>	NS		
	4	2.10 <sup>3</sup>	S			4	7.10 <sup>3</sup>	S			4	3,5.10 <sup>6</sup>	NS		
	5	10 <sup>4</sup>	S			5	5.10 <sup>2</sup>	S			5	3,2.10 <sup>6</sup>	NS		
8	1	1,8.10 <sup>3</sup>	S	S	16	1	9.10 <sup>3</sup>	S	S	24	1	6,4.10 <sup>6</sup>	NS	NS	
	2	1,6.10 <sup>3</sup>	S			2	1,6.10 <sup>4</sup>	S			2	6.10 <sup>6</sup>	NS		
	3	3.10 <sup>3</sup>	S			3	3.10 <sup>4</sup>	S			3	6,8.10 <sup>6</sup>	NS		
	4	1,8.10 <sup>3</sup>	S			4	3.10 <sup>4</sup>	S			4	6.10 <sup>6</sup>	NS		
	5	3.10 <sup>3</sup>	S			5	2,6.10 <sup>4</sup>	S			5	6,7.10 <sup>6</sup>	NS		

La FTAM est présente dans tous les échantillons mais trois présentent des proportions supérieures aux critères bactériologiques. Les différents niveaux de contamination par ces germes sont indiqués dans le tableau 06.

**Tableau 06** : Niveaux de contamination par la FTAM à 30°C :

	Nombre	%
absence	00	00
$F \leq 9.10^5$	20	83,33
$9.10^5 < F \leq 3.10^6$	01	4,17
$F > 3.10^6$	03	12,5



**Figure 07** : Répartition des niveaux de contamination des pâtisseries par la FTAM en premier semestre de 2014.

➤ **Les coliformes totaux (CT) :**

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la Cloche du Durham) et un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune.(figure 08). Ces deux caractères étant témoins de la fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrites. La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table de Mac Grady qui se trouve en annexe 2.



(a)



(b)

Trouble et production de gaz  
Résultat (+)

**Figure 08:** Milieu BLBVB avant (a) et après ensemencement (b).

Les résultats de dénombrement et interprétation de la présence de Coliforme totaux sont indiqués dans les tableaux (07).

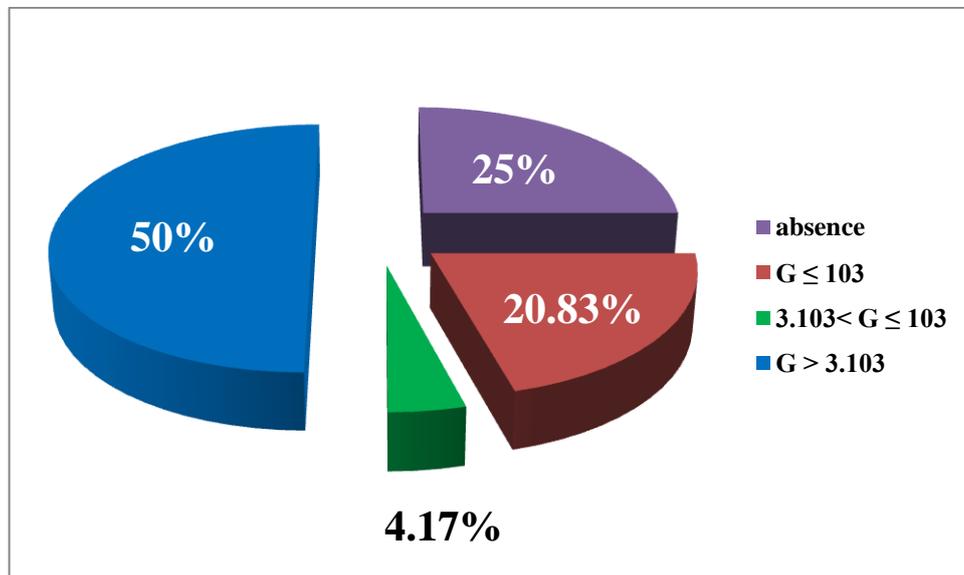
**Tableau 07:** Résultat du dénombrement et interprétation de la présence de Coliforme totaux en premier semestre de 2014 :

Germes recherché	Ech	CT (Germe/g) [10 <sup>3</sup> -3.10 <sup>3</sup> ]	Interprétation		Germes recherché	Ech	CT (Germe/g) [10 <sup>3</sup> -3.10 <sup>3</sup> ]	Interprétation		Germes recherché	Ech	CT (Germe/g) [10 <sup>3</sup> -3.10 <sup>3</sup> ]	Interprétation	
1	1	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	NS	9	1	6.10 <sup>2</sup>	S	S	17	1	00	S	S
	2	2.10 <sup>3</sup>	A			2	6.10 <sup>2</sup>	S			2	00	S	
	3	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			3	1,3.10 <sup>1</sup>	S			3	00	S	
	4	2.10 <sup>3</sup>	A			4	6.10 <sup>2</sup>	S			4	00	S	
	5	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			5	1,3.10 <sup>1</sup>	S			5	00	S	
2	1	00	S	S	10	1	2,5.10 <sup>2</sup>	S	S	18	1	60	S	S
	2	00	S			2	6.10 <sup>1</sup>	S			2	60	S	
	3	00	S			3	2,5.10 <sup>2</sup>	S			3	60	S	
	4	00	S			4	6.10 <sup>1</sup>	S			4	60	S	
	5	00	S			5	6.10 <sup>1</sup>	S			5	60	S	
3	1	7.10 <sup>3</sup>	NS	NS	11	1	00	S	S	19	1	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	NS
	2	7.10 <sup>3</sup>	NS			2	00	S			2	2,5.10 <sup>3</sup>	A	
	3	2,5.10 <sup>3</sup>	A			3	00	S			3	2,5.10 <sup>3</sup>	A	
	4	7.10 <sup>3</sup>	NS			4	00	S			4	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	
	5	2,5.10 <sup>3</sup>	A			5	00	S			5	2,5.10 <sup>3</sup>	A	
4	1	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	NS	12	1	00	S	S	20	1	2,5.10 <sup>2</sup>	S	NS
	2	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			2	00	S			2	2,5.10 <sup>2</sup>	S	
	3	7.10 <sup>3</sup>	NS			3	00	S			3	7.10 <sup>3</sup>	NS	
	4	7.10 <sup>3</sup>	NS			4	00	S			4	2,5.10 <sup>2</sup>	S	
	5	7.10 <sup>3</sup>	NS			5	00	S			5	7.10 <sup>3</sup>	NS	
5	1	2,5.10 <sup>3</sup>	A	A	13	1	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	NS	21	1	2,5.10 <sup>2</sup>	S	A
	2	6.10 <sup>2</sup>	S			2	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			2	6.10 <sup>2</sup>	S	
	3	6.10 <sup>2</sup>	S			3	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			3	2,5.10 <sup>3</sup>	A	
	4	6.10 <sup>2</sup>	S			4	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			4	2,5.10 <sup>2</sup>	S	
	5	6.10 <sup>2</sup>	S			5	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			5	6.10 <sup>2</sup>	S	
6	1	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	NS	14	1	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	NS	22	1	2,5.10 <sup>3</sup>	A	NS
	2	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			2	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			2	6.10 <sup>2</sup>	S	
	3	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			3	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			3	2,5.10 <sup>3</sup>	A	
	4	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			4	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			4	6.10 <sup>2</sup>	S	
	5	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			5	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			5	2,5.10 <sup>3</sup>	A	
7	1	00	S	S	15	1	00	S	S	23	1	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	NS
	2	00	S			2	00	S			2	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	
	3	00	S			3	00	S			3	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	
	4	00	S			4	00	S			4	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	
	5	00	S			5	00	S			5	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	
8	1	2,5.10 <sup>2</sup>	S	S	16	1	7.10 <sup>3</sup>	NS	NS	24	1	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	NS
	2	2,5.10 <sup>2</sup>	S			2	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			2	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	
	3	6.10 <sup>2</sup>	S			3	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			3	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	
	4	6.10 <sup>2</sup>	S			4	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			4	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	
	5	2,5.10 <sup>2</sup>	S			5	1,1.10 <sup>4</sup>	NS			5	1,1.10 <sup>4</sup>	NS	

Les coliformes totaux sont absents seulement dans six échantillons sur 24. Le tableau 08 récapitule les différentes classes de contaminations des pâtisseries par les CT.

**Tableau 08** : Niveaux de contamination par la CT à 30°C :

	Nombre	%
absence	6	25
$G \leq 10^3$	5	20.83
$3.10^3 < G \leq 10^3$	1	4.17
$G > 3.10^3$	12	50

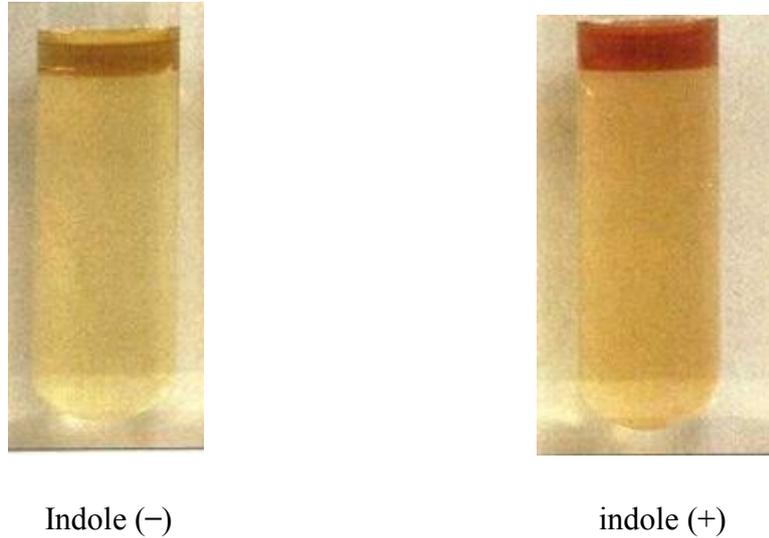


**Figure 09** : Répartition des niveaux de contamination des pâtisseries par les CT en premier semestre de 2014.

➤ **Les Coliforme thermotolérants ou fécaux :**

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois un dégagement gazeux et virage de couleur au jaune dans les tubes de BLBVB et un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par les CTT après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs dans le tube d'E.P.E.I. (Figure 10)

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de Mac Grady (annexe 2), en tenant compte du fait qu'*Escherichia coli* est à la fois producteur de gaz et d'indole à 44°C.



**Figure 10** : Test d'indole

Les résultats et interprétation de la présence de Coliformes thermotolérants à 44°C sont présentés dans le tableau (09)

**Tableau 09**: Résultat du dénombrement et interprétation de la présence de Coliformes thermotolérants à 44°C :

Germe recherché		CTT (Germe/g) [10 <sup>2</sup> - 3.10 <sup>2</sup> ]	Interprétation	
Ech	uni			
1 à 24	1	00	S	S
	2	00	S	
	3	00	S	
	4	00	S	
	5	00	S	

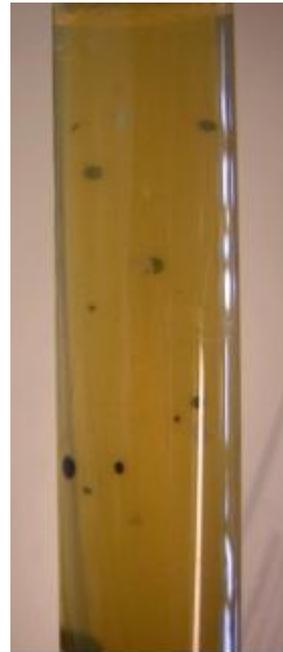
Les coliformes thermotolérants sont absents dans les 24 échantillons de pâtisseries analysées.

➤ **Les *Clostridium* sulfito-réducteurs :**

Après culture sur le milieu VF qui contient de l'amidon soluble facilitant la germination des spores, nous avons remarqué l'absence d'une colonie noire dans les tubes correspond aux cinq unités de l'échantillon. (Figure 11).



Exemple de résultat (-)



Exemple de résultat (+)

Colonies noires

**Figure 11:** Aspect des colonies de CSR sur gélose Viande-foie

Toutes les pâtisseries analysées sont satisfaisantes par rapport aux *Clostridium* sulfite-réducteurs. Les résultats sont indiqués dans le tableau 10 :

**Tableau10 :** Résultat du dénombrement et interprétation de la présence de CSR à 46°C :

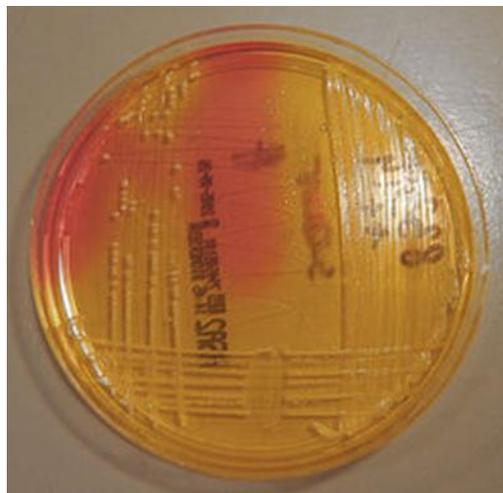
Germe recherché		CSR (Germe/g) [30 - 10 <sup>2</sup> ]	Interprétation	
Ech	uni			
1 à 24	1	00	S	S
	2	00	S	
	3	00	S	
	4	00	S	
	5	00	S	

➤ *Staphylococcus aureus* :

Le milieu Chapman est un milieu sélectif pour l'espèce *S. aureus*, qui contient une forte teneur en NaCl, ce qui va donc inhiber la croissance de nombreuses bactéries autres que les staphylocoques. Le virage de la couleur du milieu de rouge au jaune se traduit par la fermentation de mannitol avec libération de produits acides donc la bactérie est de mannitol (+).

*S. aureus* forment en aérobiose des colonies crémeuses, pigmentées (typiquement jaune), et opaque. (Figure 12).

*S. aureus* est capable d'excréter une enzyme provoquant la coagulation du plasma humain ou de lapin et appelée « coagulase ou staphylocoagulase ». La formation du coagulum ne nécessite pas la présence de calcium, mais à besoin d'une globuline voisine de la prothrombine (Coagulase-Reacting-Factor). Une agglutination est apparaitre après 3 à 6 h de temps se qui traduit un résultat positif et confirmera donc la présence de *S. aureus*, dans le cas négatif, le milieu reste liquide. (Figure 13)



**Figure 12** : Aspect de colonie de *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman



Milieu liquide : coagulase (-)



Agglutination du milieu: coagulase (+)

**Figure 13:** Test de coagulation (Plasma de lapin)

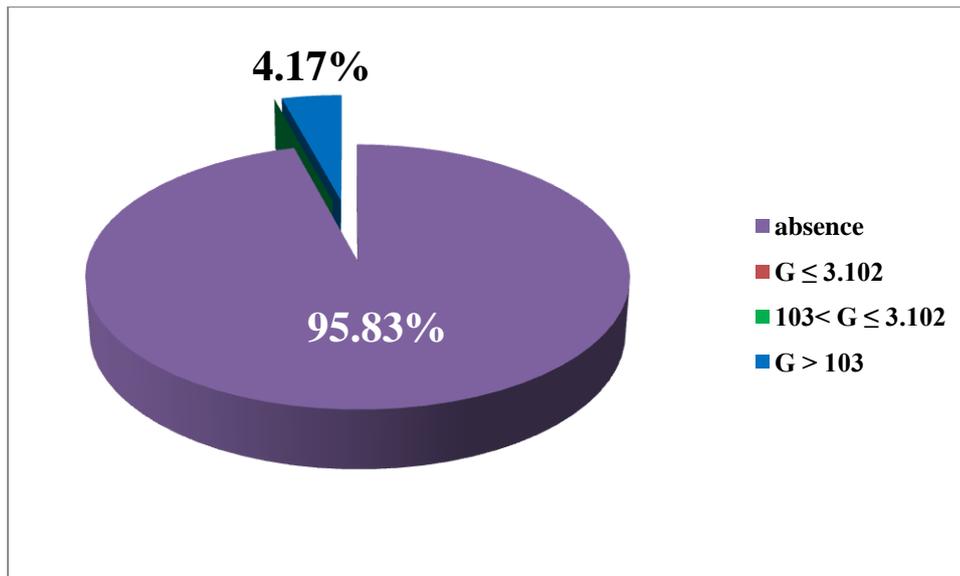
Les *Staphylococcus aureus* sont présents dans seulement un échantillon des pâtisseries parmi les 24. Les résultats sont indiqués dans les tableaux (11) :

**Tableau 11 :** Résultat du dénombrement et interprétation de la présence de *S. aureus*

Germe recherché		<i>S. aureus</i> (Germe/g) [ $3.10^2 - 10^3$ ]	Interprétation		Germe recherché		<i>S. aureus</i> (Germe/g) [ $3.10^2 - 10^3$ ]	Interprétation	
Ech	uni				Ech	uni			
De 1 à 22 et 24	1	00	S	S	23	1	00	S	NS
	2	00	S			2	$4.10^4$	NS	
	3	00	S			3	00	S	
	4	00	S			4	$10^4$	NS	
	5	00	S			5	$10^4$	NS	

**Tableau 12 :** Niveaux de contamination par la *S. aureus* :

	Nombre	%
absence	23	95.83
$G \leq 3.10^2$	00	00
$10^3 < G \leq 3.10^2$	00	00
$G > 10^3$	01	4.17



**Figure 14:** Répartition des niveaux de contamination des pâtisseries par les *S. aureus* en premier semestre de 2014.

➤ *Salmonella* :

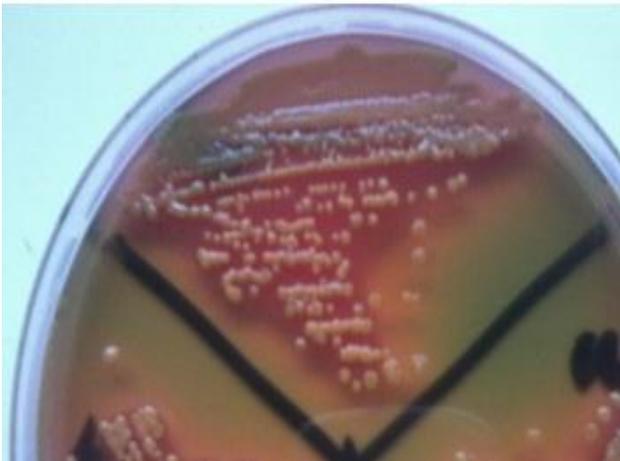
Etape d'enrichissement : Ne sont considérés comme résultat positif que les tubes ayant présentés un trouble microbien.

Etape d'isolement : La gélose Hektoen est un milieu d'isolement sélectif et de différenciation pour la recherche des *salmonella*. La couleur des colonies observées après incubation sur cette gélose est de jaune à jaune-saumon ce dernier est due à la fermentation d'au moins un sucre parmi les trois : le lactose, le saccharose et la salicine. Ces colonies sont caractéristique des coliformes. (Figure 15)

Un résultat positif se traduit par la formation des colonies bleu-vertes à centre noire sur gélose Hektoen. Le soufre peut être réduit par les salmonella en hydrogène de sulfure ( $H_2S$ ); ce dernier réagit avec le citrate de fer ammoniacal du milieu pour donner du sulfure de fer qui colore le centre des colonies en noire. (Figure 16)

Dans ce travail, les échantillons analysés donnés naissance à les deux cas.

L'unité 3 de l'échantillon 18 (en premier semestre de 2014.) donné des colonies vertes à centre noire, ces colonies sont caractéristiques de salmonella.



**Figure 15:** Aspect des colonies des coliformes sur gélose Hektoen



**Figure 16:** Colonies de *Salmonella enteritidis* sur gélose Hektoen

L'identification biochimique à partir de cinq colonies caractéristiques de *Salmonella* donné le résultat suivant :

**Tableau 13 :** Identification biochimique de *Salmonella enteritidis* [35].

tests	ox	Glu	Sacc	Lac	manitol	mobilité	indole	citrate	RM	VP	ONPG	LDC	ODC	ADH	uréase	Gaz	H <sub>2</sub> S
Résultat	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+



**Figure 17** : Aspect du milieu TSI (+)



**Figure 18** : Aspect du milieu mannitol  
mobilité (+)



**Figure 19**: Aspect du test d'indole (-)



**Figure 20**: Aspect du milieu Citrate de  
Simmons (+)



**Figure 21** : Aspect du test RM (+)



**Figure 22** : Aspect du test VP (-)



**Figure 23 :** Aspect du test ONPG (-)



**Figure 24:** Aspect du milieu LDC (+)



**Figure 25:** Aspect du test Uréase (-)

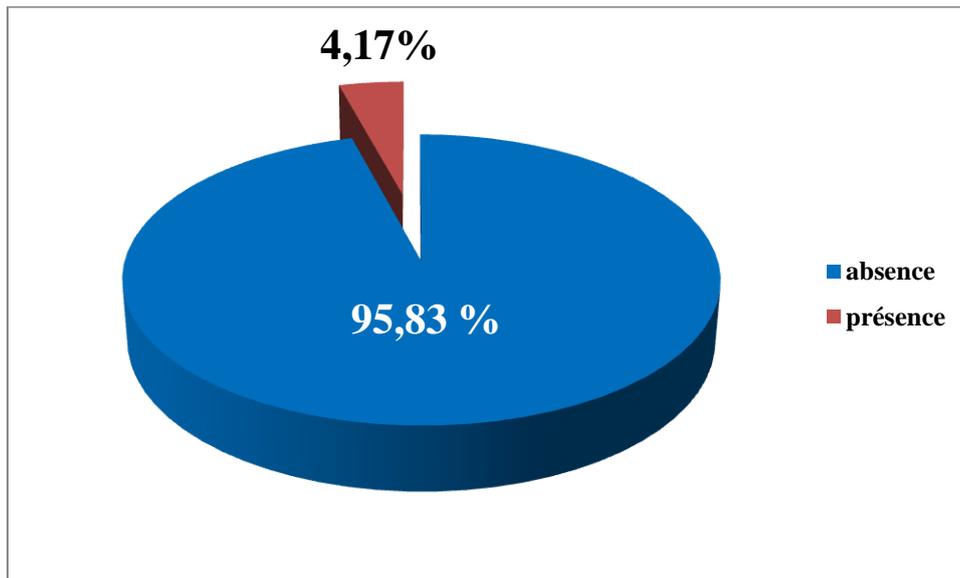
Tous les échantillons de pâtisseries sont satisfaisants par rapport à ce germe sauf un dans lequel est incriminé l'espèce: *Salmonella enteritidis*. Les résultats sont indiqués dans les tableaux ci-dessous :

**Tableau 14:** Résultat du dénombrement et interprétation de la présence de *Salmonella* :

Germe recherché		<i>Salmonella</i> (Germe/g)	Interprétation		Germe recherché		<i>Salmonella</i> (Germe/g)	Interprétation	
Ech	uni				Ech	uni			
De 1 à 17 et de 19 à 24	1	absence	S	S	18	1	absence	S	NS
	2	absence	S			2	absence	S	
	3	absence	S			3	Présence de <i>Salmonella enteritidis</i>	NS	
	4	absence	S			4	absence	S	
	5	absence	S			5	absence	S	

**Tableau 15 :** Niveaux de contamination par la *Salmonella* :

	Nombre	%
Absence	23	95,83
Présence	01	4,17



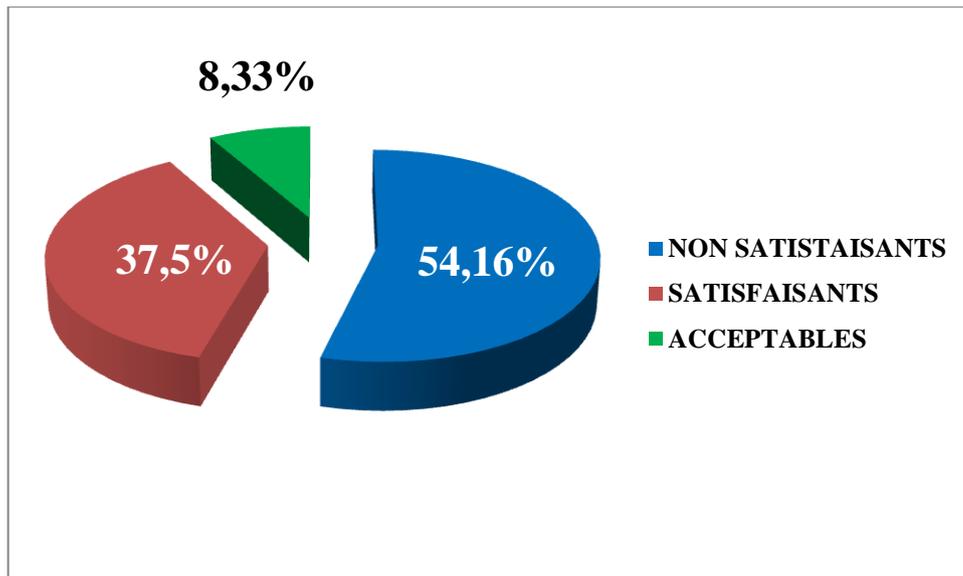
**Figure 26:** Répartition des niveaux de contamination des pâtisseries par la *Salmonelle* en premier semestre de 2014.

I-2/ Appréciation globale des résultats :

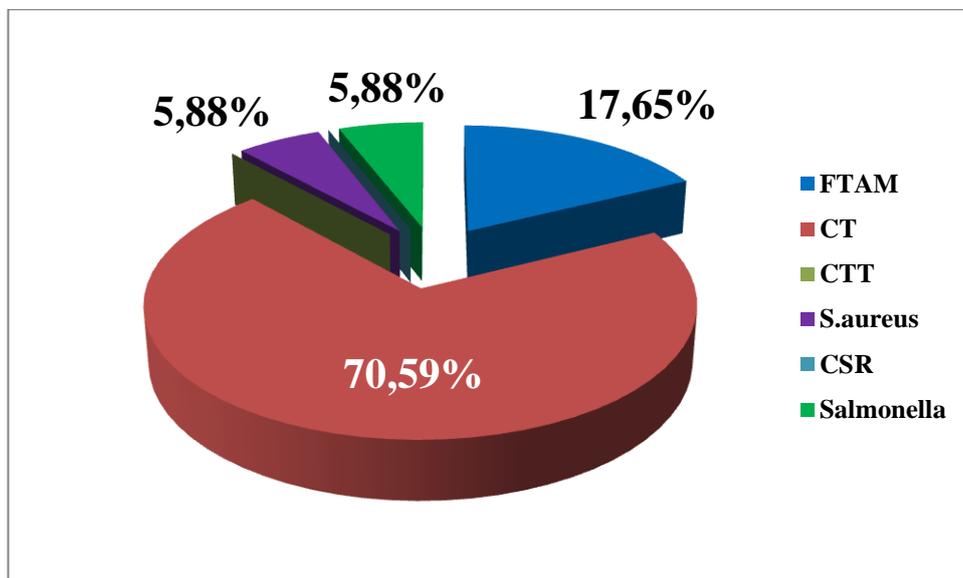
Au total sur 24 échantillons analysés en révèle les résultats suivants :

**Tableau 16:** Qualité bactériologique de 24 échantillons des pâtisseries analysées en 2014 :

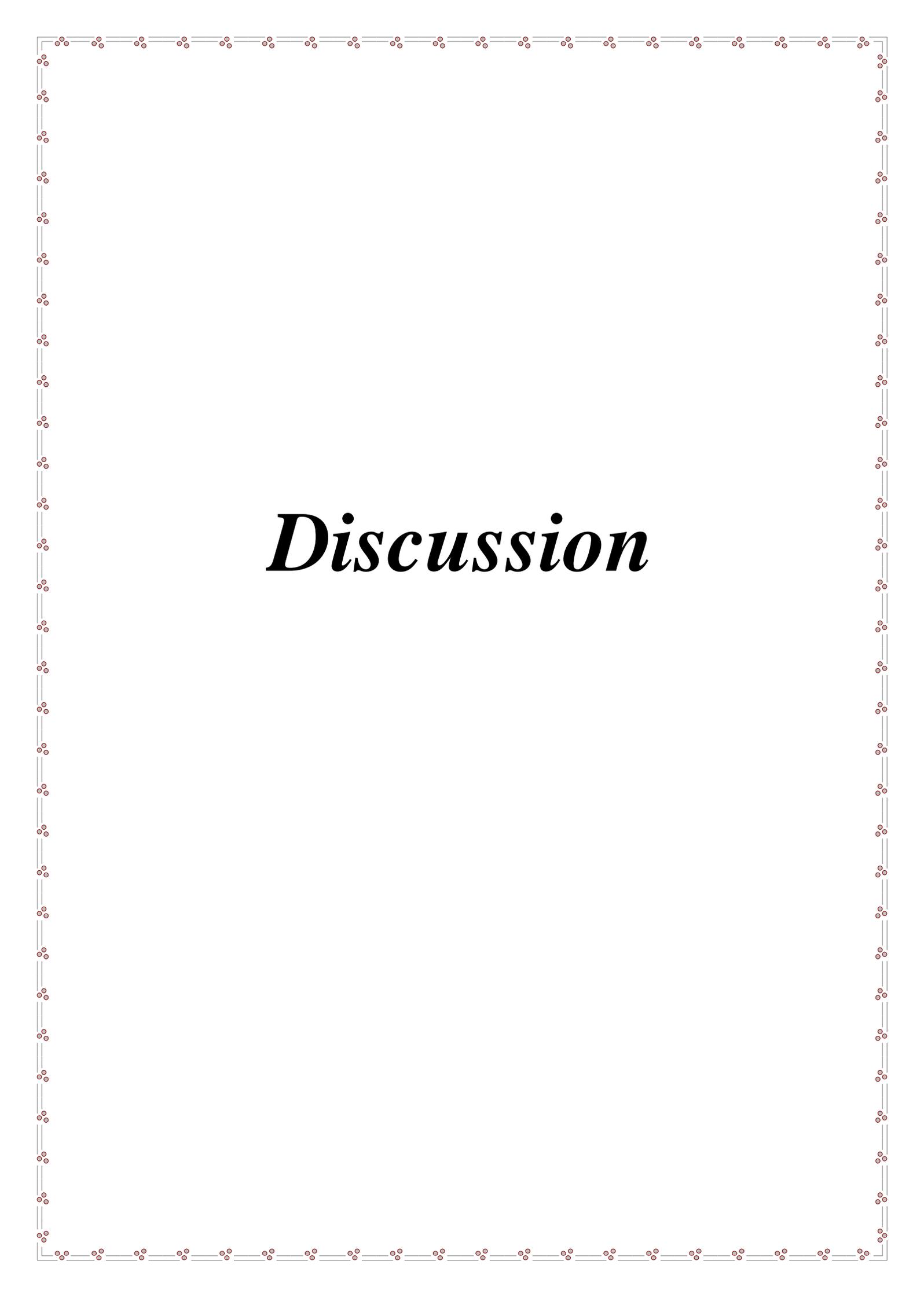
24 échantillons De pâtisseries	Satisfaisants		Acceptable		Non satisfaisants	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
	9	37.5	02	8.33	13	54.16



**Figure 27:** Distribution de la qualité bactériologique globale des pâtisseries en premier semestre de 2014.



**Figure 28 :** Distribution de la flore microbienne en premier semestre de 2014.



# *Discussion*

**Discussion :**

L'analyse microbiologique est le moyen de contrôle de l'hygiène des pâtisseries pour prévenir les risques sanitaires encourus par le consommateur. Pour cela nous avons décidé d'apporter notre contribution en étudiant la qualité microbiologique des pâtisseries au cours de l'année 2013 et début 2014 à Constantine.

En effet, les pâtisseries sont très appréciées des consommateurs, la préparation de ces denrées est toutefois délicate et nécessite le plus grand soin, en effet 63,5 % des échantillons analysés en 2013 et 54,16% en 2014 ne répondent pas aux normes. Ces échantillons non conformes sont contaminés par des bactéries d'origine fécale, ce qui traduit une hygiène insuffisante lors de la production ou de la manipulation de la denrée.

L'analyse bactériologique des échantillons analysés en 2014 a révélé la présence de quatre types de germes: la flore totale aérobie mésophile, les coliformes totaux, les *Staphylocoques aureus*, *Salmonella enteritidis*. On note également l'absence des coliformes thermotolérants et les anaérobies sulfito-réducteurs dans nos échantillons.

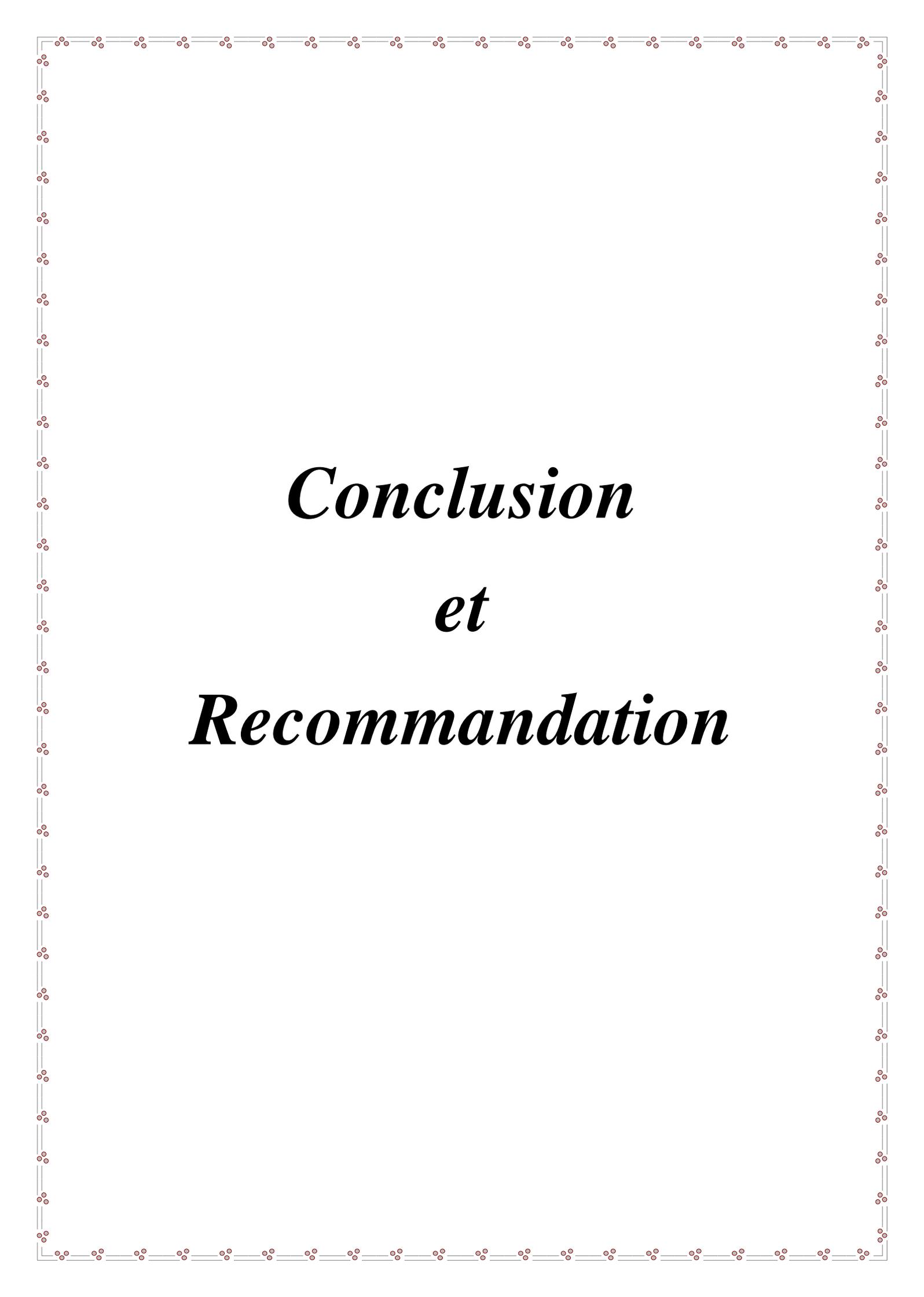
La présence constante de la FTAM et des coliformes totaux dans les échantillons est due sans doute à l'environnement. En effet la chaleur est favorable à la multiplication des cellules microbiennes surtout en été le séjour prolongé à la température ambiante ainsi que l'exposition à l'air libre constituent deux facteurs majeurs de contamination et de multiplication de la FTAM dans les pâtisseries.

Ces germes (FTAM) indiquent l'état de fraîcheur et d'hygiène générale de l'aliment, sa présence dans les pâtisseries est témoin de non respect total de bonnes pratiques de fabrication (rupture de la chaîne du froid, retard lors de la préparation, etc.). Quant aux coliformes totaux, leur présence témoigne d'un non respect des règles d'hygiène par contamination directe (mains sales ou produits souillés) ou indirecte (environnement des laboratoires de préparation).

L'absence des anaérobies sulfito-réducteurs est due à l'efficacité de l'effet thermique bactéricide de la température de cuisson.

Quant aux Staphylocoques, leur présence tient souvent de l'action des facteurs tels que le vent, la poussière et aussi la contamination d'origine humaine à travers les manipulations et les sécrétions (la salive, la sueur), en plus les affections cutanées purulentes (plaie infectée, maux des angines ou rhinites)

Nous avons trouvé une *Salmonella* que dans un seul échantillon, il s'agit de *Salmonella enteritidis*. Leur présence tient souvent d'une contamination initiale de la matière première, faute d'hygiène lors des manipulations (œufs mal ou non lavés), ou la contamination croisée par l'intermédiaire des manipulations ou des surfaces de travail.



***Conclusion***

***et***

***Recommandation***

### **Conclusion et recommandation :**

Les pâtisseries sont les plus contestables sur le plan de la qualité bactériologique comparativement aux plats cuisinés. Elles représentent un milieu de culture favorable au développement microbien. La contamination des pâtisseries peut être à l'origine de leur altération, mais peut également affecter sérieusement la santé du consommateur, elles provoquent des risques d'intoxication alimentaire.

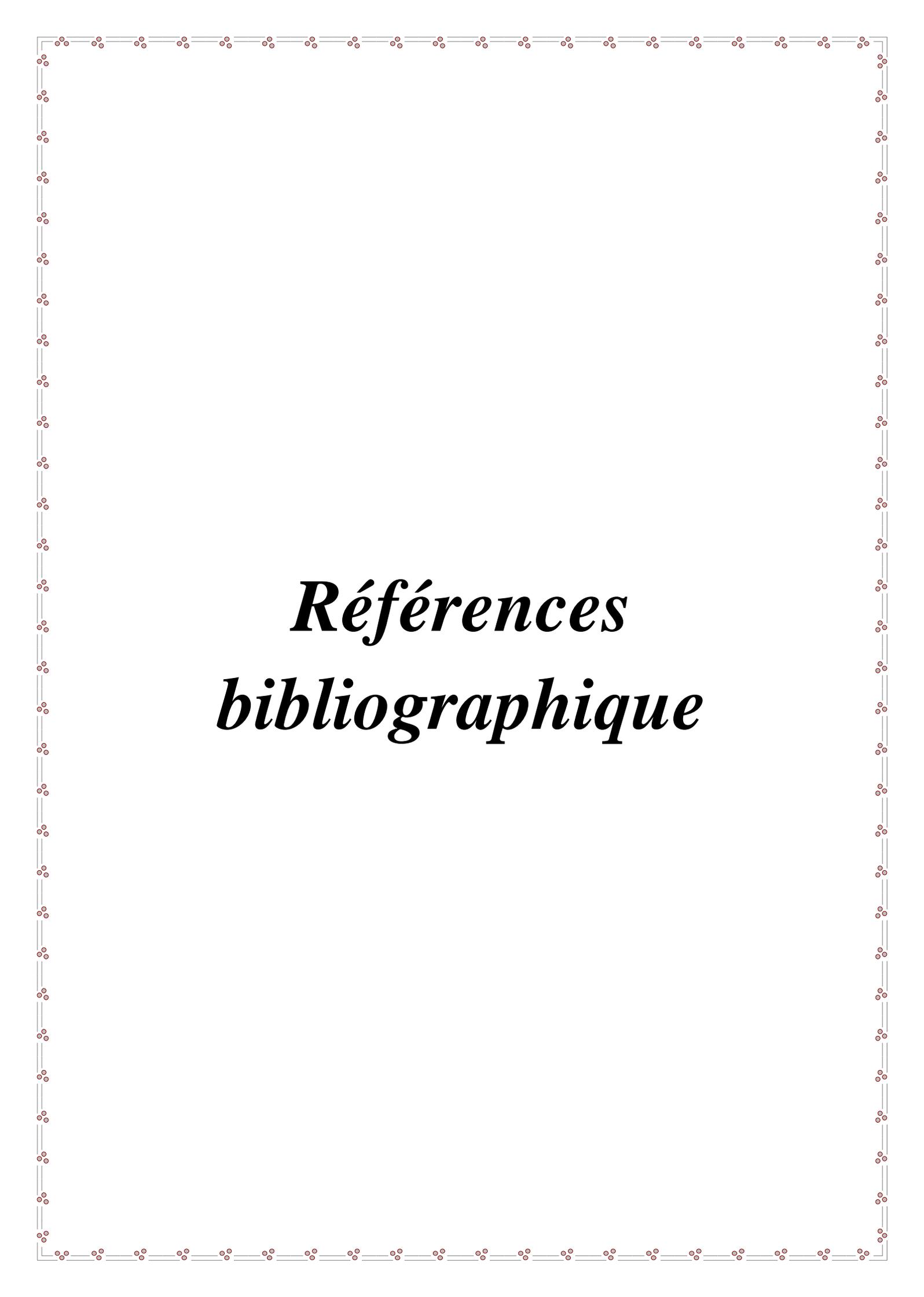
Les résultats des analyses bactériologiques des 24 échantillons prélevés de différentes pâtisseries de Constantine indiquent la présence de 4 types de germes: la FTAM; les Coliformes totaux, *S. aureus*, *Salmonella enteritidis*, du côté qualitatif les résultats d'analyse ont révélés :

- 9 échantillons satisfaisants soit un pourcentage de 37,5%
- 2 échantillons acceptables soit un pourcentage de 8,33%
- 13 échantillons non satisfaisants soit un pourcentage de 54,16%

Au cours de l'année 2013 ont révélés : 28,8% des échantillons satisfaisant, 7,7% acceptable et 63,5% non satisfaisant. Ceci témoigne des manipulations non hygiéniques et incorrectes de la pâtisserie.

A partir de nos résultats obtenus de 2013 à 2014 on ne peut juger que ces pâtisseries sont impropres à la consommation.

Pour s'assurer de la qualité de la pâtisserie il faudrait d'abord sensibiliser le personnel à l'hygiène et au problème de toxi-infection alimentaire. Ensuite il est primordial d'adopter certaines pratiques notamment: une hygiène corporelle rigoureuse du personnel (lavage des mains, propreté des vêtements de travail); du matériel et instruments; et des locaux (nettoyage et désinfections des plans de travail), le respect de la chaîne du froid, s'assurer de la qualité des ingrédients incorporés dans les préparations (la matière première), et éviter de préparer une grande quantité de pâtisseries à l'avance ou de l'exposer à température ambiante.



# *Références bibliographique*

## Références bibliographiques :

- 1- MAMOUMI H; FIKRI H; SLIMANI R; AMAROUCHE H; MOULAY HN; ZAHOUILY M; LAZAR S, 2012, Effet de la cuisson sur les caractéristiques physico-chimiques et la qualité sanitaire des Biscuits, Scientific Study et Research, (13), PP.223-230.
- 2- OUMOKHTAR B; KARIB H; BOUCHRITI N; ARABA A, 1998, Appréciation de la qualité bactériologique de la viande et des abats de taurillons fraîchement abattus dans les abattoirs de rabat, 18, PP. 169-176.
- 3- [http://www.unalgeria.org/evenement/Salubrite % 20 des % 20 aliments/ dossiers% 20 de 20 presse% 20-% 20 PNSA.pdf](http://www.unalgeria.org/evenement/Salubrite%20des%20aliments/dossiers%20de%20presse%20-%20PNSA.pdf) ».
- 4- Histoire de la pâtisserie « Histoirepat. Shtml. Rédiger par Hubert Chiron.
- 5- Extrait du dictionnaire de l'académie français ; (1932-1935) 8<sup>ème</sup> édition (pâtisserie).
- 6- BELLEC J.F; CHAING V; DRZEUWIECHI E; DUGAST A; MARCELINO V, 2008/2009, qualité dans la filière de la pâtisserie.
- 7- Guide de bonnes pratiques d'hygiène en pâtisserie, 1997, Réalisé par la confédération nationale de la boulangerie et boulangerie-pâtisserie française et par la confédération nationale de la pâtisserie : confiserie chocolaterie-Glacié de France validé par décision du 19 décembre.
- 8- BOUSSEBOUA H, 2005 ; élément de microbiologie, 2<sup>ème</sup> édition, édition compus-club, Algérie, PP : 282-283.
- 9- MADIGAN M; MARTINKO J, 2007, Brock Biologie des Microorganismes, 11<sup>en</sup> édition, Edition Pearson Education, France, PP : 936, 937, 948.
- 10- PRESCOTT LM; HARLY JP; KLEIN DA; WILLEY JM; SCHERWOOD LM; WOOLVERTON CJ, (2010), microbiologie ; 3<sup>ème</sup> édition, édition de boeck, paris, PP : 126, 1023, 1032.
- 11- Toxi-infection alimentaire collective (TIAC) & micro-organismes, créer par Flo, 2004.
- 12- JEAN-LOUIS CUQ, 2007, microbiologie alimentaire, Science et technologies des industries alimentaire 4<sup>ème</sup> année, université Montpellier 2.

- 13- HASSAM A, 2011, la prévention des intoxications alimentaire en restauration collective.
- 14- CARIP C, microbiologie Hygiène bases microbiologiques de la diététique, Edition Tec\$ doc et médicales internationales, Londres-Paris-NewYork, 2008, PP : 58, 59, 69, 70, 79, 85, 86, 103, 240, 241.
- 15- THEAU A, 2005, flore totale aérobie mésophile, Le laboratoire partenaire de votre qualité.
- 16- BONNEFOY C; GUILLET F; LEYRAL G; VERNE E; BOURDAIS, 2002, microbiologie et qualité dans l'industrie agroalimentaires, édition doit ; CRDP d'aquitaine, Paris, PP : 101.
- 17- BOURGEOIS C.M; MESCLE J.F; ZUCCA J, 1996, Microbiologie alimentaire aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, Tom 1, édition technique et documentation Lavoisier collection sciences et techniques agroalimentaires, PP : 67, 108, 260.
- 18- Group scientifique sur l'eau (2003), Coliformes Totaux, dans fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine, Institut national de santé publique du Québec, 4P.
- 19- THEAU A, 2005, Coliformes thermotolerants, Le laboratoire partenaire de votre qualité.
- 20- [www.psinicrographis.co.uk/escherichia-coli.-e—coli—bacteria/science-image/80013959](http://www.psinicrographis.co.uk/escherichia-coli.-e—coli—bacteria/science-image/80013959).
- 21- GUIRAND J.P; ROSEC J.P, 2004, pratique des normes en microbiologie alimentaire, édition Afnor, PP : 165, 200.
- 22- SINGLETON P, 2005, cours bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies, 6<sup>e</sup> édition, édition DUNOD, paris, PP: 513.
- 23- DJELOUAT S, 1990, Le diagnostic biochimique bactérien ; collection guides pratiques de microbiologie médicale, éditions sciences et techniques, Constantine, PP : 45
- 24- GROSJEAN J; CLAVE D; ARCHAMBAUD M; PASQUIER C, 2011, bactériologie et virologie pratique, 2<sup>e</sup> édition révisée, édition de boeck, Paris, PP : 74.
- 25- AVRIL J.L; DABERNAT H; DENIS F; MONTEIL H, 1992, bactériologie clinique, 2<sup>e</sup>me édition, édition marketing, PP : 21.
- 26- PERRY J.J; STALEY J.T; LORY S, 2004, microlrologie, édition Dunod, Paris, PP : 725 ,72.
- 27- [www, extension. org/ pages/ 28432/ Staphylococcus-aureus](http://www.extension.org/pages/28432/Staphylococcus-aureus) \$.41ePaXaYols

28- <http://fr.wikipedia.org/wiki/salmonella> »

29- HAIFI M, 1992, le contrôle de la qualité alimentaire dans la législation Algérienne, Université de Constantine institue de biologie.

30- ROCHEFRETTE M, 1974, règles techniques de la commercialisation des produits alimentaires, édition Eyrolles, PP : 114.

31- LONCIN M, 1976, Génie industriel alimentaire, Masson 211, PP : 218, 219.

32- GUIDOUM Y; BELAIB B; BELHOUADJEB B, Journal Officiel de la République Algérienne N°35, Aouel Safar 1419 ; 27 Mai 1998.

33- LEBRES E; AZIZI D; BOUDJELLAB B, 2005, Manuel des travaux pratiques analyses des aliments, séminaire de recyclage, Laboratoires d'hygiènes des Wilaya de L'EST, Institut Pasteur d'Algérie.

34- DELARRAS C, 2007, Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire, éditions Lavoisier, PP : 107, 110, 129.

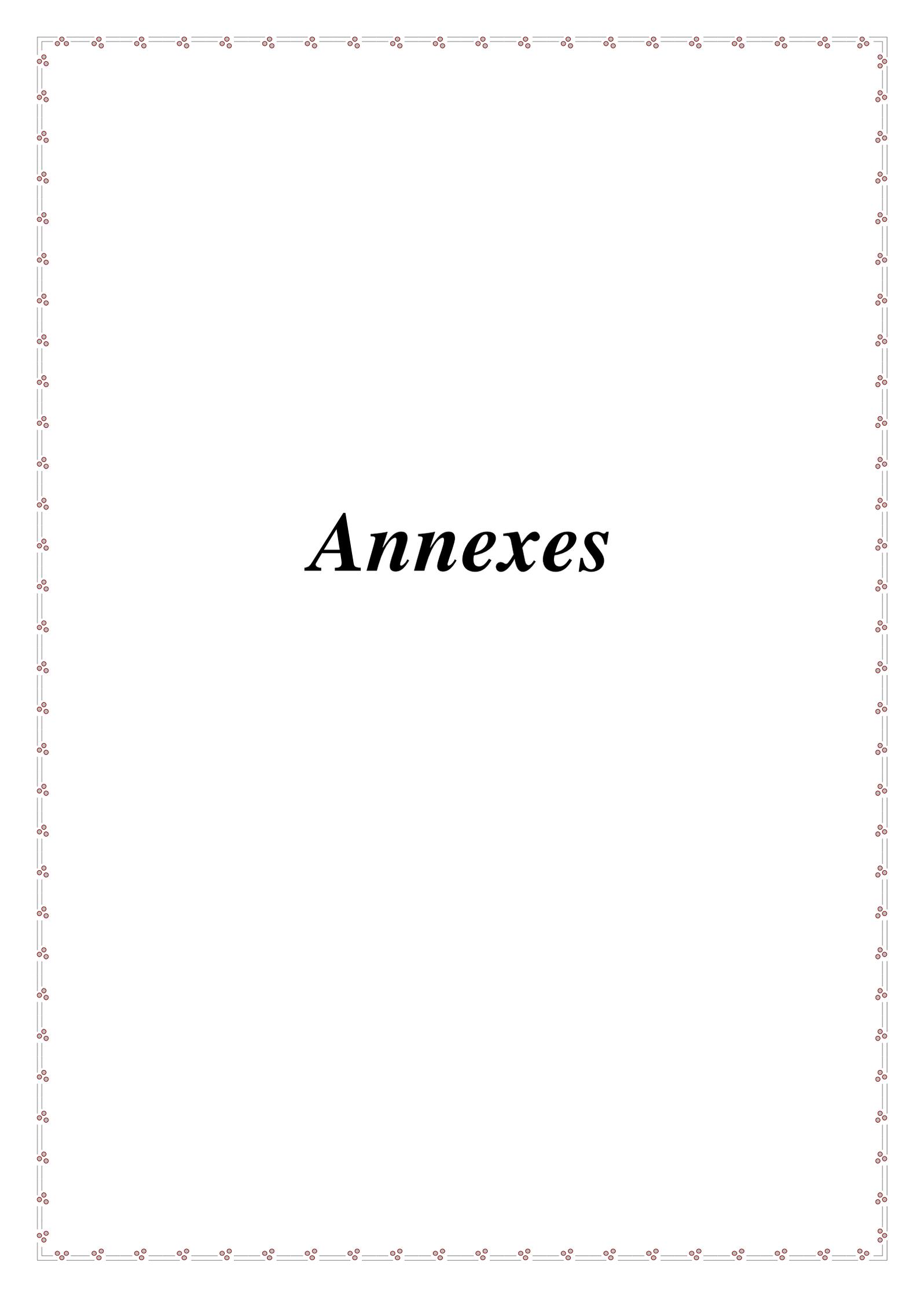
35- CLAVE D; ARCHAMBAUD M, 2009, fiche technique: salmonella enteritidis, centre National de référence des Salmonella laboratoire des bactéries pathogène émergentes, Toulouse.

36- Catalogue de milieu de culture, réactifs de laboratoire, Institut pasteur d'Algérie, édition 2003, PP : 27, 37, 38, 44, 46, 55, 71, 80, 85, 92,98, 102, 108.

37- JUND A, 2010, Mise en place du plan de maîtrise sanitaire sur l'UCP du grand sauvoy.

38- GUIRAUD J.P, 1998, Microbiologie alimentaire, édition DUNOD, paris, PP : 41, 95, 258, 259.

39- PILET C ; BOURDON J L ; TOMA B ; MARCHAL N ; BALBASTRE C, 1979, bactériologie médicale et vétérinaire systématique bactérienne, 2<sup>ème</sup> édition, édition Doin, paris, PP : 129.



# *Annexes*

## Annexe 1 : Les milieux de cultures [7]

### Agar citrate de Simmons

- Composition type (g /l d'eau distillé)

Ammonium dihydrogenophosphate	01
Phosphate dipotassique	01
Chlorure de Sodium	05
Citrate de Sodium	02
Sulfate de magnésium	0,2
Bleu de Bromothymol	0,08
Agar	18

pH=6,6 ± 0,1

### Agar mannitol mobilité

- Composition type (g/l)

Peptone de viande	15
Extrait de viande	03
Mannitol	10
Potassium nitrate	01
Rouge de phénol	0,05
Agar	05

pH=7,8

### Eau physiologique stérile

Chlorure de sodium	9g
Eau distillée	1000ml

**✚ Eau peptone exempte d'indole**

- Composition type (g/l)

Peptone de viande	10
Tryptone	10
Chlorure de sodium	05

pH=7,2 [07]

**✚ Gélose TSI (Triple Sugar Iron)**

- Composition type (g/l)

Peptone de viande	15
Proteose peptone	05
Extrait de viande	03
Extrait de levure	03
Glucose	01
Saccharose	10
Lactose	10
Citrate de fer ammoniacal	0,3
Chlorure de sodium	05
Sodium Thiosulfate	0,3
Rouge de phénol	0,05
Agar	18

pH=7,4 ± 0,1

 **Gélose VF (viande-foie)**

- Composition type (g/l)

Base viande foie	30
D glucose	02
Chlorhydrate de cystéine	/
Amidon	/
Agar	08

pH=7,6 ± 0,2

 **Milieu Chapman**

- Composition type (g/l)

Extrait de viande	03
Extrait de levure	03
Tryptone	05
Peptone bactériologique	10
Chlorure de sodium	70
Mannitol	10
Rouge de phénol	0,05
Agar (manque dans le bouillon)	18

pH=7,4 ± 0,15

 **Milieu Hektoen**

- Composition type (g/l)

Peptone pepsique de viande	15
Extrait de viande	03
Extrait de levure	03
Lactose	12
Salicine	02

Saccharose	12
Chlorure desodium	05
Sels biliaires	04
Bleu de Bromothymol	0,064
Fuchsine acide	0,1
Agar	18

pH=7,4 ± 0,2

#### Milieu de Giolitti et Cantoni

- Composition type (g/l)

Peptone de caséine	10
Extrait de viande	05
Extrait de levure	05
Pyruvate de sodium	03
Chlorure de sodium	05

pH=6,9 ± 0,1

#### Milieu TGEA

- Composition type (g/l)

Peptone de caséine	05
Extrait de viande	03
Extrait de levure	01
Glucose	01
Agar	18

pH=7

**✚ Milieu urée indole**

- Composition type (g/l)

L-Tryptophane	03
Phosphate dipotassique	01
Phosphate monopotassique	01
Chlorure de sodium	05
Urée	20
Rouge de phénol	2,5

pH=6,7

**✚ Milieu BLBVB**

- Composition type (g/l)

Peptone pepsique de viande	10
Bile de bœuf desséchée	20
Lactose	10
Vert brillant	2ml

pH=7,4

**✚ Réactifs de kowacs**

- Composition

Para-dimethyl-amino-benzaldéhyde

Alcool isoamylique

Acide chlorhydrique

**Annexes 2 : Table de Mac Grady**

Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	222	3.5
001	0.3	223	4.0
010	0.3	230	3.0
011	0.6	231	3.5
020	0.6	232	4.0
100	0.4	300	2.5
101	0.7	301	4.0
102	1.1	302	6.5
110	0.7	310	4.5
111	1.1	311	7.5
120	1.1	312	11.5
121	1.5	313	16.0
130	1.6	320	9.5
200	0.9	321	15.0
201	1.4	322	20.0
202	2.0	323	30.0
210	1.5	330	25.0
211	2.0	331	45.0
212	3.0	332	110.0
220	2.0	333	140.0
221	3.0		



**Abstract:**

The pastries are very sensitive foods and are considered supportive culture medium for microbial growth. This food may be danger for the consumer, sometimes causes food poisoning. The objective of this study is to evaluate the bacteriological quality pastries.

The results observed in the overall interpretation Algerian standards revealing:

In 2013:28, 8% satisfactory samples; 54.16% unsatisfactory samples and 8.33% of those recognized as Acceptable.

In 2014:37, 5% satisfactory samples; 54.16% unsatisfactory samples and 8.33% of those recognized as Acceptable.

Our results show that due to the high number of unsatisfactory pastries; these can be a real problem on public health.

**Key words:**

**The pastries, bacteriological quality, FTAM, Coliforms, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfito-reducers*, *Salmonella enteritidis***

## ملخص:

الحلويات أطعمة حساسة للغاية فهي اوساطا حيوية لنمو الميكروبات. هذا الطعام قد يسبب خطر بالنسبة للمستهلك، حيث يسبب تسمم غذائي. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الجودة البكتريولوجية للحلويات .

التقييم العام للنتائج التي لوحظت حسب المعايير الجزائرية يكشف:

في سنة 2013 : 28.8% من العينات ذات جودة مرضية؛ 63.5% من العينات ذات جودة غير مرضية وبنسبة 7.7% ذات جودة مقبولة

في سنة 2014 : 37.5% من العينات ذات جودة مرضية؛ 54.16% من العينات ذات جودة غير مرضية وبنسبة 8.33% ذات جودة مقبولة.

نتائجنا تظهر أنه نظرا للعدد الكبير من الحلويات غير المرضية؛ هذا يمكن أن يمثل مشكل حقيقي للصحة العامة.

## الكلمات المفتاحية :

الحلويات, النوعية البكتريولوجية مجموعة الكائنات الهوائية, القولونية, كلوستريديوم مرجع السولفيت,

*Staphylococcus aureus, Salmonella enteritidis*

M<sup>lle</sup>. Souti Imen  
M<sup>lle</sup>. karouaz Fatima

**Thème :**

**Evaluation de la qualité bactériologique des pâtisseries commercialisées dans la wilaya de Constantine en 2013-2014**

**Résumé :**

Les pâtisseries sont des aliments très sensibles et sont considérés comme un milieu de culture favorable pour la croissance microbienne. Cette denrée peut être danger pour le consommateur, parfois provoque une toxi-infection alimentaire. L'objectif de la présente étude est d'évaluer la qualité bactériologique des pâtisseries.

Les résultats observés dans l'interprétation globale selon les normes algériennes révélant :

En 2013:28,8 % d'échantillons Satisfaisants ; 63,5% d'échantillons Non satisfaisants et 7,7% de ceux reconnus comme étant Acceptable.

En 2014:37,5% d'échantillons Satisfaisants ; 54,16% d'échantillons Non satisfaisants et 8,33% de ceux reconnus comme étant Acceptable.

Nos résultats prouvent que du fait du nombre élevé des pâtisseries non satisfaisantes ; ces dernières peuvent constituer un véritable problème de santé publique.

**Mots clés :** Pâtisserie, qualité bactériologique, FTAM, coliforme totaux, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfito-réducteurs*, *Salmonella enteritidis*.

**Membre du jury:**

Président: Mme I. Mihoubi	Université Constantine 1.
Encadreur: Pr F. Khelifa	Faculté de médecine.
Examineur: Mme L. Bouzeraib	Université Constantine 1.

Université Constantine 1

Filière: Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Micro-organismes

Année : 2013 / 2014