



LICENCE SCIENCES ET TECHNIQUE
BIOLOGIE & SANTE

PROJET DE FIN D'ETUDE

*Qualité Microbiologique des Produits
Pâtisseries Commercialisés à Fès*

Stage effectué au : Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et
d'Hygiène du Milieu (L.R.D.E.H.M), Direction Régionale de la Santé Fès-
Boulmane

Présenté par :

- El Andaloussi Benbrahim Mahmoud Abbas

Encadré par :

- Dr El Ouali Lalami Abdelhakim (L.R.D.E.H.M)
- Pr El Azzouzi Amal (FST Fès)

Soutenu Le 15 juin 2013 devant le jury composé de :

Pr El Azzouzi Amal : Présidente (FST Fès)

Dr El Ouali Lalami Abdelhakim : Encadrant (L.R.D.E.H.M)

Pr Tazi Abdelali : Examineur (FST Fès)

Dr Berrada Sanae : Examinatrice (L.R.D.E.H.M)

Année Universitaire 2012 - 2013

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES FES-SAISS

B.P.2202-Route d'Imouzzer-FES

Ligne Directe : 212 (0)5 35 61 86 – Standard : 212 (0) 5 35 60 82 14

Site web: <http://www.fst-usmba.ac.ma>

Dédicaces

À tous mes professeurs de la Faculté des Sciences et Techniques.

À tous mes anciens professeurs.

À mes chers parents qui m'ont toujours apporté soutien, Encouragement
et réconfort.

À ma chère famille, mes amis et spécialement mon fidèle ami Khalid.

À ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

À ceux qui ont assisté à ma soutenance.

À tous ceux connus ou inconnus qui vont feuilleter un jour ce travail.

Remerciements

Je tiens tout d'abord, à exprimer ma profonde gratitude ainsi que mes sincères remerciements à Mr EL OUALI LALAMI ABDELHAKIM le Directeur du Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu de Fès pour m'avoir accordé l'opportunité d'effectuer ce stage de projet de fin d'études au sein de cet honorable établissement et je le remercie aussi pour son aide et ses remarques pertinentes qui m'a donné pour réaliser ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à Mme SANAE BERRADA, Mr MOHAMMED ABOUCHE, Mme LAILA BENNANI et Mme ZBADI LATIFA pour leur aide, leur patience et leur gentillesse tout au long de ma période de stage.

Mes sincères remerciements s'adressent à mon encadrant, professeur Mme AZZOUZI AMAL à la faculté des Sciences et techniques de Fès, pour son aide, le temps qu'il m'a consacré et ses précieux conseils.

Ma gratitude s'adresse encore à Mme SANAE BERRADA et Mr TAZI ABDELALI de m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Mes vifs remerciements à Mr SABRI HAMID, major du laboratoire pour ses conseils, son aide, son disponibilité et sa gentillesse.

Je remercie tout le personnel de LRDEHM pour leur implication, leur collaboration et leur aide.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Liste des illustrations

Liste des tableaux

Tableau	Page
Tableau 1 : Microorganismes responsables de la contamination, causes et actions correctives :	7
Tableau 2 : Normes microbiologiques relatives aux pâtisseries et crèmes pâtisseries.	9
Tableau 3 : Appréciation de la qualité microbiologique des produits pâtisseries.	22

Liste des figures

Figure	Pages
Figure 1 : Classification des biscuits	2
Figure 2 : Photo d'une galerie API 20 ^E .	17
Figure 3 : Préparation de l'inoculum.	18
Figure 4 : Boîte d'incubation de la galerie API 20 ^E .	19
Figure 5 : Résultats des tests d'identification des bactéries par la galerie API 20 ^E .	19
Figure 6 : Technique d'identification du code de l'API 20 ^E	20
Figure 7 : Répartition des échantillons analysés par catégorie.	21
Figure 8 : Pourcentage de la non-conformité globale.	21
Figure 9 : Pourcentage de non-conformité par catégorie de pâtisserie.	24
Figure 10 : Distribution du nombre d'échantillon contaminé et du pourcentage de non conformité par classe de germe.	26

Liste d'abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

ASR : Anaérobie Sulfito-Réducteur

AW : Activity of Water (activité de l'eau)

BHI : Bouillon cœur-cervelle

BP : Baird Parker

C : Conforme

CF : Coliformes Fécaux

CT : Coliformes Totaux

DGCCRF : Direction Générale de la Concurrence et de la Consommation et de la Répression des Fraudes

DL : Désoxycholate Lactose

EPT : Eau Peptonée Tamponné

FMAT : Flore Mésophile Aérobie Totale

GBPH : Guide de Bonne Pratique d'Hygiène

ISO : Organisation Internationale de normalisation

LRDEHM : Laboratoire Régional de Diagnostique Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu

NC : Non Conforme

NM : Norme Marocaine

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONPG: Ortho-Nitrophényl- β -Galactosidase

PCA: Plate Count Agar

PNNS : Programme National Nutrition Santé

RV : Rappaport Vassiliadi

UFC : Unité Formant de Colonie

TIA : Toxi-infection Alimentaire

TIAC : Toxi-infection Alimentaire Collective

Sommaire

Liste des illustrations

Liste d'abréviations

Présentation du lieu d'étude

Introduction générale.....1

Chapitre I : Revue bibliographique

A- Généralité sur les produits pâtisseries.....2

1- Définition des pâtisseries.....2

2- Classification des produits pâtisseries.....3

2-1 Artisanale.....2

2-2 Industrielle.....2

B- La Qualité et la Sécurité dans la filière « pâtisserie ».....3

1- Critères de qualité d'un produit pâtisseries.....3

2- Obligations en hygiène.....3

3- Risque sanitaire en pâtisserie.....5

C- Altération de la qualité hygiénique des produits pâtisseries.....5

1- Modifications organoleptiques.....5

2- Modifications bactériologiques.....6

3- Contamination des produits pâtisseries et microorganismes responsables.....6

D- Normes Microbiologiques D'acceptation des pâtisseries et crèmes pâtisseries.....9

Chapitre II : Matériel et Méthode

A- Echantillonnage.....10

1. Préparation de la suspension mère.....10

2. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale FMAT (NM 08.0121, 2004).....10

3. Dénombrement des Coliformes totaux (NM ISO 4832, 2004) et fécaux (NM 08.0.124, 2004).....	10
4. Dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i> (NM ISO 6888, 2004).....	11
5. Dénombrement des anaérobies <i>Sulfito-réducteurs</i> (NM 08.0.125, 2004)...	12
6. Recherche des Salmonelles (NM 08.0.116, 2004).....	12
7. Milieux d'identifications biochimiques des entérobactéries.....	14
7-1 Milieu Urée-indole.....	14
7-2 Test d'ONPG.....	14
7-3 Test coagulase.....	14
7-4 Kligler-Hajna.....	15

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Répartition des échantillons d'aliments analysés au laboratoire.....	21
2. Evaluation de la qualité hygiénique des produits pâtisseries analysés au LRDEHM.....	21
3. Appréciation de la qualité microbiologique des produits pâtisseries..	22
4. Pourcentage de non-conformité par catégorie de pâtisserie.....	24
5. Distribution du nombre d'échantillon contaminé et du pourcentage de non-conformité par type de microorganismes recherchés.....	25

Conclusion générale et recommandations..... 28

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

INTRODUCTION

GENERALE

Les produits pâtisseries occupent de plus en plus une place importante dans notre alimentation quotidienne. Ils constituent souvent le délice préféré de l'écolier et calment le petit creux ou désir de l'adulte.

Ainsi, ils vont de la responsabilité des professionnels de la fabrication de répondre aux exigences du consommateur, en termes de qualité et d'hygiène.

Ces aliments n'ont pas seulement une valeur nutritive pour ceux qui les consomment, ils constituent souvent des milieux de culture idéaux pour la croissance microbienne.

Les aliments, compris les produits pâtisseries, peuvent aussi servir de véhicule pour la transmission de maladies. La détection et la limitation des microorganismes qui causent des maladies ou avarient la nourriture sont d'une grande importance en industrie agroalimentaire. Les microorganismes peuvent affecter la qualité des aliments pendant toutes les phases de la manipulation, depuis le producteur jusqu'au consommateur final.

Ce qui se répercute sur les toxi-infections alimentaires, celles-ci ne sont déclarées qu'en cas d'aggravation. Ainsi nous pouvons estimer 10 cas pour chaque déclaration (BENLARABI et al, 2006). Selon la Société marocaine de toxicologie, plus de 80% des intoxications alimentaires surviennent suite à la consommation de repas préparés et servis à l'extérieur du domicile (IDRISSI., 2005). La fréquence des intoxications alimentaires au Maroc est de plus en plus élevée et elles sont liées soit à l'ingestion d'aliments contaminés par un agent pathogène (bactéries, virus et parasites), soit à la contamination par un produit chimique (pesticides, métaux lourds et nitrates), avec prédominance de l'origine bactérienne. En 2006, 169 épisodes de TIAC ont été notifiés (différents aliments ont été incriminés), engendrant un total de 1664 cas dont 590 hospitalisés et 8 décédés (taux de létalité de 0,48%) (Direction d'Epidémiologie et de la lutte contre les Maladies, 1999 à 2007).

Conscient du danger que constituent les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), la surveillance et le contrôle de tous types d'aliments notamment les produits pâtisseries s'avèrent nécessaire.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre étude qui a pour objectif principal la recherche et le dénombrement des germes pathogènes par la méthode microbiologique de routine Norme Marocaine 08.0.110, de différents types des produits pâtisseries vendus à la ville de Fès.

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

A- Généralité sur les produits pâtisseries

1- Définition des pâtisseries

On appelle « pâtisserie » l'ensemble des préparations sucrées ou salées nécessitant la présence d'une pâte comme support ou comme enveloppe et généralement cuite au four (NEYRAT et al., 2006).

La pâtisserie est :

- Un aliment plaisir qui vient après le nécessaire.
- Une discipline majeure de l'art culinaire marocain.

2- Classification des produits pâtisseries

2-1 Artisanale

Le produit pâtisseries artisanal est non industrialisé, il est le fait d'un artisan qui transforme des matières premières, qu'elles soient végétales, animales ou minérales. La production artisanale est de petit volume.

2-2 Industrielle

L'origine du mot biscuit est "Bis-cuit" signifie subir une double cuisson. Le biscuit est en effet une sorte de galette nécessitant une première cuisson, puis un passage dans des compartiments au-dessus du four ou dans une étuve pour terminer l'évaporation de son humidité. Cette double cuisson n'est plus pratiquée actuellement en biscuiterie (KIGER et KIGER, 1967 ; MENARD et al., 1992).

Classification des biscuits

Le biscuit offre une large palette de recettes provenant de nos traditions culinaires présentée dans la figure 1 :

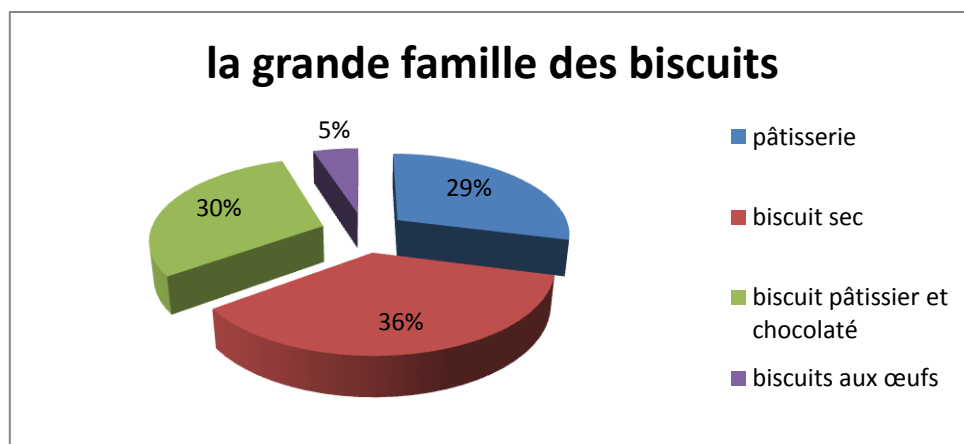


Figure 1 : Classification des biscuits (Ministère de l'agriculture et de la pêche, 2007)

L'apport nutritionnel du biscuit :

Le biscuit est un aliment avant tout céréalière puisque la farine, ingrédient principal, représente entre 20 et 80 % des ingrédients selon les recettes, avec une moyenne de 43%. A ce titre, le biscuit apporte tous les atouts nutritionnels de la farine : des glucides complexes, et des fibres, mais aussi des vitamines et des minéraux. (Ministère de l'agriculture et de la pêche, 2007)

A cette base céréalière sont ajoutés selon les recettes, divers ingrédients en quantité variable : sucre, matières grasses, œufs, lait, fruits, fruits secs, chocolat. Il existe ainsi, grâce aux nombreuses possibilités de combinaisons des ingrédients utilisés dans les recettes, une gamme très étendue de biscuits (Ministère de l'agriculture et de la pêche, 2007).

La contribution des biscuits aux apports nutritionnels est intéressante : les biscuits apportent aux enfants 3,9 % des apports en glucides complexes, 2,3 % pour la vitamine E, 2,5% pour les fibres et 2,4% des apports en fer. Chez les adultes, ils contribuent à 1,7% des apports en glucides complexes, 1,1% pour la vitamine E, 0,9% des fibres et 1,1% des apports en fer.

La contribution des biscuits aux apports en lipides est de 4,7 % chez les enfants et 2,1 % chez les adultes quant aux glucides l'apport chez les enfants est de 4,5 % et chez les adultes 2,9%.

- Les biscuits sont des aliments à faible teneur en humidité : ils ne comprenant que 16 à 20% d'eau selon les recettes.
- La proportion glucides simples / glucides complexes est ainsi très variable puisqu'elle dépend des recettes de chaque biscuit (Ministère de l'agriculture et de la pêche, 2007).

B- Qualité et la Sécurité dans la filière « pâtisserie »

1- Critères de qualité d'un produit pâtissier

La qualité hygiénique des produits pâtissiers est conditionnée par l'absence de toxicité chimique (résidus d'insecticides, etc.), de corps étrangers anormaux (débris de verre, métal, etc.) et d'agents microbiologiques pathogènes (bactéries, virus, moisissures) y compris leurs toxines et leurs produits de métabolisme. La composante principale de la qualité hygiénique des aliments est la qualité microbiologique. Elle constitue un élément primordial de leur aptitude à satisfaire les besoins des consommateurs (JOUVE, 1993).

Remarque : Il est nécessaire d'emballer le produit industriel directement après l'achèvement de la production, pour le maintien de la qualité. Les biscuits absorbent facilement l'humidité. Une dégradation de la qualité pourrait donc se produire lors d'un transport en plus grande quantité (les biscuits risquent de se casser et de devenir humides). Le but est également d'assurer une meilleure traçabilité du produit (ANONYME, 2006).

2- Obligations en hygiène

- Règles d'hygiène

Le concept de qualité microbiologique d'un aliment se réfère à deux aspects essentiels, la sécurité et la valeur d'usage :

- La sécurité se réfère à "l'absence de risque" pour la santé publique pouvant résulter de la présence dans les aliments de microorganismes pathogènes et/ou de toxines d'origine microbienne.
- La valeur d'usage s'étend de "l'absence de risque" pour les utilisateurs (Industriels, distributeurs) ou pour les consommateurs pouvant résulter de la présence dans les aliments de microorganismes responsables de leur altération (JOUVE, 1988).

- Traçabilité

La traçabilité sur les produits pâtisseries mis en vente est devenue actuellement obligatoire dans le but de faciliter le rappel des produits en cas de problème sanitaire et de connaître l'origine du problème. Elle va ainsi nous renseigner sur le fournisseur des matières premières utilisées ainsi que de savoir quels produits ont été livrés et à quels clients.

La traçabilité interne en industrie va servir à identifier quel lot de matière première a été utilisé et pour quel lot de produits. Elle va permettre également un retrait ciblé en cas de problème sanitaire (JOUVE, 1988).

- Système HACCP obligatoire

Le système HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point / Analyse des dangers - Points critiques pour leur maîtrise) est une méthode qui permet :

- d'identifier et d'analyser les dangers associés aux différents stades du processus de production d'une denrée alimentaire;
- de définir les moyens nécessaires à leur maîtrise;
- de s'assurer que ces moyens sont mis en œuvre de façon effective et efficace;

On peut considérer le HACCP comme une approche organisée et systématique permettant de construire, de mettre en œuvre ou d'améliorer l'assurance de la sécurité des denrées alimentaires (JOUVE, 1988).

3- Risque sanitaire en pâtisserie

Il existe 3 classes de risques sanitaires en pâtisserie :

- 1- La contamination initiale des matières premières et produits livrés secondaire lors du stockage, fabrication, manipulation (MILLET et CABUT, 1997).

2- La multiplication des micro-organismes déjà présents dans le produit, suite à une rupture de la chaîne du froid ou à un refroidissement mal conduit.

Les pâtisseries à base de crème chantilly, crème pâtissière, crème au beurre et crème ganache, ainsi que pour les glaces: développement de bactéries dangereuses pour la santé humaine (*E.coli*, *Salmonella*, *Shigella* et *Staphylococcus aureus*) ainsi que les tartes et mousses aux fruits sont parfois cause de contamination par les levures et moisissures altération des aliments aux niveaux visuel et gustatif (MILLET et CABUT, 1997).

3- La survie des micro-organismes suite à 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 (MILLET et CABUT, 1997).

C- Altération de la qualité hygiénique des produits pâtisseries

4- Modification organoleptique

Les modifications organoleptiques peuvent être causées par une fixation de mauvaises odeurs qui peut provenir de la proximité de produits odorants, avec des risques d'oxydation des corps gras.

Des germes peuvent provoquer des décompositions de matières grasses, avec pour conséquence des phénomènes d'oxydation et de rancissement (MILLET et CABUT, 1997).

La vue, le toucher, le goût et l'odorat constituent quatre de nos organes de sens pour apprécier la qualité organoleptique d'un aliment (AFNOR, 1988). Dans l'ordre chronologique de jugement, les modifications des propriétés organoleptiques peuvent se subdiviser comme suit:

- Modification de l'apparence (forme, aspect, couleur) relevant de la vision ;
- Changement de flaveur (arôme, saveur) relevant de l'odorat et du goût ;
- Modification de texture (résistance, consistance à la mastication, etc.) relevant du toucher.

Même le sens de l'ouïe joue un rôle dans l'évaluation des aliments qui doivent par exemple être croustillants à la mastication, exemple des biscuits (CHEFTEL, 1990).

5- Modification bactériologique

La mauvaise qualité hygiénique des aliments est conditionnée par la présence d'agents microbiologiques pathogènes (bactéries, virus, moisissures) y compris leurs toxines et leurs produits de métabolisme.

La composante principale de la qualité hygiénique des aliments est la qualité microbiologique. Elle constitue un élément primordial de leur aptitude à satisfaire les besoins des consommateurs (JOUVE, 1993).

6- Contamination des produits pâtisseries et microorganismes responsables

GUMUS et al., lors d'une étude réalisée en 2005 portant sur 120 échantillons de gâteaux achetés au hasard dans 30 pâtisseries de la province de Tekirdag (Turquie) ont trouvé sur les 60 échantillons de gâteau à la crème un taux de non satisfaction de 98,3 % alors que sur le même nombre de gâteau aux fruits le taux de non satisfaction a été trouvé de 100 %.

En 2007, une étude réalisée en Tunisie par Sana M'hir et al., sur les pâtes du secteur de la boulangerie, a montré que sur trente échantillons de la pâte de blé, rassemblés de différentes boulangeries tunisiennes, quarante pour cent ont contenu approximativement 10^6 ufc/g d'aérobie mésophile et que les bactéries d'acide lactique et les levures ont dominé la flore microbienne de ces échantillons. La teneur des coliformes trouvés a été de l'ordre de 10^2 à 10^4 ufc/g.

Un travail similaire, réalisé à Dakar et ayant pour objectif d'apprécier la qualité microbiologique des repas froids et pâtisseries servis par Dakar Catering en 2006 et 2007, a permis d'affirmer la contamination des produits pâtisseries. En effet, 5,78 % des échantillons analysés ont été détectés non conformes dans les pâtisseries servis. Les microorganismes responsables sont les germes totaux avec 4,11%, les coliformes avec 1 à 5×10^3 germes par gramme de produit. Cependant, toutes les pâtisseries ont été trouvées satisfaisantes vis-à-vis des staphylocoques présumés pathogènes, anaérobies sulfite-réducteurs et salmonelles.

Une étude en Macédoine, réalisée par Angelovski L. et al. en 2010, sur la qualité microbiologique de 70 échantillons de gâteaux et pâtisseries vendues directement aux consommateurs par des boulangeries et confiseries, a permis de montrer une contamination de 2,85% par des germes totaux. Aucun des microorganismes pathogènes (salmonelles, monocytogènes de *Listeria* et *E.coli*) n'a été détecté dans les échantillons analysés. Ceci montre l'intérêt des niveaux élevés de pratique en matière d'hygiène et de contrôle au moment de la préparation et stockage.

En 2011, une étude réalisée à la ville de Jalandhar en Inde par Harsh K et al., sur 40 échantillons de pâtisserie rassemblés des différents magasins au détail, a montré que tous les échantillons des 10 zones choisies pour l'étude sont contaminés par des germes totaux et des levures allant de $1,37 \times 10^6$ à $11,27 \times 10^6$ ufc/g.

Le même auteur a recommandé qu'il y a le besoin de réduire au minimum la contamination et des systèmes de HACCP doivent être appliqué au contrôle des micro-organismes de détérioration à toutes les étapes de fabrication, stockage, transport et opérations au détail ainsi qu'il y a besoin d'éducation sanitaire afin d'assurer la sécurité de ce type de nourriture pour les consommateurs.

D'après le centre technique des métiers de la pâtisserie (2008), les différents microorganismes responsables des modifications bactériologiques recherchés lors d'une analyse microbiologique sur des produits de pâtisseries et crèmes pâtisseries ainsi que les causes principales de la présence de chaque microorganisme et leurs actions correctives proposées sont les suivants (Tableau 1) :

Tableau 1. Microorganismes responsables de contamination, causes et actions correctives :

Microorganisme	Causes	Actions correctives
Flore aérobie mésophile totale (FMAT)	<ul style="list-style-type: none"> -Insufisance du plan du nettoyage-désinfection. -Conditions de conservation des aliments (température, durée). -Traitement thermique insuffisant . 	<ul style="list-style-type: none"> -Revoir le plan nettoyage-désinfection -Garantir la maîtrise de la chaine du froid. -Diminuer la durée de conservation des produits. -Cuisson et refroidissement à adapter et à contrôler.
Coliformes totaux	Idem (FMAT)	Idem (FMAT)
Coliformes fécaux	<ul style="list-style-type: none"> -Hygiène manipulateurs (tenue, mains) -Insufisance du plan de nettoyage-désinfection 	<ul style="list-style-type: none"> -Rappel des consignes de lavages des mains (sortie toilette, après manipulation contaminante) -Tenue vestimentaire adaptée, propre et complète.

<p align="center">Anaérobies sulfito réducteurs</p>	<p align="center">-Température de conservation</p>	<p align="center">-Refroidissement rapide après cuisson des produits sensibles. -Maintien à +4°C maximum des produits sensibles</p>
<p align="center"><i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p align="center">-Manipulateurs malades (plaies aux mains, bronchite...) -Matière première contaminées (Œufs...) -Porteurs sains -Rupture de la chaîne du froid</p>	<p align="center">-Surveillance de l'état de santé et d'hygiène des manipulateurs. -Port de gants et de masques pour les personnes malades. -Hygiène des mains. -Garantir la maîtrise de la chaîne de froid.</p>
<p align="center"><i>Salmonella</i></p>	<p align="center">-Porteurs sains. -Matière première contaminée. -Contamination croisée -Cuisson insuffisante -Température et durée de conservation trop longue (produits à base d'œufs, crèmes...)</p>	<p align="center">-Surveillance de l'état de santé et d'hygiène des manipulateurs -Protection des denrées nues. -Cuisson: température insuffisante. -Température de conservation à +4°C</p>

D- Normes Microbiologiques D'acceptation des pâtisseries et crèmes pâtissières

Le but principal de l'établissement des normes microbiologiques est de protéger la santé des consommateurs. En effet, la sécurité des consommateurs et la durée de conservation des

denrées alimentaires, sont étroitement liées à leur flore microbienne. Ainsi ces normes jouent un rôle très important lors des échanges commerciaux de ces produits entre pays.

Pour les produits pâtisseries, les normes marocaines en vigueur sont celles décrites dans le bulletin officiel sous le titre « Denrées alimentaires-normes microbiologiques » , arrêté conjoint du ministre de l'agriculture et du développement rural, du ministre de la santé et du ministre de l'industrie du commerce et des télécommunications n° 625-04 du 17 Safar 1425 (8 avril 2004) relatif aux normes microbiologiques auxquelles doivent répondre les denrées animales et d'origine animal.

Tableau 2. Normes microbiologiques relatives aux pâtisseries et aux crèmes pâtisseries (bulletin officiel n° 625-04 du 08 Avril 2004) :

DESIGNATION		FMAT	C.T	C.F	<i>S.aureus</i>	A.S.R	<i>Salmonella</i>
Pâtisseries, crèmes pâtisseries	M	3.10^6	10^4	10	10^3	10^2	Absence

➤ M : Seuil limite de conformité microbiologique, au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme conformes, sans que pour autant le produit soit considéré comme toxique

MATERIEL & METHODES

Cette étude a été réalisée à la ville de Fès au sein du laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu durant les mois d'Avril et Mai 2013.

B- Echantillonnage

Les échantillons des produits pâtisseries ont été prélevés de différents quartiers de Fès par des techniciens d'hygiène du milieu en respectant les techniques de prélèvement (à noter la température de l'échantillon lors de prélèvement et le transport des échantillons dans des glacières contenant des accumulateurs de froid à fin d'éviter la prolifération bactérienne). A la réception des prélèvements en laboratoire, une vérification de la température de l'aliment est effectuée pour écarter une rupture du froid.

1. Préparation de la suspension mère

La préparation de la suspension mère s'effectue selon le protocole suivant : 10g de l'échantillon ont été pesés dans un Sac Stomacher. 90g d'eau peptonée ont été ajoutés pour la dilution. L'ensemble a été mélangé jusqu'à ce que le produit soit complètement dispersé (Figure 1). Les analyses ont été effectuées dans des conditions aseptiques pour éviter toute contamination éventuelle.

2. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale FMAT (NM 08.0121, 2004)

Toutes les bactéries aérobies dites "revivifiables" se développent dans des conditions habituelles de culture et représentent la teneur moyenne en bactéries d'une ressource naturelle. Le dénombrement des micro-organismes revivifiables se fait par la méthode d'ensemencement en profondeur. 1ml de la suspension mère (ou des déluions décimales) a été déposé dans une boîte de pétrie stérile, ensuite 15ml de gélose pour dénombrement (PCA) ont été ajoutés et bien mélangés avec l'inoculum. Après solidification, les boîtes de pétri ont été incubées à 30°C pendant 24 à 72h. Les colonies ont été comptées.

3. Dénombrement des Coliformes totaux (NM ISO 4832, 2004) et fécaux (NM 08.0.124, 2004)

Les coliformes sont des entérobactéries fermentant le lactose avec production de gaz. Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnets, aérobie anaérobie facultatif, possédant l'enzyme β -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 37°C. Parmi les coliformes totaux on distingue les coliformes thermotolérants (fécaux) exemple "*Escherichia coli*", qui fermente le lactose à 44°C, l'espèce la plus fréquente.

La différenciation des entérobactéries est fondée sur la capacité des germes à fermenter le lactose. Les microorganismes lactose-positif produisent une acidification qui en présence de rouge neutre, se manifeste par l'apparition de colonies rouges. Les germes lactose-négatif donnent des colonies incolores (salmonella et shigell).



Milieu DL : milieu non inoculé



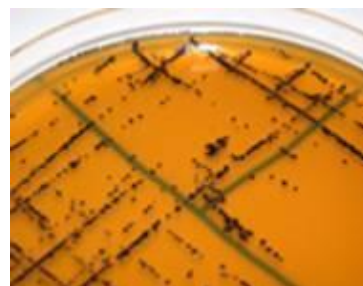
Milieu DL inoculé par les coliformes

1ml de la suspension mère ou de la dilution décimale a été déposé dans une boîte de pétri stérile, ensuite 15ml de gélose ou Désoxycholate lactose (DL) ont été coulés. L'inoculum et le milieu ont été bien mélangés. Les boîtes de pétri ont été incubées pendant 24h à 37°C (pour les coliformes totaux) et à 44°C (pour les coliformes fécaux). Les colonies caractéristiques sont rouges briques d'un diamètre de 0,5mm.

4. Dénombrement des *Staphylococcus aureus* (NM ISO 6888, 2004)

Le dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans les aliments se fait par étalement de 0,1ml de la suspension mère ou de la dilution décimale sur la surface du milieu gélosé (Baird Parker avec le jaune d'œuf au tellurite de potassium). Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48h. Les colonies noires brillantes entourées d'une zone claire (Baird Parker) ont été repiquées sur le tube de bouillon cœur cervelle (B.H.I) pour sa confirmation. Après incubation à 37°C pendant 18h, 0,5ml de cette culture ont été ajoutés à 0,5ml de plasma de lapin, l'ensemble a été agité, puis incubé à 37°C. Les tubes ont été examinés après 1h puis 24h. La formation d'un caillot ferme est considérée comme une réaction de coagulase positive.

Les colonies typiques de *St. aureus* sont de couleur noire brillant entouré par un halo clair.



Milieu BP : milieu non inoculé

Milieu inoculé par *St. aureus*

5. Dénombrement des anaérobies *Sulfito-réducteurs* (NM 08.0.125, 2004)

Les anaérobies sulfito-réducteurs sont des bactéries commensales de l'intestin et saprophytes du sol et indicatrices d'une contamination fécale qui sont parfois responsables d'intoxication alimentaires. Le dénombrement des anaérobies *Sulfito-réducteurs* dans les aliments se fait par la méthode en tube en ensemençant 1ml de la solution mère ou de la dilution décimale dans un tube contenant 20ml de milieu SPS. L'homogénéisation a été réalisée par rotation sans faire de bulles. Les tubes ont été incubés à 44°C pendant 24h, les colonies noires de diamètre 1 à 2,5mm ont été dénombrées.

6. Recherche des Salmonelles (NM 08.0.116, 2004)

Les salmonelles sont des microorganismes qui forment des colonies typiques sur des milieux sélectifs solides et possèdent des caractéristiques biochimiques et sérologiques spécifiques. Ce sont des bactéries pour la plus part pathogènes provoquant des gastro-entérites avec éventuelles complications. La recherche des salmonelles se fait selon les étapes suivantes :

Pré-enrichissement : 25g d'échantillon à analyser ont été solubilisés dans 250ml d'eau peptonée tamponnée et l'incubation du mélange a été réalisée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Enrichissement sélectif : Les cultures de pré-enrichissement sont ensemençées dans un milieu nutritif contenant des agents inhibiteurs actifs sur les germes qui font concurrence à *Salmonella*. Pour cela, on transfère à l'aide d'une pipette stérile 0,1 ml de la culture de pré-enrichissement dans 10 ml de bouillon rapport et on incube à 44±0,5°C pendant 21h±3h.

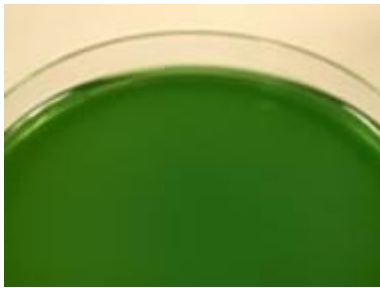


Milieu RV : milieu non inoculé

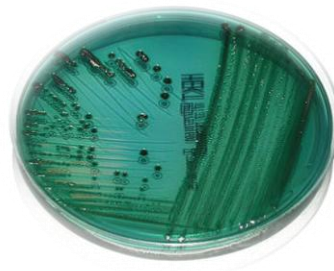
Milieu inoculé

Isolement : à partir du bouillon Rappaport, on ensemence par épuisement à l'aide d'une anse flambée du bouillon sélectif sur une gélose Hektoen de façon à obtenir les colonies bien isolées, les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 24h±3h.

Les colonies jaunes utilisent un ou plusieurs glucides (saccharose, lactose, salicine).



Hektoen : milieu non inoculé par salmonella



Milieu inoculé par Salmonella

Identification : les colonies bleues vertes avec centre noir (sur milieu Hektoen) ont été repiquées sur milieu Kligler et sur gélose nutritive, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24h. Ces milieux permettront de vérifier la pureté des colonies et de fournir les quantités de culture nécessaires pour les identifications biochimiques et sérologiques.

7. Milieux d'identifications biochimiques des entérobactéries

7-1. Milieu Urée-indole

Le milieu urée-indole ou le milieu urée-tryptophane est un milieu de culture synthétique de couleur orange, qui permet de rechercher trois activités enzymatiques du métabolisme protéique : uréase, tryptophanase et tryptophane désaminase.

L'uréase : hydrolyse l'urée pour donner du carbonate et de l'ammoniac responsable de l'alcalinisation du milieu qui vire au rose. La couleur jaune demeure pour les bactéries uréase-. Ce milieu permet de distinguer le genre *Salmonella* (uréase -, donc pas de changement de coloration) par contre le genre *Proteus* qui possède une uréase active et fait virer le milieu au rose.

La tryptophanase : elle dégrade le tryptophane pour donner l'indole. Après addition du réactif de Kovax, le diméthyle-amino-4-benzaldéhyde qu'il contient réagit avec l'indole et forme un composé coloré en rouge (anneau rouge en surface). Les bactéries incapables de provoquer une telle réaction sont dépourvues de tryptophanase sont tryptophanase(-).



7-2. Test d'ONPG

L'orthonitrophényl- β -galactoside (ONPG) est un hétéroside de type galactoside, dont l'aglycone est l'orthonitrophénol (ONP) et la partie glucidique est constituée par un galactose. L'ONPG est incolore, son hydrolyse par une β -galactosidase libère du galactose et de l'ONP, composé de couleur jaune en milieu alcalin.

La recherche de la β -galactosidase dans l'identification des entérobactéries est réalisée avec le test ONPG. Ce test consiste à incuber la souche bactérienne en présence d'ONPG. L'apparition d'une coloration jaune « ONP » après 24h à 37°C indique la présence de la galactosidase.

7-3. Test coagulase

La coagulase est une enzyme produite par plusieurs microorganismes qui permet la conversion de fibrinogène à la fibrine. Il est utilisé pour différencier les *St. aureus* parmi coagulase négative staphylocoques.

Ce test est réalisé après incubation d'une colonie prélevé à partir la gélose de Baird Parker dans le milieu BHI à 37°C pendant 24h, on ajoutant le plasma de lapin à la suspension bactérienne suivie d'une incubation à 37°C pendant 24h. le test positif se manifeste par coagulase de la solution indiquant la présence de *St. aureus*.

7-4. Kligler-Hajna

Gélose lactosée et glucosée au citrate de fer ammoniacal ou au sulfate ferreux selon Kligler et Hajna pour l'identification des *Enterobactériaceae*.

C'est un milieu complexe, qui permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques :

- Technique : ensemercer abondamment la surface par striées ou par inondation, puis le culot par simple pique, à l'aide de la même pipette boutonnée. Il est important de ne pas dévisser partiellement la capsule afin de permettre les échanges gazeux. Mettre à l'étuve 24h à 37°C.

- Lecture : deux glucides sont retrouvés dans le milieu de Hajna-Kligler, le glucose et le lactose .l'utilisation des glucides par une bactérie suit toujours la loi de la diauxie : quand une bactérie est capable de cataboliser deux glucides dont le glucose, il utilise dans un premier temps le glucose jusqu'à son épuisement dans le milieu .Il utilisera ensuite le deuxième glucide (ici le lactose).

- La technique particulière d'ensemencement du milieu Hajna-Kligler permet de distinguer les phénomènes selon leur lieu, pente ou culot.

- Sur la pente : l'utilisation de la source de carbone est aérobie si la capsule est correctement dévissée .Le principale acide produit est le dioxyde de carbone.

- Sur le culot : l'utilisation de la source de carbone est anaérobie. Les principaux acides produits sont non volatils, ils restent enfermés dans la gélose.

- Production d'H₂S : la présence de thiosulfate de sodium et de fer III dans ce milieu permet d'apprécier la capacité des bactéries à produire de l'H₂S à partir du thiosulfate. Cette production est matérialisée par la formation du culot et de la pente d'un précipité noir de sulfure de fer.

- **Résultats :**

- Bactérie fermentative du glucose et du lactose+ : culot jaune et pente jaune.

- Bactérie fermentative du glucose et lactose- : culot jaune et la pente rouge.

- Bactérie oxydative du glucose ou glucose – et lactose- : culot rouge et pente rouge.

- Bactérie de type oxydatif du glucose et lactose+ : culot rouge et pente jaune. Ces bactéries sont aérobies strictes : le culot ne doit pas présenter de culture et sera donc rouge. La pente présente une culture jaune si l'acidification est suffisante et rouge dans le cas contraire.

Le milieu de Kligler n'est généralement pas utilisé pour de telles bactéries, qui sont souvent lactose-, et des expériences complémentaires sont faites pour préciser le résultat.



Milieu Kligler : non inoculé



milieu inoculé par *St. aureus*

Nous avons assisté à l'utilisation des galeries conventionnelles pour l'identification biochimique et des galeries API 20E utilisées essentiellement dans l'identification des entérobactéries, dont les caractères biochimiques sont comparables à ceux recherchés dans les méthodes conventionnelles d'identification, mais la lecture des tests est plus rapide.

➤ **Identification par la galerie conventionnelle**

L'identification des inocula bactériens par la galerie conventionnelle comporte les tests suivants :

- ❖ Fermentation du lactose (LAC)
- ❖ Fermentation du glucose (Glu)
- ❖ Production d' H_2S (H_2S)
- ❖ Présence de β galactosidase (ONPG)
- ❖ Présence de la lysine décarboxylase (LDC)
- ❖ Présence d'indole (IND)
- ❖ Présence d'uréase (URE)
- ❖ Utilisation du citrate (CIT)
- ❖ Réaction de Voges Proskauer (VP)
- ❖ Rouge de méthyle (RM)
- ❖ Dégradation du mannitol (MAN)
- ❖ Mobilité (Mob)
- ❖ Mise en évidence de l'oxydase (OXY)

➤ Identification par la galerie API 20^E

La Galerie de 20 microtubes prêts à l'emploi permet la réalisation de 20 tests biochimiques, ce qui permet l'identification des bactéries comme les bacilles Gram⁻ appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* (Figure2).



Figure 2. Photo d'une galerie API 20^E.

L'identification des inocula bactériens à l'aide de la galerie API comporte ces étapes :

❖ **Préparation de la galerie API** : Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation. 5ml d'eau physiologie ont été répartis dans les alvéoles (avec pipette graduée) pour créer une atmosphère humide, les références de la souche bactérienne ont été inscrites sur la languette latérale de la boîte (en plus de la date et le code de l'échantillon), la galerie est déposée dans la boîte d'incubation.

❖ **Préparation de l'inoculum** : 5ml d'eau physiologique (avec une pipette Pasteur) ont été introduits dans un tube à vis stérile. A l'aide d'une pipette pasteur, une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé a été prélevée pour réaliser une suspension bactérienne (Figure 5).

❖ **Inoculation de la galerie API 20^E** : Avec la suspension bactérienne et la pipette ayant servi au prélèvement, les tubes et cupules des tests CIT, VP et GEL ont été remplis. Pour les autres tests, seuls les tubes ont été remplis. L'anaérobiose est créée pour, les tests ADH, LCD, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine. La boîte d'incubation est refermée et placée dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures. La Figure 6 illustre l'exemple d'une boîte d'incubation de la galerie API 20^E.

❖ **Lecture et identification** : La lecture de la galerie API 20^E se fait à partir du tableau API 20^E.

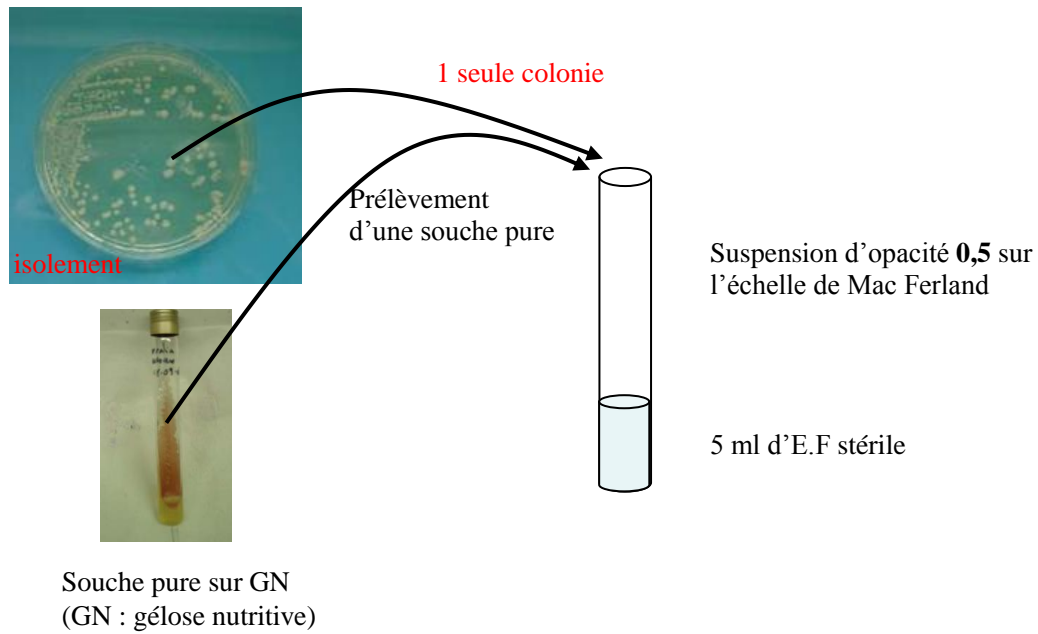


Figure 3. Préparation de l'inoculum.

Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles

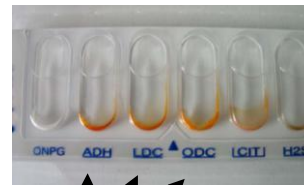


Pour certains caractères:



Remplir de suspension le tube et la cupule

CIT, VP, GEL



Remplir le tube de suspension et recouvrir d'huile de paraffine

ADH, LDC, ODC, H₂S, URE

Figure 4. Boîte d'incubation de la galerie API 20^E.

Les 10 Tests négatifs premiers



Tests positifs

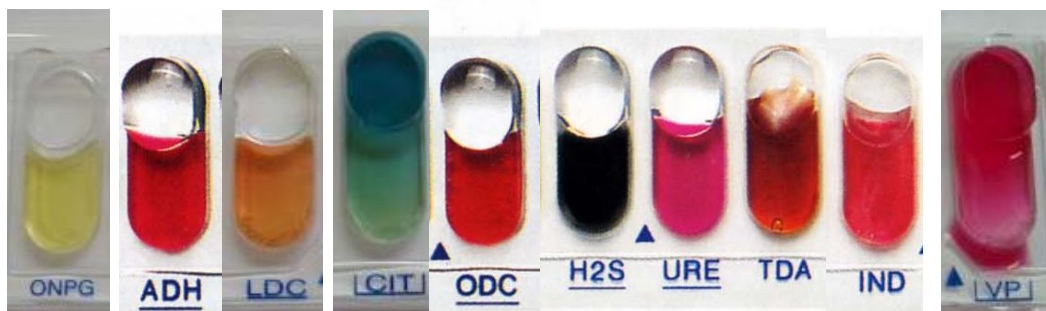
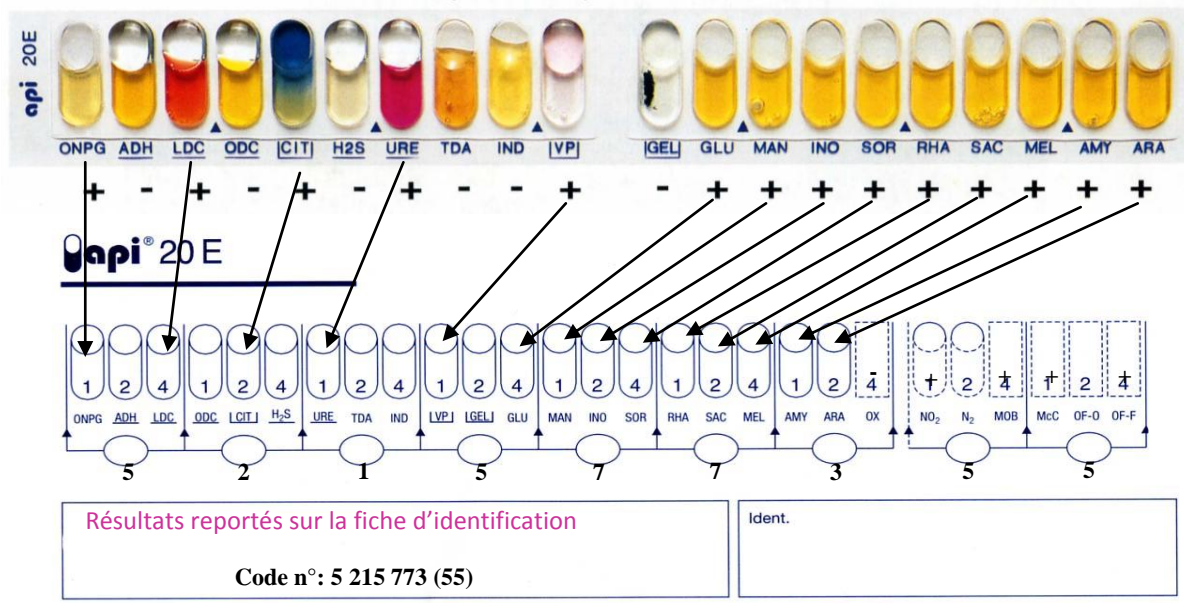


Figure 5. Résultats des tests d'identification des bactéries par la galerie API 20^E.

Pour l'identification de la souche bactérienne, on se réfère au catalogue à l'aide du code. Les résultats des différents tests biochimiques par l'utilisation de la galerie API20E sont illustrés à la Figure 5.

Résultats de la galerie:



Se référer au catalogue pour identifier la souche à l'aide du code

Figure 6. Technique d'identification du code.

La Figure 6 indique la technique d'identification du code de la bactérie à identifier. Ainsi, les milieux sont regroupés par 3 à l'aide de chiffres (1 pour le premier milieu, 2 pour le second et 4 pour le troisième). Dans chaque groupe, les chiffres correspondants aux tests positifs sont additionnés pour former un nombre à 7 chiffres. Ce nombre correspond au micro-organisme que l'on cherche à identifier, tous les numéros sont regroupés dans le catalogue fournis avec les galeries. Si le numéro obtenu n'est pas dans le catalogue, soit il s'agit d'un micro organisme non référencé, soit l'inoculation de la galerie s'est mal faite.

-Traitement des résultats :

Les résultats sont obtenus par la formule : $(N \times Fd) \div V$

N(UFC) : nombre de colonies

Fd : facteur de dilution

V : le volume ensemencé

Les résultats obtenus sont traités par logiciel Excel à fin d'élaborer les graphes exprimant la conformité des échantillons.

RESULTATS & DISCUSSION

1- Répartition des échantillons d'aliments analysés au laboratoire

Selon les critères microbiologiques de l'Arrêté n° 625-04 du 08 Avril 2004, 40 échantillons de pâtisserie ont été analysés au LRDEHM de Fès. Ces échantillons, ont été prélevés de différents points de vente de la ville de Fès par les techniciens d'hygiène du milieu du Ministère de la santé, du 08 avril au 31 mai 2013.

La répartition des produits pâtisseries par catégorie (Figure 7) montre que 62,5% (25/40) sont des produits pâtisseries artisanaux alors que 37,5% (15/40) sont des produits pâtisseries industriels.

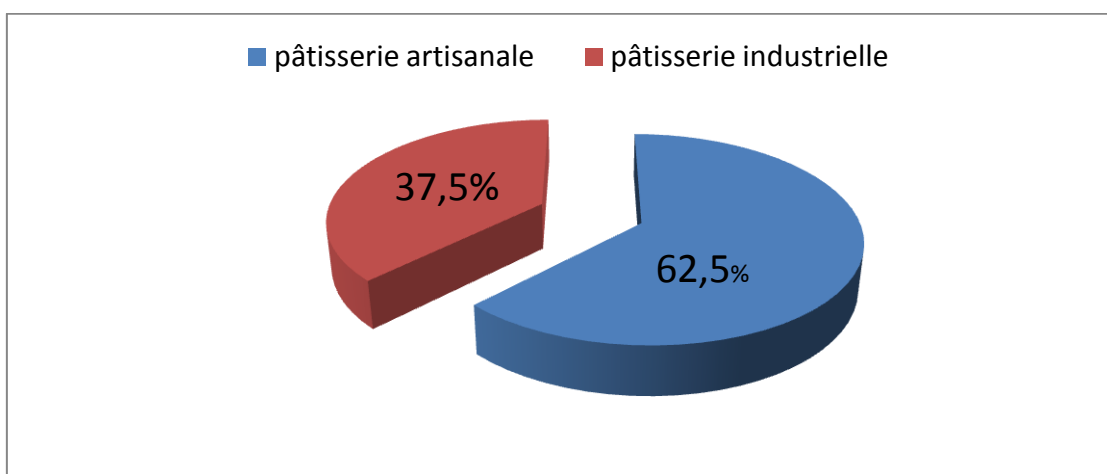


Figure 7 : Répartition des échantillons analysés par catégorie

2- Evaluation de la qualité hygiénique des produits pâtisseries analysés au LRDEHM

Le pourcentage global de non-conformité des produits pâtisseries est de 20% (Figure 8).



Figure 8 : Pourcentage de la non-conformité globale

La non-conformité globale trouvée concorde avec les 15,1% (40/265) (Marnissi et al., 2012). Cependant, elle est plus importante que les 11,3% (7/62) (Pfammatter et al., 2011) ou encore 2,85% (2/70) (Ljupco et al., 2010).

3- Appréciation de la qualité microbiologique des produits pâtisseries

Les analyses microbiologiques ont été effectuées sur 25 échantillons de pâtisseries artisanales (1-25) et sur 15 échantillons de pâtisseries industrielles (B1-B15) (Tableau 3).

Tableau 3 : Appréciation de la qualité microbiologique des produits pâtisseries

Catégorie	Nature et code des échantillons	FMAT	C.T	C.F	S.aur	A.S.R	Sal.	Conformité
ARTISANALES	1-Mille feuilles	3.10^4	$5,2.10^3$	2.10^2	0	0	Abs	<u>NC</u>
	2-Harcha	0	0	0	0	0	Abs	C
	3-Mlaoui	8.10^2	0	0	0	0	Abs	C
	4-Pâtisserie	2.10^2	0	0	0	0	Abs	C
	5- Pâtisserie	3.10^7	$2,3.10^6$	$7,3.10^5$	0	0	Abs	<u>NC</u>
	6-Mille feuilles	8.10^5	9.10^4	4.10^2	0	0	Abs	<u>NC</u>
	7-Halwa	3.10^7	3.10^5	7.10^2	0	0	Abs	<u>NC</u>
	8-Pâtisserie	$3,1.10^2$	90	0	0	0	Abs	C
	9-Crème pâtissière	$8,6.10^2$	$1,5.10^2$	30	0	0	Abs	<u>NC</u>
	10-Mlaoui	0	0	0	0	0	Abs	C
	11-Harcha	0	0	0	0	0	Abs	C
	12-Pâtisserie	2.10^5	10^4	60	0	0	Abs	<u>NC</u>
	13-Pâtisserie	0	0	0	0	0	Abs	C
	14-Mille feuilles	$8,8.10^3$	6.10^3	$2,7.10^3$	0	0	Abs	<u>NC</u>
	15-Pâtisserie	0	0	0	0	0	Abs	C
	16-Tarte au citron	0	0	0	0	0	Abs	C
	17-Maskouta	0	0	0	0	0	Abs	C
	18-Petit pain à crème pâtissière	$3,2.10^2$	50	0	0	0	Abs	C
	19-Croissant crémé	$5,2.10^4$	$2,1.10^3$	$2,8.10^2$	0	0	Abs	<u>NC</u>
	20-Halwa kawkaw	$3,7.10^2$	10	0	0	0	Abs	C

S A N A L E	21-Madleine	30	20	0	0	0	Abs	C
	22-Maskouta	40	0	0	0	0	Abs	C
	23-Harcha	40	20	0	0	0	Abs	C
	24-Pâtisserie	4.10 ²	0	0	0	0	Abs	C
	25-Maskouta	20	0	0	0	0	Abs	C
I N D U S T R I E L L E	B1	0	0	0	0	0	Abs	C
	B2	0	0	0	0	0	Abs	C
	B3	0	0	0	0	0	Abs	C
	B4	0	0	0	0	0	Abs	C
	B5	0	0	0	0	0	Abs	C
	B6	0	0	0	0	0	Abs	C
	B7	0	0	0	0	0	Abs	C
	B8	0	0	0	0	0	Abs	C
	B9	0	0	0	0	0	Abs	C
	B10	0	0	0	0	0	Abs	C
	B11	0	0	0	0	0	Abs	C
	B12	0	0	0	0	0	Abs	C
	B13	0	0	0	0	0	Abs	C
	B14	0	0	0	0	0	Abs	C
	B15	0	0	0	0	0	Abs	C
	Critères de conf.*	3.10 ⁶	10 ⁴	10	10 ³	10 ²	Abs ds 25g	

* : Selon l'arrêté conjoint n° 624-04 Safar 1425 (8 Avril 2004) publié au bulletin officiel N : 5214-30 rabbi 1- 1425 (20-05-2004) relative aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments.

N.B : Le dénombrement des microorganismes est exprimé en UFC/g

4- Pourcentage de non-conformité par catégorie de pâtisseries

La synthèse des résultats obtenus montre que la contamination microbienne est retrouvée uniquement dans la catégorie des pâtisseries artisanales, dans 8 échantillons, soit un pourcentage de positivité de 62,50% (Figure 9).

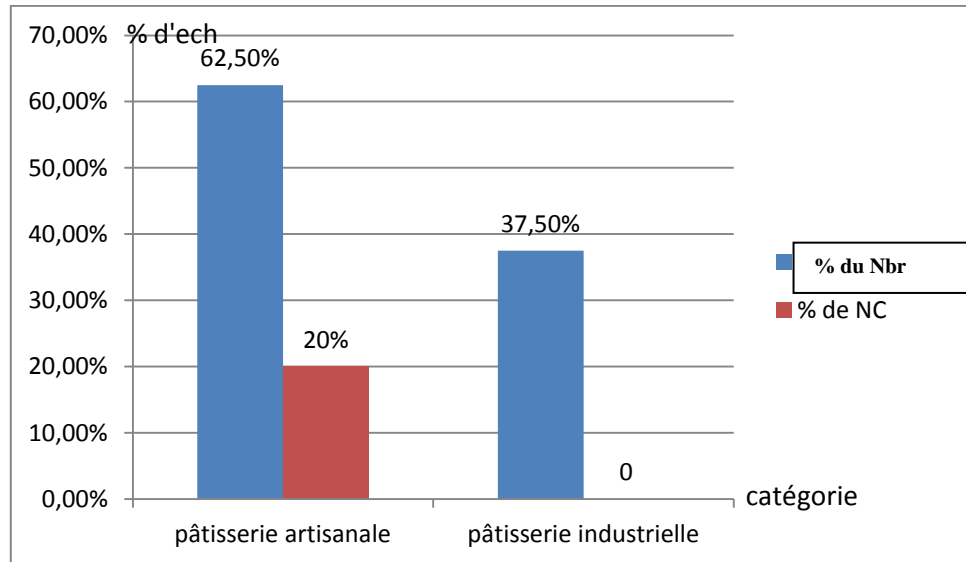


Figure 9 : Pourcentage de non-conformité par catégorie de pâtisserie.

La non-conformité observée dans la catégorie pâtisseries artisanales pourrait être due à un défaut des conditions d'hygiène, de la matière première à la commercialisation et jusqu'à la consommation (El Ouali Lalami et al., 2013).

La conformité décelée au niveau de la catégorie pâtisserie industrielle pourrait s'expliquer par une meilleure maîtrise du procédé de fabrication comprenant l'instauration du système HACCP ou analyse des dangers au niveau des points critiques.

En effet, une telle méthode permet :

- D'identifier et d'analyser les dangers associés aux différents stades du processus de production d'une denrée alimentaire ;
- De définir les moyens nécessaires à leur maîtrise ;
- De s'assurer que les moyens mis en œuvre sont effectifs et efficaces

Par ailleurs, l'application d'un système de traçabilité obligatoire présente plusieurs avantages (Bellec et al., 2009) :

- faciliter le rappel des produits cas de problème sanitaire ;
- connaître l'origine du problème ;

- retrouver le fournisseur des matières premières utilisées ;
- savoir quels produits ont été livrés à quels clients ;
- réaliser une traçabilité interne, afin quel lot de matière première soit utilisé pour le lot du produit concerné ;
- permettre un retrait ciblé en cas de problème sanitaire.

Il est aussi important de souligner que le produit industriel comptant le biscuit est reconnu pour sa faible teneur en eau (16-20%). Une telle caractéristique signifie une faible possibilité de prolifération bactérienne qui nécessite une activité de l'eau (aw) élevée. En outre, l'emballage sous vide concernant la catégorie de pâtisserie industrielle empêche toute les réactions d'oxydation, préserve la caractéristiques organoleptiques (saveur, odeur, ...) maintient l'humidité naturelle de tels aliments et empêche la contamination inhérente. Le traitement thermique qui pourrait aussi être appliqué, sous une très haute température, empêcherait (Mathlouthi et Roge, 2002).

5- Distribution du nombre d'échantillons contaminés et du pourcentage de non conformité par type de microorganisme recherché

Les résultats obtenus montre que les microorganismes dits pathogènes tels que les Anaérobies Sulfite-Réducteurs, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella* n'ont été détectés dans aucun des échantillons analysés, qu'il s'agisse des produits de pâtisserie artisanale ou de pâtisserie industrielle (Figure 10).

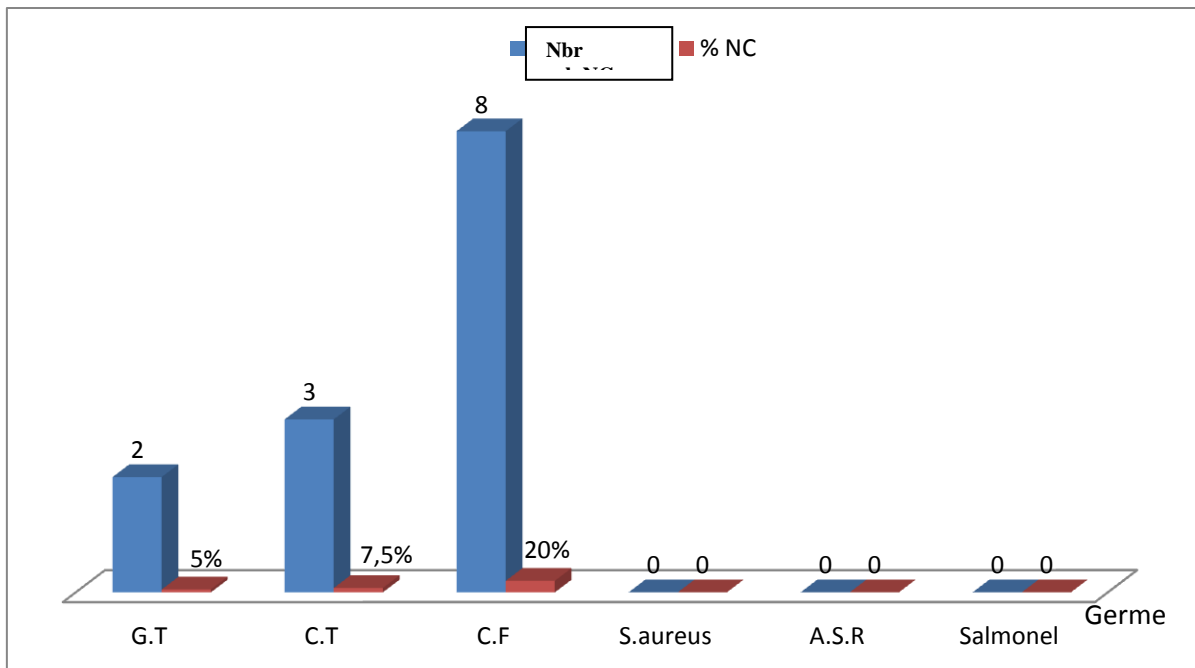


Figure 10 : nombre d'échantillon contaminé et pourcentage de non conformité par type de microorganisme recherché

Pour ce qui est du groupe des microorganismes dits indicateurs de la contamination fécale, les coliformes totaux sont retrouvés dans les échantillons de pâtisserie artisanale, selon un pourcentage de positivité de 7,5% (3/40). Quant aux coliformes fécaux, ils sont isolés dans la même catégorie de produit, mais, à une fréquence plus importante, soit avec un pourcentage de positivité de 20% (8/40) (Figure 10).

En ce qui concerne les microorganismes responsables d'altération et représentés par les FMAT, il s'avère que ces derniers sont décelés, dans 2 échantillons de pâtisserie artisanale, selon un pourcentage de récupération de 5% (Figure 10).

Les résultats obtenus ne concordent pas à ceux antérieurement retrouvés qu'il s'agisse des FMAT (14%), des CT (5,9%), des CF (7,5%) et des *S. aureus* (8,2%) ; par ailleurs, ils restent en parfait accord, pour ce qui est des ASR et des *Salmonella* (El Marnissi et al., 2012).

D'autres résultats montrent que les FMAT sont retrouvés selon un pourcentage de non-conformité comparable, alors que tous les autres microorganismes recherchés n'ont pas été détectés (Ljupco et al., 2010).

En conclusion, il s'avère que l'insuffisance de l'entretien des locaux et du matériel, le non respect des bonnes pratiques d'hygiène (PBH) de la part des manipulateurs, du personnel des boulangeries et pâtisseries et de toute personne entrant en contact avec toute denrées alimentaires, le manque d'efficacité des procédés de traitement (Pasteurisation), le traitement thermique insuffisant et les mauvaises conditions de conservation et de stockage sont autant de conditions qui, lorsqu'elles ne sont pas prises en considération entraînent fortuitement une éventuelle possibilité de contamination des aliments manipulés.

CONCLUSION GENERALE & RECOMMANDATIONS

CONCLUSION & RECOMMANDATIONS

La présente étude réalisée au laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu de Fès (LRDEHM) s'est fixé comme principal objectif, le contrôle de la qualité microbiologique des produits pâtisseries commercialisés à la ville de Fès.

Dans cette étude prospective, 40 échantillons de produits pâtisseries ont subi des analyses microbiologiques. Les résultats obtenus ont révélé un pourcentage de non-conformité de 20%.

La catégorie des pâtisseries industrielles n'a présenté aucune non-conformité (0%), quant à la catégorie des pâtisseries artisanales, elles ont représenté un pourcentage de 32% de non-conformité, ce dernier a été dû principalement à la flore mésophile aérobie totale, coliformes totaux et surtout aux coliformes fécaux.

En général, le degré de contamination décelée dans les produits pâtisseries artisanales consommés dans la ville de Fès traduit une défaillance relative d'hygiène qui pourrait être expliquée par une contamination au niveau de la matière première, du personnel manipulateur ou des conditions de stockage et de vente.

La qualité hygiénique de ces aliments peut être améliorée grâce à des programmes de sensibilisation au profit des vendeurs aux règles d'hygiène et au respect de la chaîne de froid...

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

LISTE DES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFNOR, (1988) : Recueil de normes- contrôle de la qualité des produits alimentaires : Analyse sensorielle. AFNOR 3ème édition. Paris. 400 p.
- ANONYME, (2006) : Publication d'une demande au sens de l'article 6, paragraphe 2, du règlement (CE) no 510/2006 du conseil relatif à la protection des indications géographiques et des appellations d'origine des produits agricoles et des denrées alimentaires, Journal officiel de l'Union européenne, pages : 3
- BENLARABI S., Semlali I., Eloufir G., Badri M et Soulaymani Bencheikh R., (2006) : -Les toxi-infections alimentaires collectives: données du centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc. Premier Congrès National de la Société Marocaine de Toxicologie Clinique et Analytique. Institut National de L'administration Sanitaire (Inas), Rabat, Maroc.
- CENTRE TECHNIQUE DES METIERS DE LA PATISSERIE, (2008) : Fiche n° 10 Autocontrôles microbiologiques, Direction Générale de la Concurrence et de la Consommation et de la Répression des Fraudes, page : 2
- CHEFTEL J.C., CHEFTEL H., (1990) : Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments, Vol. 2. Paris : Technique et Documentation- Lavoisier ; 419p.
- DIRECTION D'ÉPIDÉMIOLOGIE ET DE LA LUTTE CONTRE LES MALADIES (1999 à 2007) : Données épidémiologiques des malades sous surveillance. Bulletins épidémiologiques N°40, N°44, N°48, N°52, N°56, N°61, N°62, N°63, N°64, N°6, N°66, N°67 et N°68. Ministère de la santé, Royaume du Maroc.
- EL MARNISSI B, Bennani L, EL Ouali Alami A, Abouch M, Belkho R (2012) : Contribution a l'étude de la qualité microbiologique de denrées alimentaires commercialisées à Fès-Boulemane. LRDEHM, Fès. Revu. Microbiol. Ind. Seu et environ. Vol 6, N°1, P : 104-107
- EL OUALI ALAMI Abdelhakim, Sanae BERRADA, Saâd MANIAR, Bouchra OUMOKHTAR (2013) : Qualité microbiologique des crèmes glacées commercialisées au centre du Maroc et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées – ScienceLib Editions Mersenne : Volume 5 , N ° 130402 ISSN 2111-4706 - 8p
- HARSH Kumar, RAJDEEP Palaha, DEEPSHIKHA Sharma, VIVEK Sharma, DEEPTI Singh, AMANDEEP Kaur. (2011) : Microbiological Quality Analysis of the Pastry sold in the

Jalandhar City and Public Perception about the Pastry; Internet Journal of Food Safety, Vol.13, p.361-366

-IDRISSI L., (2005) : Département de toxicologie de l'Institut National d'Hygiène. Maroc, L'Opinion, 28 Mars.

-JOUVE J.L., (1988) : L'assurance de la qualité microbiologique des aliments par le système d'analyse des risques / maîtrise des points critiques - système HACCP". Sc. des Alim. ; 8 : 115-129.

-JOUVE J.L., (1993) : La qualité microbiologique des aliments : maîtrise et critères". Paris : Polytechnica ; 394p.

- GUMUS T., DAGLIOGLI A.M., KONYALI A.M., (2005) : Microbiological quality of cream cakes sold in tekirdag province In Journal of Tekirdag Agricultural Faculty vol. 2 N°3, 215-220

-KIGER J. L., KIGER J. G., (1967) : Techniques modernes de la biscuiterie, pâtisserie-boulangerie industrielles et artisanales et des produits de régime. Dunod. Tome 1. Paris. 696 p.

- LJUPCO Angelovski, Sekulovski Pavle, Jankuloski Dean, Ratkova Marija, Kostova Sandra, Prodanov Mirko, (2010) : QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DES GÂTEAUX ET DES PÂTISSERIES VENDU DANS SKOPJE, MACEDONIA. *Mac. Vet. Rew.* Vol 33, No. 1, 9 – 12.

-MENARD G., EMOND S., SEGIN R., BOLDUC R, BOUDREAU A., MARCOUS D PAINCHAUD M. et POIRIER D., (1992) : La biscuiterie industrielle. In, BOUDREAU A., MENARD G. (1992). Le blé : éléments fondamentaux et transformation. Les presses de l'université Laval. Sainte-Foy. Canada : 287-348. 439 p.

-M'HIR Sana, Mondher MEIRI and Moktar HAMDY, (2007) : Microflora distribution and species ratio of Tunisian fermented doughs for bakery industry African Journal of Biotechnology Vol. 6 (18), pp. 2122-2129.

-MILLET JEAN et CABUT JEAN (1997) : Guide de Bonnes Pratiques d'Hygiène en Pâtisserie - Réalisé par la Confédération Nationale de la Boulangerie et Boulangerie-Pâtisserie Française et par la Confédération Nationale de la Pâtisserie-Confiserie-Chocolaterie-Glacierie de France : 7p

- MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE (2007) : Rapport du groupe de travail PNNS sur les glucides étapes 1 et 2 du mandat, pages : 114-121

- NEYRAT P., GEORGES P., CHRISTOPHE Q., MICHEL M., (2006). Les pâtisseries – le petit Larousse de la cuisine 1800 recettes, Edition 2005, Paris, pages : 963
- NM 08.0.116 (2004). Recherches de salmonella.
- NM 08.0.121(2004). Dénombrement des colonies par comptage de colonies obtenues à 30°C
- NM 08.0.124 (2004). Dénombrements des coliformes thermo-tolérants par comptage des colonies obtenus à 44°C.
- NM 08.01.104, ISO 6888 (2004). Directives générales pour le dénombrement de *Staphylococcus aureus*.
- NM 08.0.125. Dénombrements en anaérobies des bactéries sulfitoréducteur.
- NM 08.0.115. Dénombrements des coliformes totaux par comptage des colonies à 30°C.
- PFAMMATTER E., RAPPORT ANNUEL (2011). Département des finances, des institutions et de la santé Service de la consommation et affaires vétérinaires : 17p.
- SEKINDE Lynette Kindji, (2008) : Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des pâtisseries et repas froids servis par Dakar Catering en 2006 et 2007.Mémoire de DEA de Production Animale.

ANNEXES

Annexe 2

Composition des milieux de culture utilisés

Gélose lactosé au désoxycholate à 0.1%	La quantité en g/l
Peptone pepsique de viande	10
Désooxycholate de sodium	1
Phosphate dipotassique	2
Citrate ferrique ammoniacal	1
Rouge neutre	0.03
Agar agar bactériologique	5

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :7.3+/-0.2

Kligler	g/l
Tryptophane	20
Extrait de viande	3
Autolytique de levure	3
Glucose	1
Lactose	10
Chlorure de sodium	5
Citrate ferrique ammoniacal	0.05
Rouge de phénol	0.025
Agar agar bactériologique	15

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :7.4+/- 0.2

Plate count agar (PCA)	g/l
Tryptone	5
Extrait autolytique de levure	2.5
Glucose	1
Agar agar bactériologique	12

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :7.0+/-0.2

Eau peptonné tamponné	g/l
Peptone	10
Chlorure de sodium	5
Phosphate hydraté	9
Phosphate monopotassique	1.5

pH du milieu à 25°C : 7.0+/-0.2

BAIRD PARKER	g/950 ml
Tryptone	10
Extrait de viande	5
Extrait autolytique de levure	1
Pyruvate de sodium	10
Glycine	12
Chlorure de lithium	5

Agar agar bactériologique	15
---------------------------	----

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :7.2+/-0.2

Hektoen	g/l
Peptone pepsique	12
Extrait autolytique de levure	3
Lactose	12
Saccharose	12
Salicine	2
Sels biliaires	9
Chlorure de sodium	5
Thiosulfate de sodum	9
Citrate ferrique ammoniacal	1.5
Bleu de bromothymol	0.065
Fuchsine acide	0.04
Agar agar bactériologique	13.5

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :7.6+/- 0.2

Bouillon de rappaport vassiliadi (RV)	g/l
Peptone papainique de soja	4.5
Chlorure de sodium	7.2
Phosphate dipotassique	1.26
Chlorure de magnésium anhydre	0.18
Vert malachite (oxalate)	0.036

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :5.2²+/- 0.2

Bouillon cœur-cervelle (BHI)	g/l
Peptone	10
Extrait déshydraté de cervelle de veau	12.5
Extarrie déshydraté de cœur de bœuf	5
Glucose	2
Chlorure de sodium	5
Hydrogéno-orthophosphate dissodique(Na ₂ HPO ₄)	2.5

pH du milieu prêt à l'emploi à 25 °C : 7.4+/- 0.2

Les contrôles qualité des milieux de cultures au LRDEHM de Fès

Ce contrôle est basé sur les manipulations suivantes :

- Effectuer un calibrage de balance.
- Utiliser une eau distillée préalablement contrôlée (pH, conductivité,...)
- Préparer les milieux de cultures dans un champ stérile, à côté d'un bec benzène.
- Utiliser une verrerie contrôlée.
- Dissoudre complètement les composants du milieu préparé.
- Respecter la durée et le temps d'autoclavage.
- Contrôler le niveau d'eau de l'autoclave avant utilisation.
- Contrôler l'efficacité de l'autoclave à chaque stérilisation par le ruban indicateur et mensuellement par l'indicateur biologique (Stérikon).
- Couler les milieux Stérilisés dans un champ stérile.

- Contrôler la stérilité du milieu préparer avant utilisation, par incubation d'une boîte si milieu solide ou d'un tube si bouillon à l'étude à $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 48H.

Annexe 3

Tableau de lecture de la galerie Api 20E

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phényl-galactosidase	B-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pale/jaune	Bleu-vert/vert
H2S	Gélatine de cohen	Production H2S	incolore/grisatre	Dépôt noir/ fin liserié
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA /Immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	IND /2mn, maxi	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoine	VP1+VP2/10mn	
			Incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de kohen	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion des pigments noir
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune

SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre	Cytochrome-oxydase	Ox/5-10 mn	
NO3-NO2	Tube glu	Production de NO2 Réduction au stade N2	NIT 1 +NT2/2-3 mn	
			Jaune	Rouge
			Zn	
			Rouge	Jaune
MOB	Microscope	Mobilité	Immobile	Mobile
MAC	Milieu de mac Conkey	Culture sur	Absence	Présence
OF	Glucose	Fermentation sous huile oxydation :à l'air	Vert Vert	Jaune Jaune
CAT		Possession d'une catalase	H2O2/1-2 mn	
			Pas de bulles	Bulles

Annexe 4

Tableau : Normes microbiologiques relatives aux pâtisseries et aux crèmes pâtisseries (bulletin officiel n° 625-04 du 08 Avril 2004) :

DESIGNATION		FMAT	C.T	C.F	<i>S.aureus</i>	A.S.R	<i>Salmoella</i>
Pâtisseries, crèmes pâtisseries	M	3.10 ⁶	10 ⁴	10	10 ³	10 ²	Absence

➤ M : Seuil limite de conformité exprimer par UFC /g, au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme conformes, sans que pour autant le produit soit considéré comme toxique.