



LABORATOIRE DE BIOTECHNOLOGIE
MICROBIENNE
UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN
ABDELLAH
Faculté des Sciences et Techniques Fès



DIRECTION REGIONALE DE LA SANTE
FES - BOULMANE
LABORATOIRE REGIONAL DE
DIAGNOSTIC EPIDEMIOLOGIQUE ET
D'HYGIENE DU MILIEU DE FES

PROJET DE FIN D'ETUDES

Master de Biotechnologie Microbienne

EVALUATION BACTERIOLOGIQUE DES EAUX ET DES ALIMENTS DESSERVIES EN MILIEU HOSPITALIER A FES ET TESTS DE SENSIBILITE SUR LES GERMES ISOLES

Présenté par : M^{me} OUDRHIRI SAFIANI Meryam

Encadré par :

- ❖ M^{me} ZBADI L.
- ❖ Dr EL OUALI LALAMI A.
- ❖ Pr RACHIQ S.

Soutenu le : 25 Juin 2011

Devant le jury composé de :

- Dr EL OUALI LALAMI A. -----Encadrant.
- M^{me} ZBADI L. -----Encadrante.
- Pr RACHIQ S. -----Encadrant.
- Dr BENNANI L. -----Examinatrice.
- Pr AANANOU ----- Examineur.

Année universitaire 2010-2011



DEDICACES



Ce mémoire est dédié à tous ceux qui dépensent pour la santé. Qu'ils comprennent par ce travail que :

« La santé est un droit »

« Les dépenses de santé sont un devoir »

et qu'il faut chercher à les réduire le plus possible tant que nous le pouvons



Je tiens à dédier ce modeste travail à :

Mes très et très chers parents

J'ai toujours attendu avec une grande impatience ce jour où de manière solennelle et devant mes professeurs et amis, je vous témoignerai de toute la gratitude d'une fille qui s'est toujours vanté de vous avoir comme père et mère.

Aucune dédicace n'est susceptible de vous exprimer la profondeur de mon amour, de mon estime et l'infinie reconnaissance pour tous les sacrifices consentis avec dévouement pour mon éducation et mes longues années d'études.

Ce travail, est le fruit de toutes les peines et tous les sacrifices que vous m'avez cessé de déployer.

Que Dieu le tout puissant, vous comble de santé, de prospérité et vous accorde une longue vie afin que je puisse vous combler à mon tour...

Mon mari Simohammed

Tes prières m'ont toujours accompagné, je t'offre en guise de reconnaissance, ce travail qui, sans ton aide, ta générosité infinie, tes encouragements n'aurait vu le jour.

Nulle dédicace ne pourrait exprimer mes sentiments et mon profond attachement.

Que Dieu le tout puissant nous accorde un avenir meilleur.

Mon frère simohammed et sa femme Lamiae

Quoique je fasse, je ne pourrai vous récompenser pour tous les sacrifices que vous avez faits pour moi.

Que ce travail soit l'expression de mon attachement, mon profond amour, mon affection et mes sentiments fraternels les plus sincères que j'ai pour vous.

Puisse ALLAH vous procurer santé et longue vie pleine de succès et de bonheur.

Mon neveu Ali

Avec tout l'amour que je te porte.



Mes beaux parents

Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous.

Vos prières, vos encouragements et votre soutien m'ont toujours été d'un grand secours.

Puisse Dieu, le tout puissant vous préserver du mal, vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

Ma belle famille

Je vous remercie tout particulièrement pour votre soutien et affection.

Puissiez-vous trouver dans ce travail le témoin de mon affection et estime.

Toute ma famille

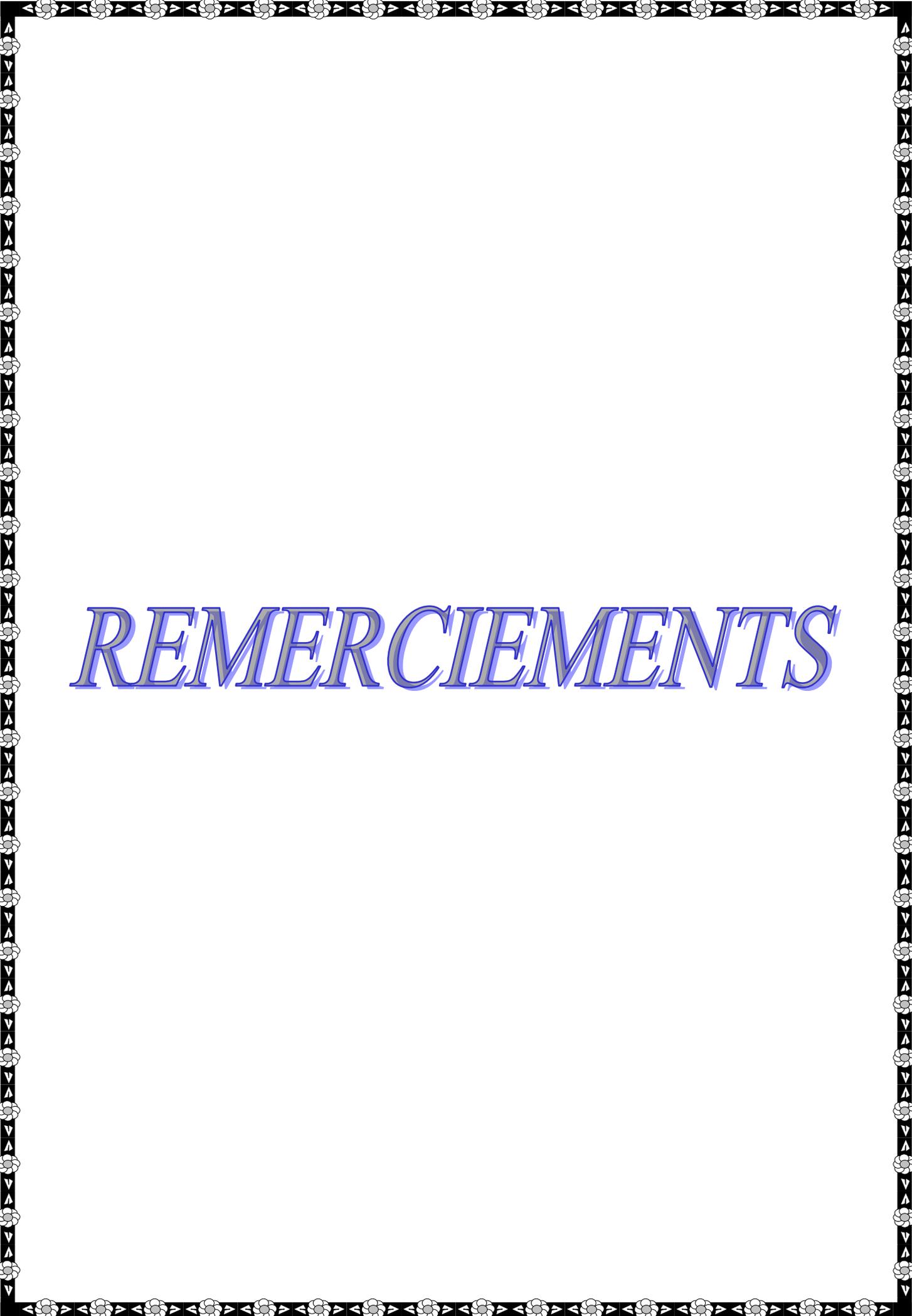
C'est avec beaucoup d'émotions que je vous dédie ce travail Qu'il soit un symbole de mon grand respect et mon profond amour.

Mes amies d'études et mes collègues

En souvenir des moments agréables que j'ai partagé avec vous, je vous dédie ce travail avec tous mes respects, mes vœux de réussite et de bonheur.

Que ce travail soit le témoignage des sentiments fraternels que j'ai pour vous.





REMERCIEMENTS



A MON ENCADRANT

MONSIEUR EL OUALI LALAMI.A

Docteur chef du laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'hygiène du milieu de Fès.

Vous m'avez accordé un immense honneur et un grand privilège en acceptant de diriger ce travail.

Votre culture, votre compétence professionnelle incontestable ainsi que vos qualités humaines vous valent l'admiration et le respect de tous.

Vos conseils et vos orientations nous ont été très précieux, nous espérons être digne de votre confiance.

Vous serez pour nous l'exemple de rigueur et de droiture dans l'exercice de la profession.

Je vous prie, cher Docteur, d'accepter dans ce travail le témoignage de notre haute considération, de notre profonde reconnaissance et de notre sincère respect.



Je tiens tout particulièrement à remercier M^{me} ZBADI Latifa responsable de l'unité hygiène hospitalière qui m'a procuré l'aide nécessaire pour l'élaboration de ce travail. Mes vifs remerciements pour l'intérêt qu'elle a bien voulu m'accorder pour ses conseils avisés, pour sa disponibilité tout au long de mon stage, très touchée par sa gentillesse et ses qualités humaines.



A MON RESPONSABLE DE FILIERE

Mr IRAQUI .M

Votre gentillesse, votre compétence et vos qualités humaines n'ont cessé de susciter notre grande admiration tout au long de ces deux années universitaires.

Veillez trouver ici, cher Professeur, le témoignage de notre grande estime et de notre sincère reconnaissance.

A MON ENCADRANT

PROFESSEUR RACHIQ.S

Je tiens à vous exprimer toute notre reconnaissance pour l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de nous encadrer.

Veillez accepter, cher professeur, nos vifs remerciements et notre profonde gratitude pour l'aide précieuse que vous avez accordé pour réaliser ce travail.





A MES EXAMINATEURS
MONSIEUR AANANOU et Dr BENNANI

Je vous remercie vivement de l'honneur que vous nous faites en siégeant dans ce jury. Vos jugements seront d'une grande valeur dans l'appréciation de ce travail.

Je vous prie, d'accepter nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance.

AUX PERSONNELS DU LABORATOIRE
M^{me} BENNANI.L, M^{me} BERRADA.S
Mr. SABRI.H ET Mr. AABOUCH.M

Je vous remercie infiniment pour toute l'aide que vous nous avez généreusement prodiguée dans l'élaboration de ce travail.

J'ai été particulièrement touchée par la simplicité, la gentillesse et l'amabilité avec laquelle vous nous avez réservé au cours de l'accomplissement de ce travail.

Veillez croire à notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements.

A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.

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





LABORATOIRE REGIONAL DE DIAGNOSTIC EPIDEMIOLOGIQUE ET D'HYGIENE DU MILIEU DE LA VILLE DE FES

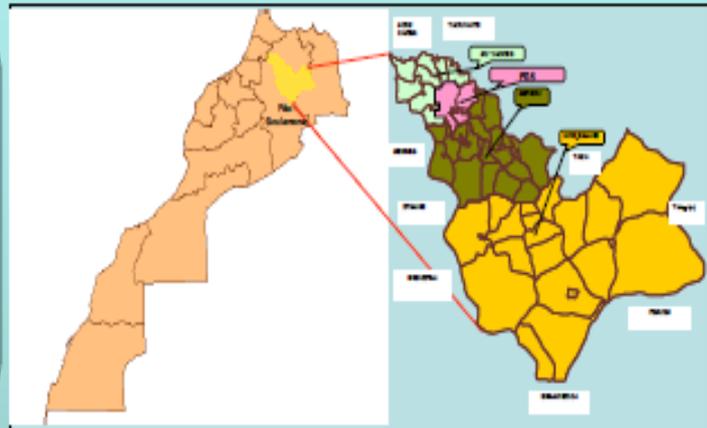


HISTORIQUE

En 1977 Le Ministère de la Santé a créé des laboratoires "à visée préventive" : les Laboratoires de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu (LDEHM). Ils constituent une structure d'appui indispensable pour la surveillance épidémiologique des maladies infectieuses et transmissibles et pour les programmes sanitaires du Ministère de la Santé dans le cadre de l'Hygiène de l'environnement.

Actuellement il existe 42 LDEHM, Le laboratoire de Fès fait partie des 11 laboratoires régionaux qui ont vu le jour à partir des années 80. Il est implanté à l'Hôpital EL GHASSANI et est individualisé des Laboratoires d'analyses cliniques et de transfusion.

SITUATION GÉOGRAPHIQUE DE LA VILLE DE FÈS



Organisation fonctionnelle du LRDEHM

LABORATOIRE REGIONAL DE DIAGNOSTIC EPIDEMIOLOGIQUE ET D'HYGIENE DU MILIEU DE FES

Cellule d'Assurance Qualité et de Statistique

Cellule de Santé et Environnement

Unité d'Hygiène

- Analyses microbiologiques des eaux et des aliments,
- Analyses microbiologiques de l'environnement hospitalier.

Unité de toxicologie

- Analyses physicochimiques des eaux,
- Toxicologie des aliments (Recherches aflatoxines par GC/MS).

Unité des Maladies Parasitaires

- Microscopie du paludisme, de leishmaniose cutanée et de bilharziose,
- Diagnostic Immunologique du paludisme.

Unité d'Entomologie

- Identification de moustiques,
- Suivi de la sensibilité OMS des insectes aux pesticides.

Mission du LRDEHM

- Soutien au programme de prévention et de lutte contre les maladies infectieuses et transmissibles,
- Appui technique (Diagnostic et confirmation des maladies) pour les structures de soins de santé de base (RSSB).

Rattachement du LRDEHM

Le LRDEHM est rattaché au SIAAP et à la Direction Régionale de la Santé de Fès. Il est également en étroite relation avec l'Institut National d'Hygiène et la Direction d'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies de Rabat.

Assurance qualité au LRDEHM

- Une politique d'assurance qualité est mise en œuvre par le LRDEHM pour obtenir et garantir la qualité des analyses (ISO 9001, ISO 15189, ISO 17025, ISO 9000).
- Un système statistique informatisé est mis en place par le LRDEHM pour le traitement des résultats des analyses.

Clients du LRDEHM

Le LRDEHM couvre les besoins des délégations médicales des provinces et préfectures de la région Fès-Boulemane (Centres de santé, Hôpitaux provinciaux, Services Préfectoraux d'Hygiène du Milieu, Centre de santé aux montagnes) ainsi que ceux des Bureaux Communaux d'Hygiène, CHU Hassan II.

Perspectives

- > Structurer la collaboration et la coopération du laboratoire avec son environnement (OMS, FAO, UNICEF, etc.)
- > Développer et réaliser des études épidémiologiques en relation avec ses activités
- > Installer d'autres analyses:
 - Analyses toxicologiques de l'eau (recherches des pesticides et métaux lourds...),
 - Parasitologie des eaux,
 - Sérologie et PCR du paludisme,
 - Entomologie du phénotype vecteur des leishmanioses.

Future construction du Laboratoire Régional de Diagnostic Parasitologique et d'Hygiène du Milieu





LISTE DES ABREVIATIONS

Liste des abréviations

ASR	: Anaérobies sulfito-réducteurs
BP	: Baird Parker
CF	: Coliformes Fécaux
CLAN	: Comité de Liaison Alimentation Nutrition
CT	: Coliformes Totaux
DRS	: Direction Régionale de la Santé
<i>E .coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
FMAT	: Flore Mésophile Aérobie Totale.
HACCP	: Hazard Analysis Critical Control Point (Analyse des dangers et points critiques pour leur maîtrise).
LRDEHM	: Laboratoire Régional De Diagnostic Epidémiologique et Hygiène du Milieu.
NM	: Norme Marocaine
<i>P.aeruginosa</i>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Staph. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
SPS	: Sulfadiazine-polymyxine- sulfite
<i>Salmonella spp</i>	: <i>Salmonella</i> sans propriété
SM	: Suspension mère
SUH	: Syndrome Urémique Hémolitique
SPHM	: Service Préfectoral d'Hygiène du Milieu
SHH	: Service d'Hygiène Hospitalière
TIAC	: Toxi-infection alimentaire collective
UFC	: Unité formant colonies
VP	: Voges-Proskauer



LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Bactéries responsables de cas de TIAC et pathologies associées. (p : 23-24)

Tableau 2 : Méthodes d'analyses microbiologiques (milieux de culture, conditions d'incubation...) des denrées alimentaires.

Tableau 3 : Liste des antibiotiques vis-à-vis des germes isolés. (p : 43)

Tableau 4: valeurs minimales, maximales et moyennes des microflores analysées au niveau des échantillons d'aliments en UFC/g. (p : 57)

Tableau 5: Valeurs moyennes des germes par rapport à l'eau du réseau traitée (p : 62).

Tableau 6: Résistance d'*E. coli* aux différents antibiotiques testés. (p : 64)

Tableau 7 : Résistance de *Staph. aureus* aux différents antibiotiques testés. (p : 65)

Tableau 8: Résistance de *Salmonella spp* aux différents antibiotiques testés. (p : 66)

Tableau 9: Résistance de *P. aeruginosa* aux différents antibiotiques testés. (p : 67)

Tableau 10: Spécifications des eaux d'alimentation humaine : Paramètres à effet sanitaire. (p : 81)



LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Aliments responsables ou suspectés de TIAC par *Staphylococcus aureus* (p : 20).

Figure 2 : Les principales composantes de la qualité d'un aliment (p : 27).

Figure 3 : Pourcentage des analyses des aliments réalisées au LRDEHM entre 2000 et 2010. (p : 47)

Figure 4 : Pourcentage de la non conformité par classe d'aliments entre 2000 et 2010. (p : 47)

Figure 5: Nombre des échantillons d'eau analysés au LRDEHM entre 2000 et 2010. (p : 48)

Figure 6 : Evolution annuelle du nombre des analyses d'aliments et du nombre de la non-conformité entre 2000 et 2010. (p : 49)

Figure 7 : Evolution annuelle du nombre des analyses d'eau et de la non-conformité entre 2000 et 2010. (p : 50)

Figure 8 : Evolution mensuelle moyenne des analyses des aliments enregistrés au LRDEHM entre 2000 et 2010. (p : 50)

Figure 9: Evolution mensuelle de la non-conformité des échantillons d'aliments Analysés au LRDEHM entre 2000 et 2010. (p : 51)

Figure 10: Evolution mensuelle moyenne des analyses d'eau du réseau enregistrées au LRDEHM entre 2000 et 2010. (p : 52)

Figure 11: Répartition de nombre des analyses des aliments et de la non conformité des échantillons entre 2000 et 2010 en fonction des hôpitaux Al Ghassani et Ibn Al Khatib. (p : 53)

Figure 12: Répartition du nombre d'analyses d'eau potable et de la non-conformité en fonction des hôpitaux Al Ghassani et Ibn Al khatib. (p : 53)

Figure 13 : Pourcentage de contamination des microorganismes dans les aliments. (p : 54)

Figure 14 : Variation de la non-conformité des échantillons alimentaires par rapport aux germes suspectés. (p : 54)

Figure 15 : Répartition des échantillons d'eau et d'aliments prélevés des deux hôpitaux Al Ghassani et Ibn Al khatib et analysés au LRDHEM. (p : 55)

Figure 16: Répartition des différents types de préparations alimentaires non conformes. (p : 56)

Figure 17 : Pourcentage de la contamination des aliments par les microorganismes.
(p : 60)

Figure 18 : Evolution mensuelle des analyses et de la non-conformité des aliments analysés entre le mois de Février et Mai 2011. (p : 61)

Figure 19: Répartition des échantillons par classe de contamination. (p : 61)

Figure 20: Antibiogramme montrant l'activité des antibiotiques sur *E. coli* (p : 63).

Figure 21: Antibiogramme montrant l'activité des antibiotiques sur *Staph. aureus* (p : 64).

Figure 22: Antibiogramme montrant l'activité des antibiotiques sur *Salmonella spp.*
(p : 66)

Figure 23: Antibiogramme montrant l'activité des antibiotiques sur *P. aeruginosa*.
(p : 67)



SOMMAIRE

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. LES ASPECTS HISTORIQUES DE L'ALIMENTATION À L'HÔPITAL	4
II. L'EAU DU RESEAU À L'HÔPITAL	4
1. La disponibilité de l'eau à l'hôpital	4
1.1. La potabilité de l'eau	4
1.2. L'eau à usage alimentaire	5
2. La consommation d'eau à l'hôpital	5
3. Identification des dangers microbiologique : les facteurs de contamination de l'eau	6
4. L'analyse des risques microbiologiques : Les zones à risques infectieux	7
4.1. Les germes responsables	8
5. Evaluation des risques	11
6. Gestion des risques	12
6.1. La maîtrise microbiologique de l'eau du réseau	12
6.1.1. Surveillance	12
6.1.2. Enquête sanitaire	12
III. L'ALIMENTATION A L'HÔPITAL	13
1. La qualité de l'alimentation	13
2. Une exigence absolue en milieu hospitalier	13
3. Impact sur la santé	14
3.1. L'intoxication	14
3.2. Germes responsables	15
3.2.1. Entérobactéries	15
3.2.2. <i>Staph. aureus</i>	19
3.2.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	21
3.2.4. <i>Clostridium perfringens</i>	21
4. Situation épidémiologique dans le monde et au Maroc	25
5. La maîtrise des risques, une préoccupation essentielle du gestionnaire hospitalier	25
5.1. L'émergence d'un « droit à la sécurité »	25
5.2. La responsabilité du gestionnaire hospitalier	26
6. Instaurer un système d'assurance de la qualité dans la fonction restauration	26
6.1. La nécessité d'une approche de qualité globale	26
IV. ANTIBIOGRAMME	28
1. Définition	28
2. Principe	28
3. Intérêt de l'antibiogramme	28
MATERIEL ET METHODES	
I. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE RETROSPECTIVE SUR LA QUALITE BACTERIOLOGIQUE EN RESTAURATION HOSPITALIERE	30
1. Lieu et période d'étude	30
2. Matériel	30
3. Analyse statistique des données	30
II. ETUDE PROSPECTIVE SUR LA QUALITE BACTERIOLOGIQUE EN	31

RESTAURATION HOSPITALIERE DE L'HOPITAL AL GHASSANI ET IBN AL KHATIB DE FES

1. Cadre d'étude	31
2. Les analyses microbiologiques	31
2.1. Objectif	31
2.2. Matériel	32
2.3. Germes recherchés pour les analyses des denrées alimentaires	32
2.4. Germes recherchés pour l'analyse de l'eau du réseau traitée	32
2.5. Echantillonnage	32
2.6. Prélèvements des échantillons	32
2.7. Acheminement des échantillons au laboratoire	32
3. Techniques d'analyses bactériologiques des denrées alimentaires	32
3.1. Préparation de l'échantillon pour l'analyse	32
3.2. Techniques d'analyses bactériologiques	33
3.2.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale	34
3.2.2. Dénombrement des coliformes fécaux	35
3.2.2.1. Dénombrement des coliformes fécaux par méthode de comptage des colonies	35
3.2.2.2. La recherche d' <i>E.coli</i>	36
3.2.3. Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	38
3.2.4. Dénombrement des Anaérobies sulfito-réducteurs (méthode en tubes)	39
3.2.5. La recherche des salmonelles	39
4. Techniques d'analyses pour le contrôle bactériologique de l'eau potable	40
4.1. Exigences de qualité	40
4.2. Prélèvement des échantillons d'eau	40
4.3. Préparation des échantillons	40
4.4. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux : méthode par filtration sur membrane	41
4.5. Dénombrement des microorganismes revivifiables à 22°C et 37°C	41
4.6. Dénombrement des streptocoques fécaux	41
4.7. Recherche de <i>Clostridium</i>	42
III. ETUDE DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES ISOLEES DES ALIMENTS PAR ANTIBIOGRAMME	42
1. Matériel	42
1.1. Milieu utilisé	42
1.2. Isolats testés	42
1.3. Antibiotiques utilisés	43
2. Méthode	43
2.1. Préparation de l'inoculum	44
2.2. Ensemencement des boites	44
2.3. Disposition des disques	44
2.4. Lecture et interprétation des résultats	44
RESULTATS ET DISCUSSION	45
I. Etude épidémiologique rétrospective sur la qualité bactériologique en restauration hospitalière	46

1. Répartition des analyses des aliments réalisées au LDRHEM par classes d'aliments	46
2. Répartition de la non-conformité par classe d'aliments	47
3. Analyse de l'eau du réseau traitée en provenance de la cuisine des hôpitaux	48
4. Répartition spatio-temporelle des analyses des échantillons	49
4.1 Evolution annuelle	49
4.2. Evolution mensuelle	50
4.3. Répartition des échantillons selon les hôpitaux	52
5. Variation du nombre de la non- conformité des aliments en fonction des germes suspects	54
II. Etude prospective sur La qualité bactériologique en restauration hospitalière de l'hôpital Al Ghassani et Ibn Al Khatib de Fès	55
1. Variation de la contamination par classe d'aliments	55
2. Etude des dénombrements bactériens dans les échantillons d'aliments analysés.	56
2.1. Flore mésophile aérobie totale	56
2.2 Coliformes totaux	57
2.3. Coliformes fécaux	57
2.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	58
2.5. Les anaérobies sulfito-réducteurs	59
2.6. Les Salmonelles	59
3. Variation mensuelle de la contamination	60
4. Répartition des échantillons alimentaire par classe de contamination	61
5. Etude des dénombrements bactériens dans les échantillons d'eau analysés	62
III. Etude de la sensibilité des souches isolées des aliments par antibiogramme	62
1. Antibiorésistance des souches alimentaires	63
1.1. <i>E. coli</i>	63
1.2. <i>Staph. aureus</i>	64
1.3. <i>Salmonella spp</i>	65
1.4. <i>P. aeruginosa</i>	66
CONCLUSION GENERALE	68
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	71
ANNEXES	81
RÉSUMÉ	102



INTRODUCTION GENERALE

La qualité d'un aliment est une association de quatre composantes : la qualité hygiénique, la qualité nutritionnelle, la qualité hédonique et la qualité de service. L'hygiène dans le secteur alimentaire est d'une importance capitale en milieu hospitalier. En effet, les micro-organismes peuvent proliférer et atteindre un seuil dangereux dans les cuisines où règnent des conditions de croissance optimale, c'est à dire une humidité relativement importante et une température élevée.

Par ailleurs, du fait de sa maladie, le patient est plus sensible aux toxi-infections alimentaires que les autres groupes de la population. Ainsi, des aliments préparés selon des règles d'hygiène moins strictes peuvent l'infecter ou l'intoxiquer, alors que cela ne serait pas le cas dans une population saine. C'est pourquoi les règles d'hygiène doivent être respectées d'une façon particulièrement stricte dans les cuisines où sont préparés les repas destinés aux établissements de soins (**Majjou, 2006 ; Hygis, 1998**).

Les infections transmises aux patients et aux corps soignants par les aliments (salmonellose, listériose, campylobactériose, yersiniose, toxoplasmose, infections virales) persistent dans le milieu hospitalier. L'importance de leur maîtrise est justifiée, d'une part, par leur impact sur la santé des patients déjà fragilisés, et d'autre part, par le coût des infections qu'elle peut engendrer (Infection Nosocomiale). Le risque infectieux d'origine alimentaire en milieux hospitalier est une association de cinq facteurs, à savoir la fragilité des consommateurs (patients), la contamination du produit, l'amplification et/ ou la contamination en unité de soins, la virulence du germe et la quantité de germes ingérés (**Decade, Marty et al. 2005**).

En effet, la question de sécurité sanitaire des aliments est devenue, aujourd'hui, un enjeu majeur de santé publique au sein de notre société. Malgré le progrès technologique enregistré, la population est devenue beaucoup plus soucieuse et ce en raison à la fois de : l'émergence de nouveaux modes de production, de l'ouverture des frontières et du développement des systèmes d'information.

En milieu hospitalier, eu égard aux nombreux facteurs inhérents aux spécificités de ce contexte, le problème de sécurité alimentaire se pose avec beaucoup plus d'acuité et de rigueur. En effet, bien que la fréquence des toxi-infections alimentaires,

survenant dans les hôpitaux, est à l'heure actuelle mal connue, du fait à la fois de la banalité des signes digestifs chez les patients hospitalisés, et de l'absence de déclarations. Néanmoins, ce risque demeure inéluctable (**Hygis, 1998**).

A l'hôpital, le risque de toxi-infections alimentaires, qu'il soit déclaré ou caché, nous intrigue toujours et cela en raison de la fragilité des consommateurs, des particularités microbiologiques du milieu, de la nature des denrées et surtout de la négligence des mesures d'hygiène tout au long du circuit de restauration (**Majjou, 2006**).

Dans un ouvrage récent, traitant la sécurité et vigilance alimentaire à l'hôpital **Cosson (2002)**, réaffirme que la sécurité et la vigilance alimentaire représentent non seulement un sujet brûlant d'actualité mais aussi une exigence aux multiples enjeux et un véritable atout concurrentiel pour les organisations de santé.

La restauration est demeurée longtemps « le parent pauvre » des stratégies de développement des établissements de santé. Elle a été considérée comme une mission secondaire de l'hôpital, alors qu'elle occupe une importance capitale, soit pour l'économie, soit pour l'image de marque de l'établissement (**Majjou, 2006**).

C'est dans ce cadre que s'inscrit la présente étude qui a pour objectif d'évaluer l'état hygiénique ou bactériologique de l'eau du réseau et des denrées alimentaires par la recherche des bactéries pathogènes notamment *Salmonella* et *Staphylococcus aureus*. En plus, Nous avons réalisé un antibiogramme afin de tester la sensibilité de ces germes vis-à-vis des antibiotiques. Ainsi, proposer quelques solutions susceptibles de contribuer à favoriser et renforcer la sécurité et la qualité des repas servis à l'hôpital Al Ghassani et Ibn Al Khatib de Fès, et aider par conséquent à l'amélioration de l'image de marque de ces établissements de santé.

Il convient de préciser au début de cette étude, que l'attention sera focalisée sur la qualité hygiénique de l'alimentation des patients et que l'on s'intéresse seulement au volet hygiénique tout en espérant que l'aspect nutritionnel et organoleptique fera l'objet d'autres études ultérieures.



REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. LES ASPECTS HISTORIQUES DE L'ALIMENTATION À L'HÔPITAL.

Anne Nardin (1997) distingue trois étapes qui jalonnent l'histoire de l'alimentation en milieu hospitalier.

La première, se déroulant du Moyen Âge à la fin du XVIIIe siècle, se caractérise par l'influence du contexte religieux. L'hôpital est administré par des communautés monastiques qui accueillent les plus démunis. L'alimentation, plus ou moins copieuse selon les ordres s'occupant des malades, est spiritualisée, «vécue comme un don, absorbée dans la louange». Le don de la nourriture représente l'acte de charité par excellence. Le repas du malade s'affirme un rituel aussi important et théâtralisé que les offices religieux.

S'ajoute à cela, le fait qu'au moyen âge et jusqu'au XVIIIe siècle il paraît difficile de distinguer entre le diététique et le culinaire, d'autant que la religion intervient également de manière fondamentale (**Claude Fischler, 1989**). Les médecins du moyen âge affirment que l'alimentation est essentielle à la fois pour préserver la santé et pour soigner les malades.

La maladie est considérée comme le résultat d'un déséquilibre humoral et l'alimentation comme le moyen de rétablir ou de maintenir l'équilibre.

II. L'EAU DU RÉSEAU À L'HÔPITAL

1. La disponibilité de l'eau à l'hôpital

1.1. La potabilité de l'eau

L'eau doit être disponible en permanence en quantité et en qualité. Sa potabilité, fortement influencée par son origine, doit pouvoir être garantie. Deux situations sont possibles :

1. l'eau provient d'un réseau de distribution et sa potabilité est régulièrement contrôlée. Il n'est pas nécessaire dans ce cas que l'hôpital procède à ses propres contrôles (pour éviter des dépenses inutiles) mais les résultats des analyses régulièrement pratiquées par l'organisme distributeur doivent être communiqués.

2. l'eau provient d'un forage propre à l'hôpital ou d'un réseau de distribution qui ne peut pas garantir sa potabilité. Dans ce cas, l'eau doit être systématiquement traitée par le chlore. L'efficacité de ce traitement doit être régulièrement contrôlée par un dosage du chlore (**Ragon, 2006**).

1.2. L'eau à usage alimentaire

Elle est encore appelée " eau potable " ou " eau destinée à la consommation humaine " est habituellement disponible, dans un hôpital, à partir d'un réseau de distribution publique. Cette eau alimente ensuite un réseau de canalisations intérieures à l'établissement. L'eau délivrée à chaque robinet est de l'eau froide 25°C n'ayant pas subi de traitement ultérieur (adoucissement, traitement filmogène ...).

L'eau à usage alimentaire peut aussi être délivrée par une fontaine réfrigérante ou provenir d'eau conditionnée, encore appelée " eau emballée " du commerce (**Ragon, 2006**).

L'eau à usage alimentaire est utilisée à l'hôpital pour :

- la boisson des patients,
- la boisson des personnels et des visiteurs,
- la confection des biberons,
- la cuisine, la préparation des repas.

2. La consommation d'eau à l'hôpital

Elle est particulièrement importante dans un établissement de soins. Elle est estimée à sept cent cinquante litres en moyenne par lit et par jour avec des variations de cent trente à mille trois cent litres, selon la taille de l'établissement. On évalue à 40% l'utilisation d'eau par le secteur d'hospitalisation et la technique médicale et à 60% par les services généraux, tels que la blanchisserie et la cuisine (**Squinazi et al. 1998**).

L'eau du réseau de distribution est utilisée pour des usages très diversifiés ; ceci justifie de définir des objectifs de qualité adaptés à ces différents usages, la potabilité étant critère minimal demandé.

Les risques sanitaires liés à l'utilisation d'eau à l'hôpital sont d'abord des risques microbiologiques (bactérie, parasite..), plus rarement des risques chimiques.

Les microorganismes présents dans l'eau ou colonisent les installations techniques peuvent être directement responsables d'effets pathologiques à court terme et/ou participer à la contamination intra-hospitalière et à l'émergence d'infections nosocomiales. Il s'avère ainsi indispensable d'évaluer les risques liés à chacune des utilisations de l'eau et de maîtriser, de manière adaptée et cohérente, sa qualité en fonction des ses différents usages (**Squinazi et al. 1998**).

3. L'identification des dangers microbiologiques : Les facteurs de contamination de l'eau

La dégradation de la qualité microbiologique de l'eau peut survenir à tout moment entre le lieu de production et le robinet de l'utilisateur. Elle peut être liée à une prolifération de micro-organismes présents, voire à une contamination dans les réservoirs, dans les canalisations publiques ou dans les réseaux intérieurs de distribution. L'étendue et la complexité des réseaux intérieurs, la formation d'un biofilm à l'intérieur des canalisations. La présence de points de stagnation de l'eau (espaces morts, robinets et brise-jets, pommeaux de douche, adoucisseurs, ballons de stockage...). La réalisation de travaux en l'absence d'une désinfection efficace, contribuent à la prolifération des micro-organismes présents dans l'eau. La contamination des équipements périphériques par des micro-organismes de la flore hospitalière participe également à la contamination microbiologique de l'eau distribuée (**Alary, 1991**).

Les micro-organismes thermophiles, par exemple les légionelles, sont, en outre, favorisés par une température de l'eau entre 25 et 42°C, la dureté de l'eau (concentrations élevées de calcium et de magnésium), la présence de résidus métalliques comme le fer, le cuivre ou le zinc (**Alary, 1991**).

Dans une canalisation, les matières organiques dissoutes dans l'eau se déposent sur les parois et forment un film conditionnant composé de macromolécules nutritives.

Les caractéristiques de surface ainsi que la rugosité du matériau peuvent influencer la formation de ce film conditionnant.

Les bactéries, apportées en permanence par le flux liquide, entrent en contact avec la paroi grâce aux mouvements, turbulences et à la stagnation de l'eau.

L'adhésion bactérienne dépend de la nature du matériau, de l'espèce bactérienne et des conditions environnementales. Des forces physiques, de type Van der Waals, ou électrostatiques assurent l'adhésion de la première couche bactérienne qui est renforcée par la sécrétion par les bactéries de polymères exocellulaires, composés de protéines et de polysaccharides, permettant ainsi de fixer les cellules bactériennes à la paroi, rapport continu par le flux liquide d'oxygène et de substances nutritives (carbone organique dissous biodégradable par la flore bactérienne du réseau) entraîne la croissance bactérienne sous forme de microcolonies (**Mathieu, Sibille, Hartemann, 1998**). .

Ce développement bactérien et l'adhésion d'autres micro-organismes sur la paroi de la canalisation aboutissent à un biofilm, ensemble de microorganismes, vivants et morts, enrobés dans une matrice de polymères exocellulaires synthétisés par les bactéries et de particules organiques et minérales de l'eau. L'épaisseur du biofilm augmente avec l'âge de celui-ci et avec l'intégration d'autres microorganismes; il dépend aussi des conditions d'écoulement dans la canalisation, de la température de l'eau, de la concentration en carbone organique dissous biodégradable, de la saturation en oxygène et de l'arrachage par le flux d'eau circulant (**Mathieu, Sibille, Hartemann, 1998**).

4. L'analyse des risques microbiologiques : Les zones à risques infectieux

Lors de l'utilisation de l'eau dans un établissement de Santé, les micro-organismes de la flore microbienne de l'eau dits « pathogènes opportunistes » peuvent représenter un risque infectieux nosocomial pour les patients fragilisés. Cette fragilité des patients hospitalisés est liée notamment à leur âge (personnes âgées, prématurés), à une affection sous-jacente (insuffisance cardiaque, hépatique, respiratoire...), à une immunodépression (aplasie, greffe, cancer, virus de l'immunodéficience humaine...), à

leur traitement (chimiothérapie, anticancéreuse, corticothérapie, radiothérapie...), ou a une effraction des barrières cutanéomuqueuses (manœuvres invasives, brûlures...).

La contamination peut avoir lieu par voie digestive, par ingestion d'eau contaminée, par voie respiratoire, par inhalation de bioaérosols, par contact cutanéomuqueux autour d'un bain ou de soins, ou par voie parentérale lors d'une dialyse (**Hartemann et Kramer, 1998**).

4.1. Les bactéries pathogènes d'origine hydrique

L'ingestion d'une eau de distribution publique contaminée par des micro-organismes fécaux (entérovirus, *Salmonella*, *Escherichia coli*...), responsables de diarrhées ou de gastro-entérites, peut être redoutable pour des patients hospitalisés (**Leclerc et al., 1982**).

La flore microbienne « pathogène opportuniste » de l'eau distribuée dans un établissement de santé est composée de : (**Squinazi, 1998 et Groupe eau Santé, 1998**).

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

La bactérie *P. aeruginosa* est une bactérie à Gram négatif qui se développe dans des milieux très variés souvent humides comme l'eau, le sol et les végétaux et dans une large gamme de température allant de + 4°C à + 41°C. Elle peut aussi se retrouver à l'état commensal dans l'organisme au niveau de la peau et dans le tube digestif (**Avet-Rochex, 2005**).

P. aeruginosa n'est pas un pathogène pour l'homme en bonne santé, c'est un opportuniste, fréquemment retrouvé dans les infections nosocomiales. Cette bactérie est en effet responsable de 16% des pneumonies nosocomiales, 12% des infections du tractus urinaire acquises à l'hôpital, 8% des infections liées aux interventions chirurgicales et 10% des infections du flux sanguin (**Van Delden et Iglewski, 1998; Lyczak et al., 2000**).

Elle infecte généralement les personnes ayant une déficience du système immunitaire comme les grands brûlés, les personnes atteintes du SIDA (Syndrome d'Immuno Déficience Acquise), les individus souffrants de cancers neutropéniques et

surtout les malades atteints de la mucoviscidose. La colonisation rapide chez les grands brûlés conduit à la septicémie.

Chez les personnes souffrant de mucoviscidose, *P. aeruginosa* peut se développer et coloniser l'arbre trachéo-bronchéal. 90 % des patients atteints de cette maladie génétique meurent d'une infection chronique à *P. aeruginosa*.

Cette bactérie a développé des mécanismes de résistance à de nombreux antibiotiques et elle est capable de s'adapter à de nouveaux environnements dont ceux liés à l'activité humaine (canalisations, siphons, milieu hospitalier...), ce qui en fait l'un des pathogènes responsables d'infections nosocomiales les plus redoutés (**Amélie AVET-ROCHEX., 2005**).

➤ *Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie que l'on trouve seulement dans le tractus digestif des animaux à sang chaud et des êtres humains. C'est pourquoi l'industrie de l'eau potable s'en sert comme indicateur certain d'une contamination récente de l'eau par des matières fécales. Même si la plupart des souches d'*E. coli* ne sont pas pathogènes, certaines peuvent causer de graves maladies diarrhéiques chez les êtres humains. Les *E. coli* pathogènes sont subdivisés en six groupes en fonction de leurs caractéristiques sérologiques et de leur virulence : entérohémorragique, entérotoxigène, entéroenvahissant, entéro-pathogène, entéroagglutinant et d'adhésion diffuse (**Apha et al., 1998; Rice, 1999**). On a incriminé une souche entérohémorragique, soit *E. coli* O157:H7, dans beaucoup d'éclotions d'origine alimentaire et quelques-unes d'origine hydrique. On a identifié cette souche pour la première fois en 1982 lorsqu'on l'a associée à deux éclotions de diarrhée sanglante et de crampes abdominales d'origine alimentaire (**Gugnani, 1999**). On a déterminé que le principal réservoir de cette bactérie était le bétail en bonne santé (**Jackson et al., 1998**). Dans les cas de transmission d'origine alimentaire, les éclotions découlent en général de la consommation de viande hachée mal cuite et de jus ou de lait non pasteurisé contaminé par la bactérie (**Gugnani, 1999**). Même si *E. coli* O157:H7 ne constitue habituellement pas une cause de préoccupation en ce qui concerne l'eau potable traitée, on a signalé des éclotions mettant en cause la consommation d'eau

potable contaminée par des eaux usées humaines ou des matières fécales de bétail (Swerdlow et al., 1992; Unité sanitaire de Bruce-Grey-Owen Sound, 2000).

Le sérotype *E. coli* O157:H7 cause des douleurs abdominales, une diarrhée sanglante et le syndrome urémique hémolytique (SUH). Cette bactérie produit de puissantes toxines (vérotoxines) reliées aux toxines de *Shigella*. La période d'incubation est de 3 à 4 jours et les symptômes durent de 7 à 10 jours (Moe, 1997; Rice, 1999). On estime que de 2 à 7 % des infections par *E. coli* O157:H7 provoquent un SUH qui détruit les érythrocytes et entraîne une insuffisance rénale aiguë (Moe, 1997). Des études ont montré que la dose nécessaire pour produire les symptômes est plus faible dans le cas d'*E. coli* O157:H7 que dans celui de la plupart des autres bactéries entériques pathogènes. La probabilité de tomber malade dépend du nombre de micro-organismes ingérés, de l'état de santé du sujet et de sa résistance au micro-organisme ou à la toxine (AWWA Committee Report, 1999). Les enfants et les personnes âgées sont les plus vulnérables aux complications du SUH. Des données probantes indiquent que l'incidence des infections par *E. coli* O157:H7 et du SUH a augmenté depuis qu'on a identifié le sérotype pour la première fois.

➤ Anaérobies sulfito-réducteurs

Les spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs (clostridia) sont largement répandues dans l'environnement. Elles sont présentes dans les matières fécales humaines et animales, ainsi que dans les eaux usées et le sol. À la différence des *Escherichia coli* et des autres organismes coliformes, les spores survivent dans l'eau pendant longtemps, car elles sont plus résistantes que les formes végétatives à l'action des facteurs chimiques et physiques. Elles peuvent ainsi fournir des indications sur une pollution éloignée ou intermittente. Elles peuvent même être résistantes à la chloration dans les proportions habituellement utilisées pour le traitement des eaux, et sont donc ainsi utiles pour les besoins des contrôles (NM, 2006).

➤ **Legionella pneumophila**

Contrairement à la plupart des autres agents pathogènes communs d'origine hydrique, les espèces de *Legionella* sont naturellement présentes dans les environnements aquatiques, y compris les eaux de surface (**Palmer et al., 1993**) et les eaux souterraines (**Lieberman et al., 1994**). Leur présence généralisée reflète leur capacité de survivre dans des conditions hydriques variées, y compris des températures de 0 à 63 °C et un pH variant de 5,0 à 8,5 (**Nguyen et al., 1991**). On attribue leur survie, du moins en partie, à leur interaction avec d'autres membres de la flore hétérotrophe. Leur capacité de vivre en symbiose avec d'autres bactéries comme *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* et *Acinetobacter*, par exemple, pourrait être importante pour leur survie et leur prolifération dans l'eau (**Lin et al., 1998**).

5. Evaluation des risques

Pour évaluer les risques un certain nombre d'indicateurs de contamination fécale ont été retenus. On cite les organismes coliformes qui sont les coliformes totaux et les coliformes fécaux (thermotolérants).

✓ Coliformes totaux :

Il s'agit de *citrobacter*, *enterobacter* et *Klebsiella*. Il ne devrait pas y avoir de coliformes dans les eaux épurées. Si tel était néanmoins le cas, il faut envisager deux possibilités : soit un traitement inefficace, soit une contamination postérieure au traitement.

✓ Coliformes fécaux (thermotolérants) :

Ce sont des coliformes capables de fermenter à 44°C du genre d'*Escherichia* et, dans une moindre mesure des souches occasionnelles d'*Enterobacter*, la *citrobacter* et de *Klebsiella*. Les coliformes fécaux sont intéressants car un très grand nombre d'entre eux vivent en abondance dans les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, constituent des indicateurs fécaux de la première importance. Par ailleurs, leur résistance aux agents antiseptiques et notamment le chlore et à ses dérivés est voisine de la résistance des bactéries pathogènes vis-à-vis desquelles ce type de traitement est instauré. Il s'en suit que la présence, de ces microorganismes soit considérée comme

suffisante pour affirmer la nature fécale et leur présence dans l'eau de puits doit être interprétée comme l'indice d'une situation dangereuse. C'est pourquoi, du point de vue pratique, il faut considérer jusqu'à preuve de contraire que tous les coliformes observés sont d'origine fécale (**O.M.S, 1972**).

6. Gestion des risques

6.1. La maîtrise microbiologique de l'eau du réseau

La maîtrise permanente de la qualité microbiologique de l'eau du réseau passe par la mise en œuvre d'un système de surveillance du réseau de distribution, grâce à des observations ou à des mesurages réguliers (**Riou F, 1995; Assises nationales Qualibio, 1996**).

6.1.1. Surveillance

La surveillance de la qualité de l'eau de boisson peut se définir comme étant «l'évaluation et la supervision continues et vigilantes du point de vue de santé publique de la salubrité et de l'acceptabilité des approvisionnements publics en eau de boisson ».

Cette surveillance comporte :

- Un contrôle régulier de la qualité pour vérifier que le traitement et la distribution sont conformes aux objectifs établis et à la réglementation
- Une Surveillance généralement à intervalles spécifiés, de l'ensemble du réseau de distribution depuis la source jusqu'aux consommateurs du point de vue de la sécurité micro biologique (**O.M.S, 2002**).

6.1.2. Enquêtes sanitaires

L'enquête sanitaire c'est une inspection et une évaluation sur place par une personne qualifiée, de toutes les conditions d'installation et pratiques touchant le réseau d'approvisionnement en eau qui pourraient être à l'origine de danger pour la santé du consommateur. Tous les systèmes de distributions doivent être régulièrement inspectés par les spécialistes. Les échantillons doivent y être prélevés notamment aux fins des examens microbiologiques et chimiques. Par ailleurs une enquête sanitaire

s'impose pour permettre une interprétation valable des résultats de laboratoire (**OMS, 2002**).

III. L'ALIMENTATION A L'HÔPITAL

1. La qualité de l'alimentation

La prolifération non contrôlée de micro-organismes dans un aliment peut poser des problèmes au niveau sanitaire. Des bactéries pathogènes peuvent être présentes et éventuellement se développer. Des micro-organismes banaux sont susceptibles de provoquer également des troubles en fonction des circonstances. Les risques encourus varient en fonction de nombreux paramètres : nature du micro-organisme, niveau de contamination (dose infectante), nature de l'aliment, état physiologique du consommateur....

Dans le cas des germes pathogènes, pour qu'un aliment soit dangereux, il faut soit qu'il contienne au départ le micro-organisme, soit qu'il soit contaminé par lui. La contamination se fait par l'environnement, le consommateur ou parfois un vecteur (insecte). Les maladies microbiennes d'origine alimentaire sont fréquentes, surtout lors d'un manque d'hygiène et sont favorisées par la collectivité des repas, la mauvaise cuisson de la nourriture, la préparation à l'avance des repas, ou encore la mauvaise conservation de ceux-ci (**Guiraud, 2003**).

2. Une exigence absolue en milieu hospitalier

Les préoccupations de la société en matière de sécurité des aliments se retrouvent avec d'autant plus d'acuité à l'hôpital, du fait des spécificités de la restauration hospitalière, liées à la multiplicité des productions et à la singularité des convives. Les contraintes de ces prestations, destinées à des consommateurs fragilisés et captifs de cet environnement, imposent un strict respect des règles d'hygiène tout au long de la chaîne alimentaire (**Bolnot et Carlier, 2000**).

La sécurité des aliments à l'hôpital se définit comme la capacité d'apporter aux convives hospitaliers des repas composés d'aliments exempts de micro-organismes pathogènes et/ou de toxines d'origine microbienne. Une contamination microbiologique de l'alimentation du malade pourrait en effet s'avérer très lourde de

conséquences. Les patients hospitalisés dont l'organisme est fragilisé par la maladie, l'intervention chirurgicale ou le grand âge sont des sujets sensibles aux toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) considérées comme une infection nosocomiale (Cosson et al, 2003).

3. Impact sur la santé

Les toxi-infections alimentaires sont soit des intoxications soit des infections qui résultent de la consommation d'aliments contaminés par des toxines produites par des microorganismes spécifiques ou par la présence de micro-organismes infectieux. Une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) doit faire l'objet d'une déclaration obligatoire. Elle est définie par l'apparition d'au moins deux cas groupés d'une symptomatologie similaire, en général gastro-intestinale, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire (Haeghebaert et al. 2001).

Les bactéries sont la principale cause des infections et des intoxications alimentaires. *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, sont les principales bactéries responsables d'infections alimentaires liées à la présence de la bactérie dans l'aliment. Les symptômes apparaissent plus de 12 h après l'ingestion de l'aliment contaminé, suite au développement de la bactérie dans l'organisme et, dans certains cas, à la production de toxines. A l'inverse, l'apparition de symptômes suite à une intoxication alimentaire est très rapide (quelques heures) car elle est liée à la consommation de toxines préalablement produites par la bactérie dans l'aliment. Les bactéries responsables sont généralement *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio* et *Bacillus cereus* (Delmas et al. 2006).

3.1. L'intoxication

Les troubles résultent de l'absorption d'une toxine bactérienne préformée dans l'aliment, les bactéries productrices de cette toxine pouvant avoir disparu. Ce mécanisme est en cause dans la plupart des cas de botulisme, réabsorption de la neurotoxine préformée déclenchant le syndrome paralytique, ainsi que dans les TIAC à

manifestations digestives dues à *Staph. aureus* et *Bacillus cereus*, d'une durée d'incubation courte à moyenne 2 à 8h (tableau 1).

L'absence de signes digestifs hauts et une prédominance de fièvre sont plutôt en faveur d'un processus invasif et donc d'une durée d'incubation plus longue (>8h : *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*).

Le délai entre l'ingestion du plat contaminé et l'apparition des symptômes est d'autant plus bref et la symptomatologie d'autant plus sévère que la quantité de toxine ingérée a été importante. Il n'est pas rare que les premières manifestations débutent avant la fin du repas contaminant. L'incubation moyenne est de une à quatre heures. Les principaux symptômes sont les nausées, les vomissements et la diarrhée inconstante (**Yves Buisson et Remy Teyssou, 2002**).

3.2. Germes responsables

3.2.1. Entérobactéries

La famille des Entérobactéries regroupe de nombreuses espèces dont la plupart sont des hôtes normaux (commensaux) de l'intestin de l'homme et des animaux.

Dans l'intestin terminal, ces bactéries représentent plus de 10 % de la flore totale et la majorité de la flore intestinale aéro-anaérobie. Chez l'homme, l'entérobactérie intestinale dominante est *Escherichia coli*. Les Entérobactéries sont très répandues dans la nature en raison de la contamination de l'environnement par l'intermédiaire des matières fécales animales et humaines et des eaux d'égout (**Avril et al. 2000**). Ce sont des contaminants alimentaires très fréquents (contamination fécale directe et indirecte) et c'est pour cette raison que nous nous intéresserons particulièrement à ces bactéries. Celles-ci sont capables de développements abondants dans un produit alimentaire et donc de dégradations importantes.

Les Entérobactéries sont des bacilles Gram -, oxydase -, catalase + (sauf pour *Shigella dysenteriae*). Ils réduisent les nitrates en nitrites et fermentent le glucose; ils sont anaérobies facultatifs. Les Entérobactéries se multiplient facilement sur gélose ordinaire à pH neutre, à une température de 37°C.

Elles donnent des colonies apigmentées lisses ou rugueuses de 1 à 3 mm de diamètre. Certaines espèces sont mobiles, d'autres pas (**Avril et al. 2000 ; Fervey et al. 2000**).

Les principales entérobactéries rencontrées dans l'alimentation sont nombreuses mais nous n'allons nous intéresser qu'à certaines de ces bactéries qui sont présentées dans les sous-sections suivantes.

➤ Coliformes

En microbiologie alimentaire, on appelle " coliformes " les Entérobactéries fermentant le lactose avec production de gaz à 30°C. Il s'agit d'un groupe disparate issu de plusieurs tribus qui comprend les genres les *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. Sauf quelques biotypes d'*Escherichia coli*, il s'agit d'espèces peu dangereuses sur le plan sanitaire et qui ne sont jamais entéro-pathogènes.

Cependant, lorsqu'ils sont en nombre très élevé, les coliformes peuvent provoquer des intoxications alimentaires. Les coliformes sont donc des marqueurs de qualité hygiénique générale et c'est pour cette raison que leur dénombrement est intéressant (**Guiraud, 2003**).

➤ Coliformes fécaux ou thermotolérants

Les coliformes fécaux sont des coliformes capables de se développer à 44°C. Cette catégorie inclut essentiellement *Escherichia coli*, ce qui se traduit parfois par l'appellation " *E. coli* présomptifs ". Cette flore est spécifique de la flore fécale et est donc recherchée pour évaluer la contamination fécale des aliments. Les coliformes fécaux ne survivent pas longtemps à l'extérieur du corps, leur présence dans les aliments est donc un signe de contamination relativement récente. Pour distinguer les coliformes des coliformes fécaux, l'incubation à 2 températures différentes (37°C et 44°C respectivement) est nécessaire (**Guiraud, 2003**).

• *Escherichia coli*

Il s'agit d'une Entérobactérie lactose +, gazogène, réalisant une fermentation mixte; elle produit de l'indole (**Varnam et Evans, 1996**).

C'est un hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux qui est très abondant dans les matières fécales (10^6 à 10^7 par gramme chez l'homme : 80 % de la flore aérobie) (Avril et al., 2000). C'est l'un des résidents les plus communs du tractus intestinal et c'est probablement l'organisme le mieux connu en microbiologie. Comme les autres coliformes, cette espèce peut être responsable d'intoxications à cause d'un développement abondant. En outre, certains sérotypes peuvent être considérés comme pathogènes et provoquent des troubles digestifs spécifiques. Ces *E. coli* pathogènes possèdent selon le cas, une ou plusieurs toxines. La présence d'*E. coli* dans l'eau ou les aliments est un indice de contamination fécale. Bien que ce microorganisme ne soit pas habituellement un agent pathogène, il cause parfois des infections des voies urinaires, des diarrhées, gastro-entérites, méningites, septicémie et provoque de très graves maladies d'origine alimentaire (Guiraud, 2003) (tableau 1). *E. coli* est l'une des principales bactéries responsables de diarrhée dans les pays en voie de développement où elle génère des épidémies de collectivité. La transmission des infections par *E. coli* est féco-orale. Les différents syndromes cliniques sont dus à des *E. coli* différents. On reconnaît au moins 5 types de souches responsables de diarrhées (Avril et al., 2000) :

- ✓ *E. coli* entéro-pathogènes (ECEP) : Ces souches sont responsables des gastroentérites sévères surtout chez les enfants de moins d'un an. Elles possèdent parfois des toxines de type Shiga-like.
- ✓ *E. coli* entéro-toxigènes (ECET): Elles provoquent des syndromes cholériformes. Ces souches sont capables d'excréter des toxines (thermostables et thermolabiles). C'est l'agent responsable de la diarrhée du voyageur.
- ✓ *E. coli* entéro-invasifs (ECEI): Ces souches infectieuses sont très rares. Elles provoquent des diarrhées aiguës avec fièvre, il s'agit de syndromes dysentériques: la souche se fixe à la muqueuse et l'infecte. La présence de leucocytes dans les selles est le témoignage du processus invasif.
- ✓ *E. coli* entéro-hémorragiques (ECEH): Ces souches sont responsables de diarrhées banales ou hémorragiques. Elles provoquent une diarrhée sanglante et éventuellement un syndrome d'urémie hémolytique lié à la présence d'une vérotoxine (type Shiga-like SLT). La souche la plus dangereuse est responsable

d'épisodes épidémiques avec des cas mortels. Un produit alimentaire contaminé peut être à l'origine des épidémies (surtout la viande).

- ✓ *E.coli* entéro-agrégatifs (EAaggEC) : Ces souches provoquent des diarrhées chroniques persistantes.

➤ *Salmonella*

Les *Salmonella* sont des Entérobactéries, bacilles mobiles, produisant du gaz en glucose, lactose - et ONPG -, utilisant le citrate comme seule source de carbone, ne possédant ni uréase, ni gélatinase, ne fermentant pas le saccharose, le raffinose et la salicine et dont la réaction de Voges-Proskauer (VP) est négative (**Varnam et Evans, 1996**). Leur classification est complexe car il existe plus de 2500 sérotypes. Presque toutes les espèces du genre *Salmonella* sont potentiellement pathogènes et peuvent causer une variété de symptômes pouvant aller de la simple gastro-entérite à des manifestations plus sévères pouvant parfois entraîner la mort. On trouve fréquemment ces bactéries dans le tractus intestinal de nombreux animaux. La contamination des produits peut être originelle (animaux malades) ou provenir de manipulateurs malades ou porteurs sains de germes. Lorsque les conditions d'hygiène sont médiocres, il y a un risque de contamination des aliments et, par conséquent, des humains. La contamination se fait par voie orale. La fréquence des infections à *Salmonella* est en augmentation. Elle est favorisée par le développement des repas pris en collectivité où les aliments sont préparés bien avant d'être consommés et dans lesquels les bactéries peuvent se multiplier (**Guiraud, 2003**).

Toutes les variétés d'aliment sont susceptibles d'être contaminé par quelques germes de *Salmonella* mais on les retrouve surtout dans les produits d'origine animale (œufs, lait, viande, volaille, poissons,...), l'eau polluée et les produits consommés crus. Tout défaut dans la conservation des aliments permet la multiplication des quelques germes éventuellement présents. Plusieurs sérotypes parmi lesquels *Typhi* et *Paratyphi* provoquent des maladies infectieuses graves appelées respectivement fièvres typhoïde et paratyphoïde (tableau 1).

D'autres sérotypes plus fréquemment impliqués provoquent des infections bénignes appelées salmonelloses. L'ingestion de 10^5 bactéries entraîne une toxi-

infection alimentaire. Les toxi-infections à *Salmonella* se manifestent par des diarrhées, de la fièvre et des vomissements; les premiers signes surviennent 8 à 10 heures après l'ingestion de l'aliment contaminé. L'évolution de ces gastro-entérites est souvent favorable en quelques jours mais elle constitue un réel danger chez les jeunes enfants. La plus simple prévention contre une infection à *Salmonella* est l'hygiène. Les *Salmonella* étant des bactéries dangereuses, responsables d'un grand nombre de troubles d'origine alimentaire, elles ne doivent pas être présentes dans un aliment. Les cas mortels ne sont pas exceptionnels, en particulier chez les jeunes enfants et les personnes âgées (Avril., et al, 2000 ; Guiraud, 2003).

3.2.2. *Staph. aureus*

Staph. aureus, plus couramment appelé staphylocoque doré en raison de la couleur jaune des colonies qu'il forme sur gélose, est une bactérie sphérique à Gram positif, anaérobie facultative, immobile et formant des amas réguliers à la manière de grappe de raisins. Cette espèce fait partie du genre *Staphylococcus* qui peut être divisé en deux groupes: les staphylocoques à coagulase positive et les staphylocoques à coagulase négative. La coagulase produite par les staphylocoques à coagulase positif tels que *Staph. aureus* est une exoenzyme capable de coaguler le plasma sanguin et constitue un moyen d'identification simple et rapide. Une intoxication alimentaire due à *Staph. aureus* est suspectée lorsque des symptômes, tels que nausées, vomissements, crampes abdominales et diarrhée, affectent des individus 1 à 8 h après l'ingestion d'aliments. Ces symptômes sont dus à l'action des entérotoxines que la bactérie peut produire au cours de sa croissance. La présence de *Staph. aureus* peut être d'origine humaine ou animale. *Staph. aureus* colonise la peau et les muqueuses de l'homme et de nombreuses espèces animales à sang chaud (Williams, 1963). Bien qu'il existe de nombreux sites de colonisation chez l'homme, le nasopharynx est le site de portage le plus fréquent. Il a en effet été estimé que 27% de la population humaine est porteuse de *Staph. aureus* dans le nasopharynx. Les autres sites fréquents de portage sont la peau et le périnée (Wertheim et al. 2005).

Même si le portage de *Staph. aureus* augmente le risque de contracter une infection liée à cette bactérie, l'homme ne présente généralement aucun symptôme lié à cette colonisation. De ce fait, au cours de la fabrication/préparation des aliments, une

contamination de l'aliment par l'homme est possible si les conditions d'hygiène ne sont pas pleinement contrôlées (port de gants et de masques notamment).

Il a été estimé qu'environ 20% des cas de TIAC impliquent une contamination par une personne infectée par un agent pathogène et ayant manipulé la nourriture (**Greig et al. 2007**). Les 816 cas de TIAC, répertoriés entre 1927 et 2006 principalement aux Etats-Unis, au Canada, en Europe et en Australie et dans lesquels des personnes ayant manipulé la nourriture ont été impliquées, a recensé les moyens de transmission des pathogènes aux aliments : les voies fécales et orales (mains contaminées après passage aux toilettes, vomissements) de personnes malades, convalescentes ou colonisées sont les plus souvent incriminées ; viennent ensuite les contaminations, essentiellement staphylococciques ou streptococciques, dues aux sécrétions nasales ou orales ainsi que les infections de la peau (**Todd et al. 2008**). Ces cas de TIAC ont été provoqués principalement dans des lieux de restauration (restaurant, hôtel...), lors d'événements animés par des traiteurs ou encore à la maison. Mais il arrive aussi que les contaminations aient lieu dans les usines de transformation des aliments (**Todd et al. 2007a**). Les aliments incriminés sont principalement des aliments cuisinés qui, après contamination, ont été stockés dans des conditions inadéquates (rupture de la chaîne du froid par exemple) permettant le développement des agents pathogènes (**Todd et al, 2007b**).

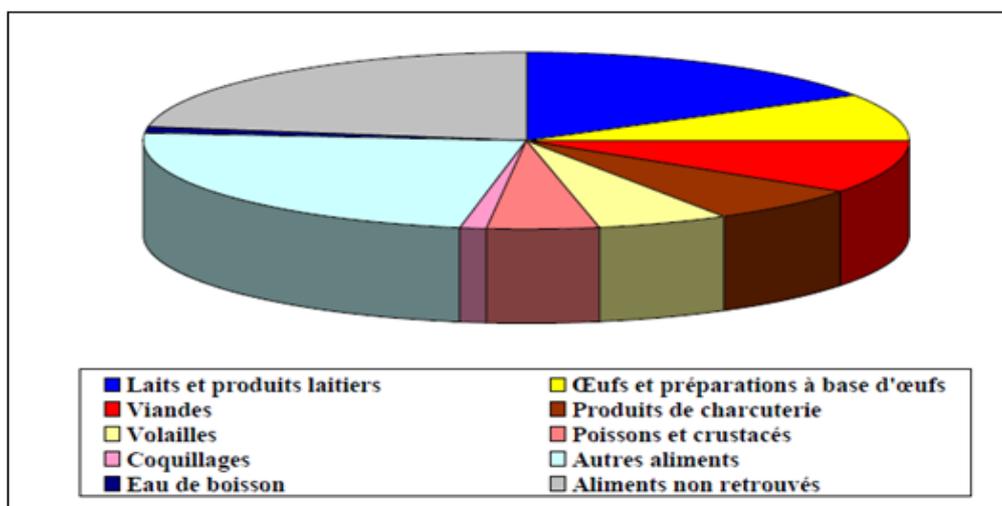


Figure 1 : Aliments responsables ou suspectés de TIAC par *Staphylococcus aureus* d'après (**Delmas et al., 2006**).

3.2.3. *Listeria monocytogenes*

Petit bacille à Gram positif, mobile, non sporulé. Aérobie-anaérobie facultatif, fermente de nombreux glucides sans gaz. Ne produit pas d'urée et d'indole.

Listeria est une bactérie ubiquiste, tellurique, très largement répandue dans l'environnement, et qui possède de grandes capacités de résistance dans le milieu extérieur (1 à 2 ans dans le sol et plusieurs années si le prélèvement est conservé en réfrigération) (AFSSA, 2000).

Les infections à *L. monocytogenes* sont sérieuses. La bactérie pouvant contaminer un certain nombre d'aliments, de nombreuses personnes ingèrent assez fréquemment de petites quantités de *L. monocytogenes* sans qu'aucun symptôme n'apparaisse. La durée d'incubation est comprise entre 48 heures et 3 mois (moyenne 1 mois). Atteintes du système nerveux central (méningites, méningo-encéphalites, plus rarement encéphalites, abcès du cerveau), septicémie (tableau 1).

La listériose survient préférentiellement chez les sujets dont le système immunitaire est perturbé, soit naturellement (nouveau-né, femmes enceintes, personnes âgées), soit en raison d'une maladie (SIDA et séropositivité au VIH, cancers), soit en raison de traitements (corticothérapie, chimiothérapie) (Catteau, 2006).

3.2.4. *Clostridium perfringens*

C'est un Bâtonnet large (1 à 1.5 mm de diamètre), immobile, extrémité carrée, sporulé, à Gram positif, et anaérobie strict mais aérotoleérant. *C. perfringens* sporule rarement dans les milieux usuels de culture, uniquement dans des milieux spéciaux de sporulation. *C. perfringens* est une bactérie très ubiquitaire largement répandue dans tout l'environnement (sol, sédiments, eaux d'égout, lisiers, cadavres, poussières, surface des végétaux, etc).

Les symptômes apparaissent entre 6 et 24 h, généralement 10-12 h, après l'ingestion du repas contaminé. Ils se traduisent surtout par de la diarrhée et de violents maux de ventre, parfois de nausées. Les vomissements et la fièvre ne sont pas habituels. Le plus souvent, cette affection guérit spontanément en 2-3 jours (tableau 1).

Toutefois, des mortalités ont été observées chez des personnes âgées et des jeunes enfants.

La toxi-infection alimentaire à *C. perfringens* survient uniquement après consommation d'aliments lourdement contaminés par une souche entérotoxigène de cette bactérie. L'ingestion d'un grand nombre de *C. perfringens* permet son implantation dans l'intestin grêle.

Une partie des bactéries ingérées est tuée au niveau de l'estomac (pH très acide, milieu riche en protéases) et la flore digestive résidente de l'intestin s'oppose à leur développement. Mais, ingéré en surnombre, *C. perfringens* se multiplie dans le contenu de l'intestin grêle (10^8 - 10^9 bact/g), sporule, synthétise l'entérotoxine, qui libérée après lyse de la paroi bactérienne, interagit avec les entérocytes provoquant une fuite d'eau et d'électrolytes (**Labbe, 1989**).

De ce fait, *C. perfringens* est retrouvé en nombre élevé (supérieur à 10^6 /g) dans les selles des malades. L'entérotoxine est également présente dans les selles au cours de la phase symptomatique de la maladie.

L'intoxication alimentaire à *C. perfringens* atteint essentiellement les personnes prenant leur repas dans des restaurants collectifs, cantines scolaires, restaurants d'entreprise, etc.

La population à risque sont les personnes âgées prenant leurs repas à partir de cuisine collective (maisons de retraite, hôpitaux, service à domicile à partir d'une cuisine centrale) sont particulièrement à risque, car elles développent une forme généralement plus sévères de la maladie. De même, les jeunes enfants sont particulièrement à risque et développent des formes plus sévères (**Popoff, 2006**).

Tableau 1 : Bactéries responsables de cas de TIAC et pathologies associées d'après (Nugon-Baudon et Molier, 2002).

Bactéries pathogènes	Aliments Incriminés	Durée d'incubation	Toxicité et fréquence	Symptômes
<i>E. coli</i>	Viande, Eau, lait cru	3 à 9 jours	grave	Symptômes peuvent persister plus d'une semaine, diarrhée abondante et sanglante, nausées, vomissements, parfois insuffisance rénale qui peut être mortelle.
<i>Staph. aureus</i>	Lait, fromage, crèmes glacés, viande, volailles, charcuterie, poissons	1 à 6 heures	Bénigne sauf nourrissons Fréquent	Nausées, vomissements violentes, douleurs abdominales, parfois diarrhées, parfois fièvre chez le jeune enfant.
<i>Salmonella</i>	Viandes, volailles, œufs, lait cru, fruit de mer	De quelques heures à 4-5 jours	Bénigne sauf Enfant et sujets immunodéprimés Très fréquent	Douleurs abdominales, frissons, fièvre importante, vomissements, diarrhées, prostration, les symptômes durent 2 à 3 jours. Grave chez les sujets immunodéprimés et les jeunes enfants. Complications possibles si passage de la bactérie dans le sang (septicémie).

<i>Clostridium perfringens</i>	Aliment cuits puis mal protégés, plats cuisinés surtout à base de viande	9 à 24 heures	En général bénigne chez l'adulte. A prendre très au sérieux chez le jeune enfant Assez fréquent	Diarrhées, douleurs abdominales, rarement fièvre ou vomissements.
<i>Clostridium botulinum</i>	Conserves familiales mal stérilisées et charcuteries non traitées aux nitrites	Quelques heures à 8 jours	Très grave Rare	Atteinte du système nerveux : difficulté d'élocution et déglutition, troubles oculaires, troubles respiratoires, paralysie, coma, mort si non traité, pourrait être responsable de certains cas de mort subite du nourrisson
<i>Listéria monocytogens</i>	Lait, fromages, charcuteries, volailles, produit de la mer (fumés)	1 jour à plusieurs semaines (jusqu'à 2 mois)	En général bénigne. Très grave chez les femmes enceintes, les jeunes enfants, les sujets immunodéprimé Peu fréquent	Très variable en fonction des individus, passe parfois inaperçu (fausse grippe) avec diarrhées et douleurs abdominales, séquelles neurologiques possibles en cas de méningite. Très grave chez la femme enceinte (avortement, accouchement précoce), très grave chez les sujets affaiblis ou immunodéprimés, très jeune enfant. Antibiothérapie très efficace.

4. Situation épidémiologique dans le monde et au Maroc.

Selon l'Institut de Veille Sanitaire français, environ 280 000 infections sont recensées chaque année (sous déclaration prise en compte). Les décès, dus à une intoxication alimentaire, sont évalués entre 230 et 650 par an. Une étude sur les TIAC, en France en 2001, évoque les lieux de survenue et place les établissements de santé bien après la restauration familiale, commerciale et scolaire.

La banalité des signes digestifs chez les patients hospitalisés ainsi que l'absence d'enquêtes spécifiques ne permettent pas d'avancer des chiffres fiables. Cependant ce risque ne doit pas être négligé, car ces pathologies peuvent avoir des conséquences graves lorsqu'elles surviennent chez des patients fragilisés annonce **Hygis (1998)**.

A ce propos, en France le Centre de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CCLIN.2001) souligne que: « La restauration doit être considérée non plus seulement comme une fonction logistique marginale, mais comme un service essentiel à rendre au patient ».

Les TIAC sont sous-déclarées au Maroc comme dans autant de pays du Monde. Vu que la population marocaine ne connaît pas les risques des TIAC, celles-ci ne sont déclarées qu'en face d'aggravation. Ainsi on peut estimer 10 cas pour chaque déclaration (**Benlarabi, 2006**). Entre 2000 et 2004, 7 118 cas de toxi-infections alimentaires ont été rapportés dont plus de 86% sont d'origine bactérienne (**Cohen et al . 2006**)

5. La maîtrise des risques, une préoccupation essentielle du gestionnaire hospitalier

5.1. L'émergence d'un « droit à la sécurité »

La sécurité sanitaire s'est imposée en quelques années comme une obligation collective, un objectif majeur de la politique de santé. Cette évolution traduit la reconnaissance d'un droit nouveau du patient face aux risques. La préoccupation de sécurité sanitaire s'étend désormais au-delà du champ du système de santé et concerne également la sécurité des produits alimentaires. L'accès à des aliments sûrs et nutritifs est un besoin fondamental et un droit de la personne humaine. Parallèlement, il existe

aujourd'hui en milieu hospitalier une obligation générale de sécurité vis-à-vis du patient qui inclut le domaine alimentaire. Ce « droit à la sécurité » est par ailleurs fortement revendiqué par les associations de malades ou d'usagers (Cosson et al., 2003).

5.2. La responsabilité du gestionnaire hospitalier

L'actualité récente montre à l'évidence que la sécurité des aliments à l'hôpital doit faire l'objet d'une attention prioritaire des gestionnaires hospitaliers. La logique de responsabilité sans faute qui s'applique à l'hôpital public place désormais la maîtrise des risques au cœur de leurs préoccupations.

6. Instaurer un système d'assurance de la qualité dans la fonction restauration

Les responsables hospitaliers sont aujourd'hui conscients du caractère incontournable de la sécurité des produits alimentaires.

Toutefois, celle-ci ne représente plus seulement une contrainte, mais également un atout au travers de la notion de qualité. Le thème de la sécurité et de la vigilance alimentaire se situe au croisement de la gestion des risques et des démarches d'amélioration de la qualité. L'impératif de sécurité des aliments s'inscrit désormais dans une politique globale, consistant à assurer non seulement la protection de la santé des patients, mais également leur pleine et entière satisfaction (Cosson et al. 2003).

6.1. La nécessité d'une approche de qualité globale

La restauration à l'hôpital doit remplir une double mission : la première est de participer à l'acte de soin: l'alimentation est un soin et il faut donner à l'ensemble des patients une prestation en accord avec les besoins nutritionnels des convives et adaptée aux différentes catégories d'âge. Comme l'a enseigné Hippocrate, « l'alimentation est notre première médecine ». La deuxième mission de la restauration hospitalière est de participer au confort du malade en apportant un service de qualité conforme à ses attentes de patient hospitalisé.

Ainsi, l'alimentation, dans le cadre de la mission dévolue au service public hospitalier, doit participer à la guérison et au bien-être du patient, mais aussi rechercher la satisfaction de l'utilisateur (**Rigaud et al. 1999**). Si un aliment doit répondre aux besoins de santé de l'individu, de façon beaucoup plus subjective, il doit également plaire à son consommateur. On constate que les attributs de la qualité en matière alimentaire sont de plus en plus variés (**Poulain et Saint-Sevin B.1990**). La figure 2 permet de les visualiser de manière synthétique.

Pour résumer, la recherche d'une approche de qualité globale passe par le respect de la règle dite « des 4 S » : sécurité, santé, satisfaction, service. La sécurité répond aux besoins d'hygiène et de contrôle des produits finis. La contribution à la santé passe par l'équilibre nutritionnel des menus.

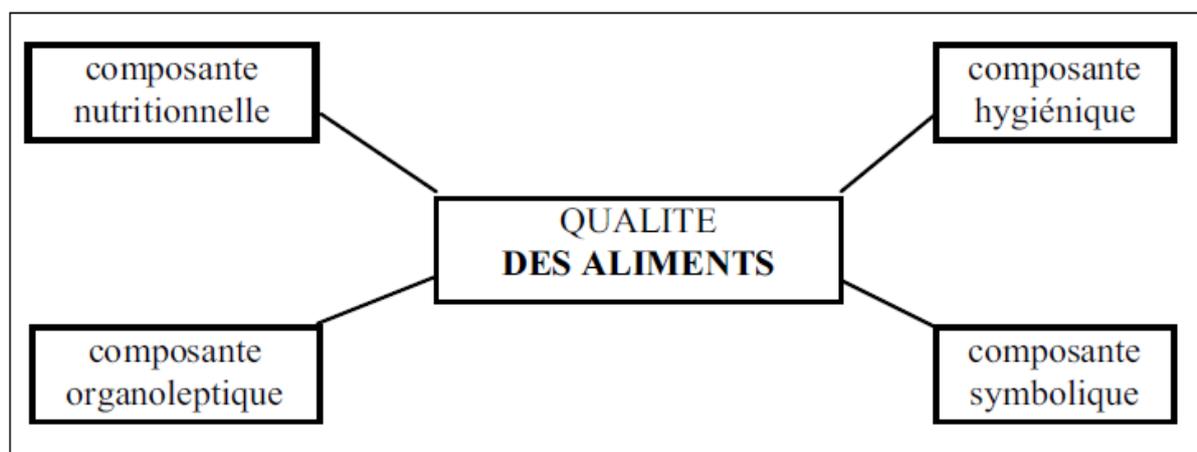


Figure 2 : Les principales composantes de la qualité d'un aliment d'après (**Poulain, 1990**).

La satisfaction et le plaisir du patient sont améliorés par la diversité des plats proposés, la qualité des denrées utilisées et la maîtrise de l'environnement. La qualité du service fait référence à la dimension organisationnelle de la fonction restauration, et à la facilité d'usage des produits. Tel est le cadre d'action dans lequel cette dernière doit s'inscrire pour s'efforcer de répondre de façon satisfaisante aux objectifs qui lui sont assignés par l'hôpital (**Tronchon et Bonhomme, 1994**)

IV. ANTIBIOGRAMME

1. Définition

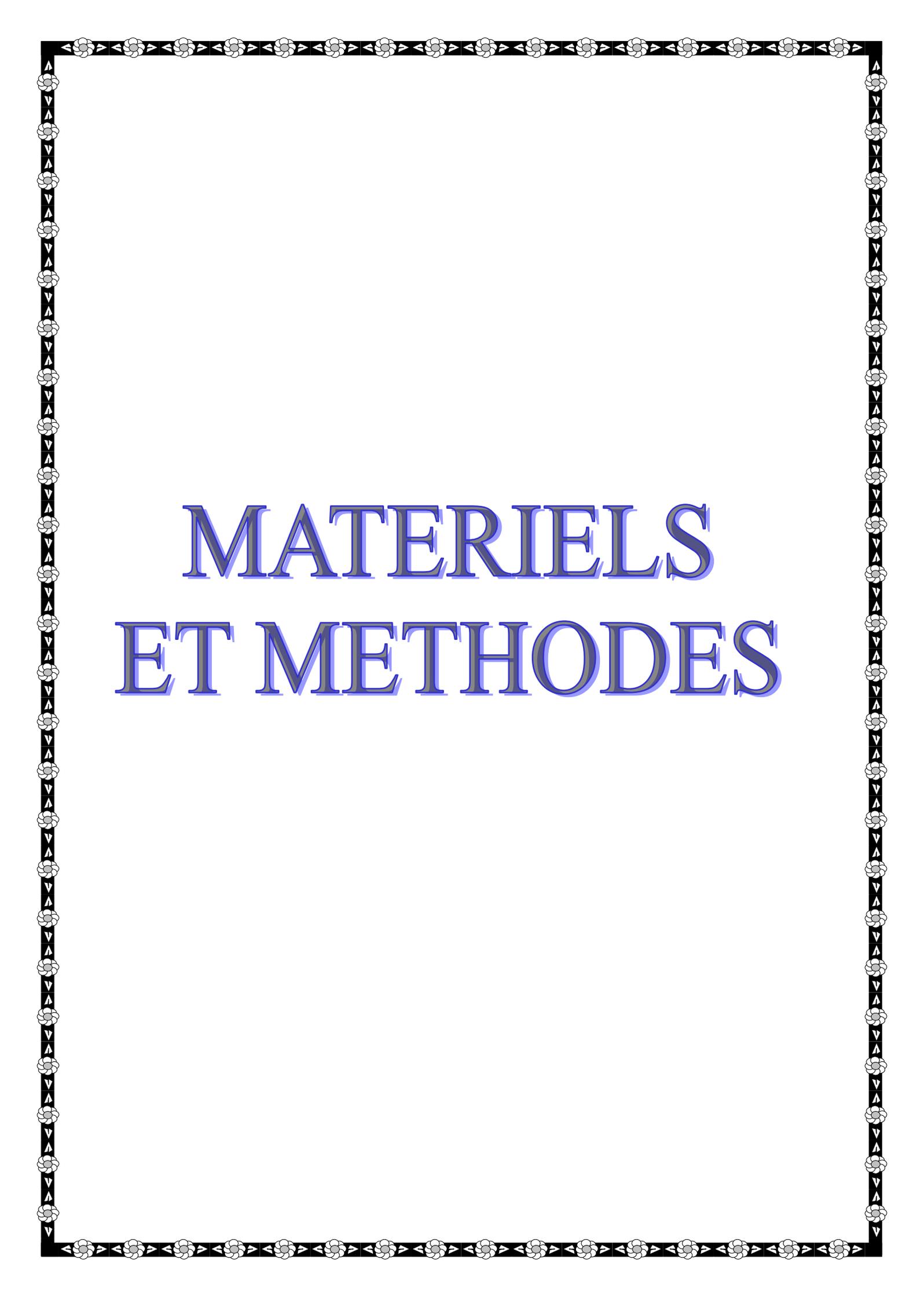
Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques. C'est un test de résistance, de prédiction, de croissance, totalement artificiel, complexe, à interprétation obligatoire, à impact variable et dont le résultat intéresse plusieurs destinataires.

2. Principe

Le principe consiste à mettre la bactérie en présence du ou des antibiotique(s) et d'observer les conséquences sur la vie de la culture bactérienne. Il peut se faire en milieu solide sur gélose (méthode des disques) ou en milieu liquide (méthode des dilutions). L'antibiogramme permet de catégoriser une souche bactérienne en classes semi-quantitatives (sensible, intermédiaire ou résistant) et d'orienter le traitement antibiotique.

3. L'intérêt de l'antibiogramme

L'antibiogramme est utile pour la prescription d'un antibiotique, pour connaître l'épidémiologie des résistances locales (facilite la prescription empirique) et pour lutter contre les infections nosocomiales (reconnaît les bactéries multirésistantes).



MATERIELS ET METHODES

I. ETUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE RÉTROSPECTIVE SUR LA QUALITÉ BACTÉRIOLOGIQUE EN RESTAURATION HOSPITALIÈRE

Cette étude rétrospective a porté sur l'étude de l'eau potable et les aliments qui ont été desservies à l'hôpital Al Ghassani et Ibn Khatib de Fès sur une période de 11 ans (2000-2010) et analysés au Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu (LRDEHM).

Signalons que le nombre très faible des échantillons en provenance de l'hôpital Omar Drissi est quasiment faible.

1. Lieu et période d'étude

Lieu : Les travaux ont été menés au niveau de l'unité d'hygiène alimentaire du Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu (LRDEHM). Ce dernier, est situé à l'hôpital Al Ghassani et attaché à la Direction Régionale de la Santé (DRS).

LRDEHM est la seule entité du Ministère de la Santé au niveau de la wilaya de Fès qu'opère dans le domaine de la surveillance et le contrôle des maladies à transport alimentaires.

Période : l'étude a été réalisée sur une période de onze ans allant de Janvier 2000 à Décembre 2010.

2. Matériel

Nous avons exploité les registres du LRDEHM pour la réalisation de l'étude rétrospective. Nous avons retenu les paramètres suivants : la province (Fès), le service expéditeur (S.H.Hospitalière), la date de prélèvement, la date de réception, la date d'analyse, les germes recherchés et la conformité.

3. Analyse statistique des données

Elle a été réalisée à l'aide du logiciel **Epi Info version 3.3.2.0.**

Les graphes ont été réalisés par le logiciel Excel. Ces derniers montrent l'évolution des échantillons d'eau et des denrées alimentaire selon trois paramètres :

A- Selon le temps

Nous avons étudié l'évolution annuelle et mensuelle des échantillons qui ont été analysés par le LDREHM.

B- Selon l'espace

Il s'agit de la répartition des échantillons analysés par le LDREHM durant 2000-2010 en fonction des deux hôpitaux (Al Ghassani et Ibn Al Khatib).

C- Selon la non-conformité

Nous nous sommes intéressés entre les années 2000 et 2010 à la non-conformité des échantillons analysés par le LRDEHM par rapport aux germes recherchés.

II. ETUDE PROSPECTIVE SUR LA QUALITÉ BACTÉRIOLOGIQUE EN RESTAURATION HOSPITALIÈRE DE L'HÔPITAL AL GHASSANI ET IBN AL KHATIB DE FÈS

1. Cadre d'étude

Nous avons réalisé notre stage de fin d'étude à l'unité de l'hygiène hospitalière au niveau du Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'hygiène du Milieu (LDREHM) de Fès, pendant une durée de quatre mois allant du 15 janvier jusqu'au fin mai. Nous nous sommes intéressés ainsi, aux analyses bactériologiques des échantillons provenant de l'hôpital Al Ghassani et Ibn Al khatib de Fès.

2. Les analyses microbiologiques

2.1. Objectif

L'analyse microbiologique des denrées alimentaires et de l'eau du réseau nous permet d'évaluer l'état bactériologique de ces derniers en déterminant le taux de non-conformité.

2.2. Matériel

Il s'agit de l'analyse des aliments provenant des plats chauds et des plats froids, ainsi que l'eau de consommation humaine.

2.3. Germes recherchés pour les analyses des denrées alimentaires

Les germes recherchés au niveau du laboratoire régional sont : la flore aérobie mésophile qui reflète la qualité microbiologique générale d'un aliment (**Haeghebaert, 2002**), les coliformes fécaux et les coliformes totaux, les germes anaérobies sulfitoréducteurs (*Clostridium*), les staphylocoques et la recherche qualitative des salmonelles (**NM 08.0.100, 2004**).

2.4. Germes recherchés pour l'analyse de l'eau du réseau traitée

La flore mésophile aérobie totale (FMAT), les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les entérocoques intestinaux les micro-organismes anaérobies sulfitoréducteurs ont été déterminés selon la norme marocaine (**NM 03.7.001, 2006**).

2.5. Echantillonnage

Les prélèvements ont été réalisés par des techniciens d'hygiène du milieu affectés au SPHM ou SHH.

2.6. Prélèvements des échantillons

Les échantillons ont été prélevés d'une manière aseptique.

2.7. Transfert des échantillons au laboratoire

Le transfert des échantillons a été assuré à des températures voisines de +4°C dans une glacière contenant des boîtes eutectiques préalablement congelées. Comme il s'agit des produits frais, le transport se faisait le plus rapidement possible.

3. Techniques d'analyses bactériologiques des denrées alimentaires

3.1 Préparation de l'échantillon pour l'analyse

Vingt cinq grammes de chaque échantillon sont pesés, tout en étant à proximité du bec benzène, à l'aide de la balance puis ils sont transférés d'une manière aseptique

dans un sac de stomacher stérile pour subir le broyage dans 225 ml d'eau peptonée tamponnée stérile, constituant ainsi la suspension mère (SM).

Des dilutions décimales allant de 10^{-2} à 10^{-4} dans l'eau physiologique stérile seront préparées à partir de l'échantillon broyé (SM). Le facteur de dilution varie d'un échantillon à un autre.

3.2. Techniques d'analyses bactériologiques

Les méthodes d'analyse des denrées alimentaires débutent par la préparation de la solution mère. Les caractéristiques des paramètres recherchés sont mentionnées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Méthodes d'analyses microbiologiques (milieux de culture, conditions d'incubation...) des denrées alimentaires.

Paramètres microbiologiques	Volume De l'inoculum	Milieux d'ensemencement	Condition d'incubation
Flore mésophile aérobie totale (NM 08.0.102)	1 ml	Plate count agar (PCA)	37°C pd 24h
Coliformes totaux (NM 08.0.124)	1 ml	Gélose au Désoxycholate Lactose	37°C pd 24h
Coliformes fécaux (NM 08.0.124)	1 ml	Gélose au Désoxycholate Lactose	44°C pd 24h
<i>Staphylocoque aureus</i> (NM 08.0.104)	0,1 ml	Milieu sélectif Baird Parker	37°C pd 24h

Salmonelles (NM 08.0.116)	25g d'aliment + 225 ml d'eau peptonée	Préenrichissement : Eau peptonée Enrichissement : Rappaport vasilliadis Isolement : Hektoen Identification biochimique	37°C pd 24h 42°C pd 24h 37°C pd 24h
Anaérobies sulfito- réducteurs (NM 08.0.125)	1ml	SPS	37°C pd 24h Anaérobiose

N.B :

- Les milieux de culture utilisés ont été préparés conformément aux normes et selon des procédures de contrôle de qualité. Lors de chaque opération de l'autoclavage, des indicateurs de stérilisation (ruban, sterickon) sont mis avec les milieux dans l'autoclave. Avant l'utilisation de ces milieux, et pour s'assurer de leurs qualités de stérilisation, des boîtes témoins sont incubés aux températures correspondant à chaque milieu pendant 24h.
- Un contrôle régulier des réactifs, eau distillée, matériels, équipements (prise de la température et l'humidité) et l'élimination des boîtes de pétri par un broyage réalisé par le service d'évacuation des déchets contaminés.

3.2.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale

La flore mésophile aérobie totales (FMAT) est utilisée comme un indicateur pour l'évaluation d'hygiène. Elle englobe l'ensemble des microorganismes capables de se multiplier en aérobie et aux températures moyennes, surtout à une température optimale de croissance située entre 25 et 37°C (**Galaf et Ghannam. 2003**).

Le dénombrement de cette flore est réalisé par la méthode d'ensemencement en profondeur sur une gélose pour numération (PCA).

1ml de la suspension mère et des dilutions successives est déposé aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles et 15 ml de milieu de culture maintenue en surfusion à 45°C sont ajoutés dans chaque boîte. L'inoculum et la gélose sont mélangés, en prenant soin de ne pas faire d'éclaboussures.

L'incubation est faite à 30°C pendant 72h. Les colonies apparues sont comptées. Seules les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies sont considérées, et les résultats sont exprimés en unité formant colonies (UFC) par gramme ou par ml de l'échantillon (NM 08.0.121, 2004).

3.2.2. Dénombrement des coliformes fécaux

Dans la famille des entérobactéries, qui sont des bacilles Gram négatifs, non sporogones, oxydase négatifs, aéro-anaérobies facultatifs, fermentant le glucose, les coliformes s'en distinguent par leur aptitude à fermenter également le lactose. Ils sont capables de croître en aérobiose à 37°C sur milieu gélosé lactosé en 24h.

Les coliformes fécaux sont des coliformes thermotolérants présentant les mêmes propriétés mais à 44°C.

E. coli appartient aux coliformes fécaux tels qu'ils sont définis ci-dessous. De plus, elle produit de l'indole, et elle est incapable d'une part, d'utiliser le citrate de sodium comme unique source de carbone, d'autre part elle est VP négatifs. Elle donne un résultat positif à l'essai du rouge de méthyle.

L'étude des coliformes fécaux doit comporter le:

- Dénombrement des coliformes fécaux ;
- Dénombrement d'*E. coli* ;

3.2.2.1. Dénombrement des coliformes fécaux par méthode de comptage des colonies

Le dénombrement des CF a été réalisé selon la technique d'ensemencement dans la masse en milieu solide.

1ml de la suspension mère et des dilutions successives est déposé aseptiquement dans des boites de pétri stériles et 15 ml de la gélose au désoxycholate lactose 1% (DL) fondue et ramené à 45°C, sont ajoutés dans chaque boite.

L'incubation est faite à 44°C pendant 24 à 48h. Les colonies qui apparaissent sous forme de lentille de couleur rouge brique sont comptées, et les résultats sont exprimés en unité formant colonies (UFC) par gramme ou par ml de l'échantillon (NM 08.0.124, 2004).

3.2.2.2. La recherche d'*E. coli*

a. Isolement sur EMB

Les colonies suspectes sont d'une couleur rouge brique ayant un diamètre de 0,5mm.

Nous avons isolé toutes ces colonies sur milieu EMB dans le but de savoir la forme qui correspond à *E. coli* sur DL.

Nous avons trouvé que ce sont les colonies lenticulaires de 1,5 mm de diamètre, au milieu de la gélose, qui répondent à notre recherche en se basant sur les caractéristiques morphologiques des colonies sur EMB, notamment l'aspect métallique des colonies.

b. Identification morphologique et biochimique

En se basant sur l'identification morphologique et biochimique, il nous est possible de confirmer la présence des *E. coli* par:

- **Coloration de Gram** (annexe B10)
- **Test de l'urée-indole**

Après incubation pendant 24h à 37°C de la suspension bactérienne dans le milieu Urée-Indole, 0,5 ml de réactif de Kovacs sont ajoutés.

L'apparition d'une couleur rouge dans la partie supérieure du milieu témoigne de la production d'indole.

➤ **Test de citrate**

Une gélose inclinée de citrate de SIMMONS est ensemencée en surface par une strie longitudinale, réalisée à l'anse, à partir de la suspension qui se trouve dans le tube de la gélose nutritive puis incubé 5 jours à 37°C.

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone qui est le citrate, dont l'utilisation par les bactéries se traduira par une alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur en bleu).

➤ **Test à l'ONPG** : (ortho-Nitro-Phényle-Galactopiranoside)

Il s'agit de la recherche de l'enzyme β -galactosidase (enzyme du métabolisme du lactose).

A partir du milieu Kligler, nous avons réalisé une suspension bactérienne épaisse dans 0,5 ml de l'eau distillée stérile à laquelle nous avons ajouté un disque imprégné d'ONPG. Le tube est incubé à 37°C pendant 24h. Une réaction positive se traduit par une coloration jaunâtre.

➤ **Test de catalase**

Sur une lame de verre propre, nous avons déposé une goutte de H₂O₂, puis nous l'avons mis en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette pasteur boutonnée. S'il y a formation de bulles, la bactérie est catalase positive.

➤ **Recherche de la mobilité**

Le milieu mannitol-mobilité sert à rechercher simultanément la mobilité et la fermentation du mannitol. Le milieu est ensemencé par piqûre centrale et incubé à 37°C pendant 24h.

La fermentation du mannitol se traduit par le virage au jaune de l'indicateur de pH. La mobilité des bactéries est révélée par diffusion de la culture à partir de la ligne d'ensemencement (**Oumokhtar, 2000**).

3.2.3. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Les *Staph. aureus* représentent pour le patient : soit un danger réel si leur nombre est très élevé dans le produit ; soit un danger potentiel si le produit contaminé est conservé dans des conditions permettant leur prolifération, d'où l'importance de faire une telle recherche, qu'on effectue en trois étapes (annexe B7) :

➤ Isolement

0,1ml de la solution mère et des dilutions sont étalées sur la surface du milieu Baird-Parker. Après incubation 24h à 48h à 37°C, on dénombre les colonies caractéristiques qui apparaissent sur le milieu, noires, brillantes, convexes et entourées d'un halo clair d'environ 2 à 5mm de diamètres (NM 08.01.104, 2004).

➤ Enrichissement

A partir des boîtes de BP, 5 colonies de *Staph. aureus* sont prélevées et ensemencées dans un tube contenant du bouillon BHI, puis incubées à 37°C pendant 24h.

➤ Confirmation de la pathogénicité

Pour cette étape, nous avons procédé à la recherche de la coagulase dont le rôle est l'identification de *Staph. aureus*.

- Mise en évidence de la coagulase libre

La coagulase libre : (exoenzyme) est une enzyme libérée dans le milieu au cours de la culture par *Staph. aureus*. Sa mise en évidence permet seule, d'affirmer sa présence. Cette enzyme est capable in vitro de coaguler le plasma de lapin.

La recherche de la coagulase se fait dans un tube à hémolyse, où on place 0,5 ml de plasma prêt à l'emploi, et on y ajoute 0,5 ml de la culture en bouillon.

Le mélange est porté à l'étuve à 37°C, et les lectures sont effectuées toutes les heures au moins pendant les cinq premières heures.

Résultat :

Coagulation du plasma → coagulase+ → *Staphylococcus aureus*.

- Test de DNase

Ce test permet la recherche de l'ADN des staphylocoques, qui possèdent une enzyme capables de dégrader l'ADN.

Nous avons prélevé une colonie, puis nous l'avons déposé par strie sur une boite contenant un milieu gélosé à l'acide désoxyribonucléique (ADN). La boiteensemencée est incubée à 37°C pendant 24h. La précipitation de l'ADN par l'ajout de HCL (2N) et la présence d'un halo autour de la strie témoigne que la souche est DNase+.

3.2.4. Dénombrement des Anaérobies sulfito-réducteurs (méthode en tubes)

Les anaérobies sulfito-réducteurs sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux, mais on les rencontre fréquemment dans la nature et en particulier dans le sol. Ces bactéries sont très résistantes en raison de leur caractère sporulé.

La méthode consiste à prélever 1ml de la solution mère et que l'on introduit dans un tube contenant 20ml du milieu SPS. Le tube est alors homogénéisé par mouvement circulaire sans faire de bulles. Dès qu'un tube estensemencé il est ensuite refroidi par immersion dans l'eau froide, et après incubation à 46°C pendant 24 à 48h, les colonies noires apparentes sont alors dénombrées (NM 08.0.125, 2004).

3.2.5. La recherche des salmonelles

La recherche s'effectue par des tests présence ou absence et la norme c'est absence dans 25 g ou 25 ml de produit ce qui justifiera une recherche en tout ou rien (CUQ, 2007).

La mise en évidence des salmonelles nécessite plusieurs phases :

➤ Pré-enrichissement

Dans des sachets stériles, 25g d'aliment sont mélangés dans 225ml d'eau peptonée. L'incubation est réalisée pendant 18h au moins et 24h au plus à 37°C.

➤ Enrichissement sélectif

0,1ml du milieu pré-enrichi est ajouté dans un tube contenant 10ml de bouillon Rappaport-Vasiliadis. L'incubation est réalisée pendant 24h (+/- 2h) à 42 (+/-1) °C (NM 08.0.116, 2004).

➤ Isolement

L'isolement en surface est réalisé sur le milieu Hektoen par striation à l'aide d'une anse en platine. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24h à 48h.

Les salmonelles apparaissent sous forme de colonies grisâtres à bleuâtres avec ou sans centre noir. Les isolats suspects sont ensemencés sur gélose nutritive inclinée en vue d'une identification ultérieure.

4. Techniques d'analyses pour le contrôle bactériologique de l'eau potable

4.1. Exigences de qualité

L'eau d'alimentation humaine ne doit contenir en quantités dangereuses ni microorganismes, ni substances chimiques nocifs pour la santé ; en outre elle doit être aussi agréable à boire que les circonstances le permettent. Les eaux d'alimentation humaine doivent satisfaire aux exigences de qualité spécifiées dans l'annexe A. (NM 03.7.001).

4.2. Prélèvement des échantillons d'eau

Les échantillons doivent toujours être prélevés avec toutes les conditions d'asepsie nécessaires dans des flacons ou bocaux stériles en verre, de capacité d'environ 500 ml.

A leur réception au laboratoire, les échantillons doivent être analysés dans les deux premières heures. La prise de la température et la teneur en chlore est nécessaire.

4.3. Préparation des échantillons

Tous les échantillons doivent être homogénéisés en agitant vigoureusement les flacons d'un mouvement vertical.

4.4. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux : méthode par filtration sur membrane

Les coliformes totaux sont des microorganismes indicateurs dont le dénombrement permet de déceler le niveau de pollution d'origine organique dans les canalisations d'eau potable.

La méthode de la membrane filtrante consiste à recueillir, identifier et énumérer à la surface d'une membrane filtrante stérile de porosité 0,45 µm les coliformes totaux et les coliformes fécaux présents dans un échantillon d'eau. Les résultats sont exprimés en UFC/100 ml.

Pour ce faire, il s'agit de filtrer à travers la membrane un volume déterminé de l'échantillon et d'incuber ensuite cette membrane pendant 24 heures à 37°C sur la gélose de Tergitol pour les coliformes totaux, 24h à 44°C pour les coliformes fécaux (annexe B1).

Les coliformes totaux apparaissent en colonies rondes, jaunes et les coliformes fécaux apparaissent en colonies jaunes orange.

4.5. Dénombrement des microorganismes revivifiables à 22°C et 37°C

Toute bactérie aérobie, capable de former des colonies dans un milieu nutritif gélosé.

Nous avons prélevé 1 ml de chaque flacon d'eau du réseau et nous l'avons déposé au fond d'une boîte de pétri stérile. Puis, nous avons versé la gélose à l'extrait de levure fondue dans les boîtes de pétri et nous avons mélangé en agitant délicatement les boîtes. L'incubation des boîtes se fait à 22°C pendant 72h et à 37°C pendant 48h (annexe B2).

4.6. Dénombrement des streptocoques fécaux

Nous avons placé l'entonnoir de filtration stérile sur la fiole à vide, puis nous avons déposé aseptiquement la membrane filtrante stérile d'une porosité de 0,45 µm sur le disque poreux à l'embase de l'entonnoir, l'ensemble est serré et raccordé à une pompe à vide. L'échantillon d'eau est agité rigoureusement puis nous avons versé un

volume de 100ml. Une fois filtrée, la membrane est déposée sur le milieu de culture slanetz.

Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h à 48h. Les colonies rouges briques visibles sur la boîte sont alors comptées (annexe B4). L'identification se fait sur milieu BEA (bile esculine azide).

4.7. Recherche du Clostridium

Nous avons déposé un volume de 20 ml d'eau du réseau dans un tube stérile et nous avons chauffé le tube à 80°C pendant 15 min, afin de détruire les formes végétatives. Ensuite nous avons versé le milieu SPS dans le tube et le mélangé sans faire de bulles, puis nous avons solidifié le contenu sous l'eau froide. L'incubation anaérobie a été faite à 46°C pendant 24h.

Les grosses colonies noires qui se sont développées en anaérobiose sont des colonies issues des spores (annexe B3).

III. ETUDE DE LA SENSIBILITÉ DES SOUCHES ISOLÉES DES ALIMENTS ET D'EAU PAR ANTIBIOGRAMME

1. Matériel

1.1. Milieu utilisé

La gélose standardisée Mueller-Hinton est un milieu riche et convenable, elle permet de tester l'action des antibiotiques sur les bactéries. Ce milieu est coulé en boîtes de façon à obtenir une épaisseur de 4 mm, et ensuite séché à 37 °C pendant 30 min avant son utilisation.

1.2. Isolats testés

Les isolats ont été identifiés en analysant la qualité bactériologique de certaines denrées alimentaires préparées et servies à l'hôpital Ibn Al Khatib et AL Ghassani de Fès sur une période s'étalant du mois de février à fin mai. Les souches *E .coli* et *St. aureus* pour lesquelles nous avons réalisé les tests de sensibilité par l'antibiogramme

ont été isolés. Nous avons jugé également de tester la sensibilité de *salmonella spp* et *P. aeruginosa*.

1.3. Antibiotiques utilisés

Les antibiotiques testés sont largement utilisés en thérapeutique humaine, et employés sous forme de disques de papier imprégnés de quantités déterminées d'antibiotiques, selon la procédure réalisée au laboratoire clinique au Centre Hospitalier Universitaire Hassan II (CHU).

La liste des isolats et leurs antibiotiques testés sont mentionnés dans le tableau 3 :

Tableau 3 : Liste des antibiotiques vis-à-vis des germes isolés.

Souches isolées	Antibiotiques testés
<i>E. coli</i>	Céfotaxime, Norfloxacine, Colistine, Gentamycine, Amoxicilline, Tobramycine.
<i>Staph. aureus</i>	Pénicilline G, Acide fusidique Amoxicilline, Erythromycine, Vancomycine, Ciprofloxacine
<i>P.aeruginosa</i>	Amoxicilline, Ciprofloxacine, Colistine, Gentamycine, Ampicilline , Imipenème
<i>Salmonella spp</i>	Céftriaxone, Chloramphénicol, Ciprofloxacine, Gentamycine, Amoxicilline, Ampicilline

2. Méthode

Nous avons appliqué la méthode par diffusion des disques imprégnés d'antibiotiques et la mesure des diamètres, (C'est la méthode de KIRBY-BAUER, elle est recommandée par l'OMS). La procédure est mentionnée dans l'annexe D.

2.1. Préparation de l'inoculum

Une à deux colonies des isolats (*E. coli*, *Staph. aureus*, *P. aeruginosas*, *Salmonella spp*) pures ont été prélevés et mises en suspension dans 5ml d'eau physiologique, jusqu'à l'obtention d'une même opacité que l'étalon Mac Farland 0.5. Si la suspension est trop trouble on ajuste l'opacité par l'ajout de l'eau physiologique.

2.2. Ensemencement des boîtes

Il se fait par inondation de la surface de la gélose par 1 à 2 ml de la suspension bactérienne, l'étalement se fait du centre vers les bords, nous avons éliminé ensuite l'excès d'inoculum par aspiration en inclinant les boîtes dans différentes directions. Nous avons laissé sécher les boîtes 5 à 10 minutes à température ambiante.

2.3. Disposition des disques

Nous avons déposé les disques sur la gélose à 15 mm du bord de la boîte en appuyant légèrement pour assurer le contact avec la gélose. Le dépôt est réalisé à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.

2.4. Lecture et interprétation des résultats

Après 24 heures, nous avons mesuré le diamètre de chaque zone (y compris le diamètre du disque) en mm, les résultats ont été ensuite interprétés en fonction des diamètres critiques (annexe E) :

- Si le diamètre mesuré est inférieur au diamètre correspondant à la concentration critique supérieure, la souche est résistante.
- Si le diamètre mesuré est supérieur au diamètre correspondant à la concentration critique inférieur la souche est sensible.
- Si le diamètre mesuré est compris entre les diamètres correspondant aux deux concentrations critiques, la souche est de sensibilité intermédiaire.



RESULTATS
ET
DISCUSSION

Le présent travail se ramifie en trois volets principaux :

- Etude rétrospective à partir de l'exploitation des registres archivés du laboratoire.
- Etude prospective sur la qualité des denrées alimentaire et de l'eau du réseau public (étalée sur quatre mois).
- Réalisation d'un antibiogramme permettant de tester la sensibilité des souches isolées des préparations des échantillons du laboratoire.

Dans cette partie nous exposerons les résultats que nous avons obtenus à partir de l'exploitation et l'étude des registres archivés du Laboratoire Régional du Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu (LRDEHM), concernant les analyses des denrées alimentaires et de l'eau du réseau, en provenance de l'hôpital Al Ghassani et Ibn Al Khatib, enregistrées entre 2000 et 2010.

I. Etude épidémiologique rétrospective sur la qualité bactériologique en restauration hospitalière

1. Répartition des analyses des aliments réalisés au LDRHEM par classes d'aliments

La consultation de la base de données du laboratoire révèle que le total des échantillons traités sur une période de 11 ans, est de 264.

Les aliments les plus analysés sont les plats cuisinés (39%), végétaux et crudités (21%), produits carnés (17%), les produits indéterminés (12%), poissons et produits de pêche (7%), par contre les aliments les moins analysés, le lait et dérivés, les sauces et les ovoproduits avec un pourcentage de 1% (figure 3).

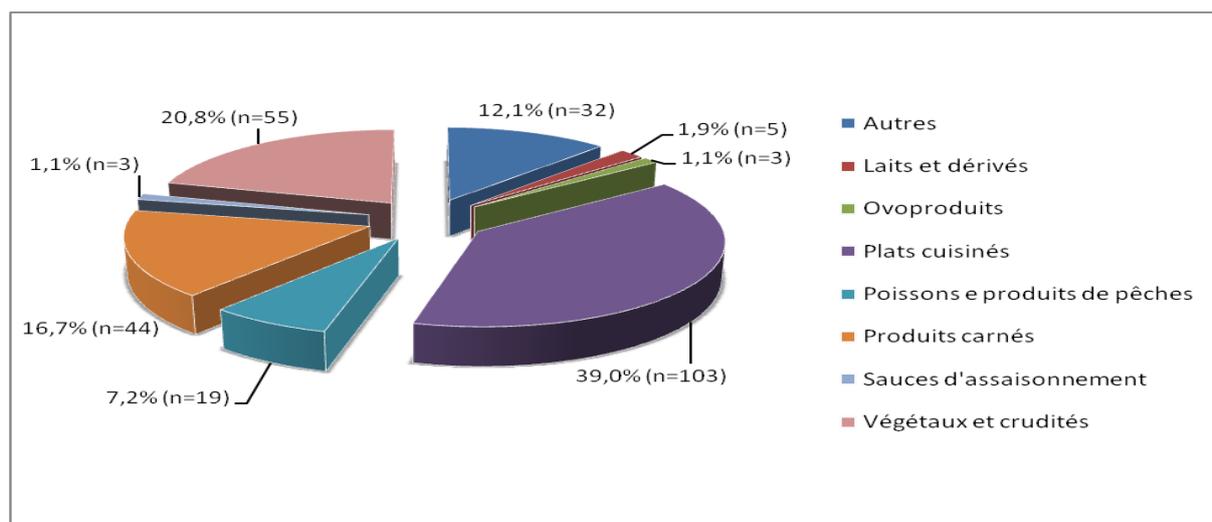


Figure 3 : Pourcentage des analyses des aliments réalisées au LRDEHM entre 2000 et 2010.

2. Répartition de la non-conformité par classe d'aliments

Sur les 264 denrées alimentaires analysées au cours de la période allant de 2000 à 2010, 31 échantillons se sont révélés positifs (12%). Les végétaux et crudités sont les plus souvent non conformes avec un pourcentage de (25%), Les produits carnés et les produits indéterminés (16%), les plats cuisinés (5%), par contre aucun échantillon n'a été révélé non conforme dans les ovoproduits, laits et dérivés, sauces, poissons et produits de pêche (figure 4).

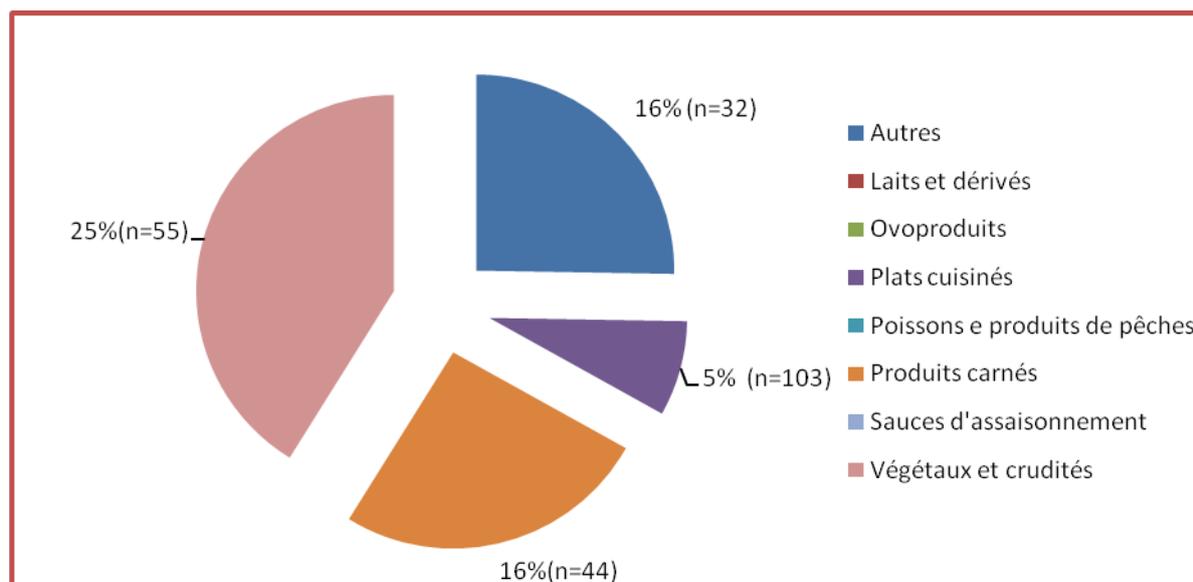


Figure 4 : Pourcentage de la non conformité par classe d'aliments entre 2000 et 2010

3. Analyse de l'eau du réseau traitée en provenance de la cuisine des hôpitaux

Durant une période de 11 ans, seulement un total de 19 échantillons qui ont été analysés (Figure 5). Ceci montre que l'eau à usage alimentaire ne présente aucune préoccupation majeure des services d'hygiène de la restauration hospitalière, malgré l'importance capitale de cet élément devin dans les établissements de santé.

Par ailleurs, des analyses microbiologiques approfondies vont être réalisées regroupant ainsi les autres catégories d'eau à usage thérapeutique (médical), chirurgicale (eau bactériologiquement maîtrisée) ou technique (sanitaires et climatisations).

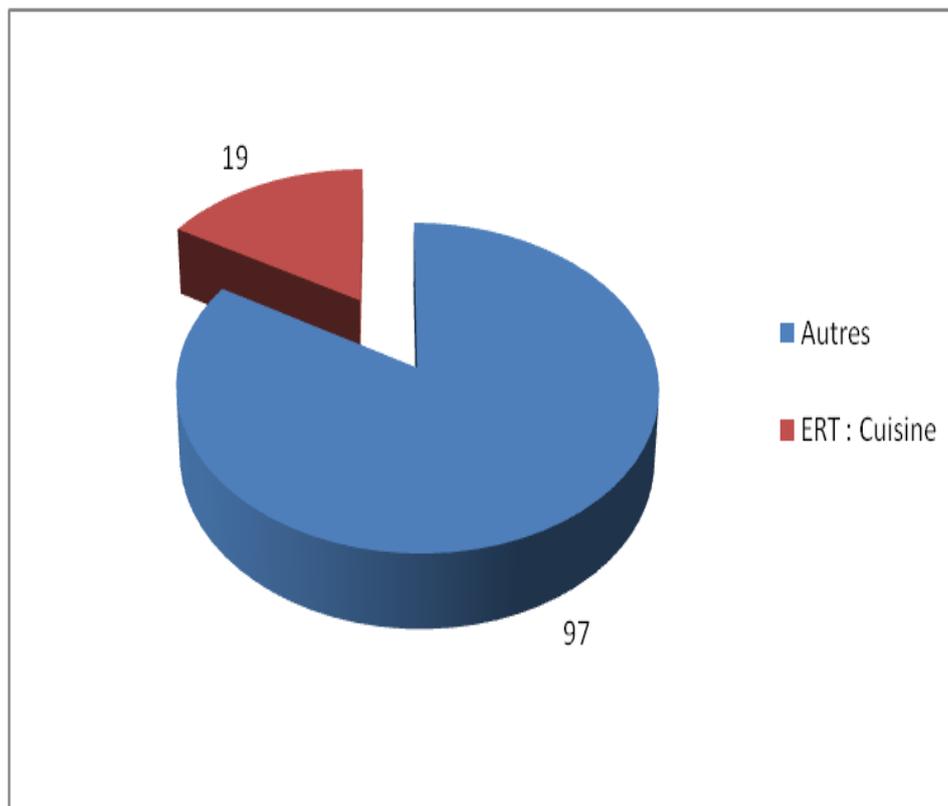


Figure 5: Nombre des échantillons d'eau analysés au LRDEHM entre 2000 et 2010.

4. Répartition spatio-temporelle des analyses des échantillons

4.1 Evolution annuelle

➤ Denrées alimentaire

L'examen de la répartition annuelle des préparations alimentaires montre une très grande fluctuation au niveau du traitement des prélèvements. Sur 264 échantillons entre 2000 et 2010, l'année 2007 a enregistré un pic de 74 échantillons (28%) dont 5 échantillons ont été révélés non conformes. Par contre les années 2000, 2001 et 2003 le total des échantillons traités était très faible et modérément évolué dans les années suivantes (figure 6). Ceci révèle que jusqu'à nos jours, les services d'hygiène hospitaliers n'accordent pas le souci et l'importance nécessaires aux analyses périodiques et régulières des aliments desservis aux patients.

En effet, vu que ces patients (en vertu de leurs maladies), sont généralement fragiles et sensibles aux contaminations alimentaires. De ce fait, la surveillance fréquenté des plats présentés devient un élément très vitale afin d'éviter toute aggravation de l'état de santé des malades.

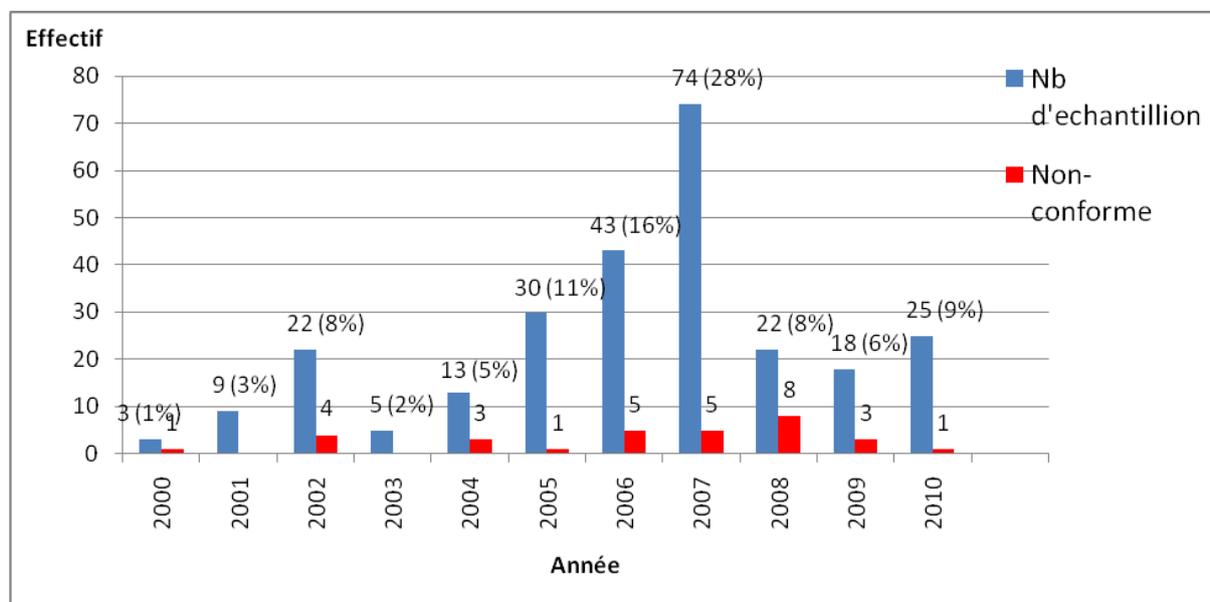


Figure 6 : Evolution annuelle du nombre des analyses d'aliments et du nombre de la non-conformité entre 2000 et 2010.

➤ Eau de consommation

D'après la figure 7, nous constatons que le nombre insuffisant des échantillons et l'absence de cas positifs, ainsi l'inexistence de prélèvement durant les années 2001, 2005, 2007 et 2008, ne permet pas d'évaluer la qualité microbiologique de l'eau dans le réseau intérieur de distribution des établissements de santé.

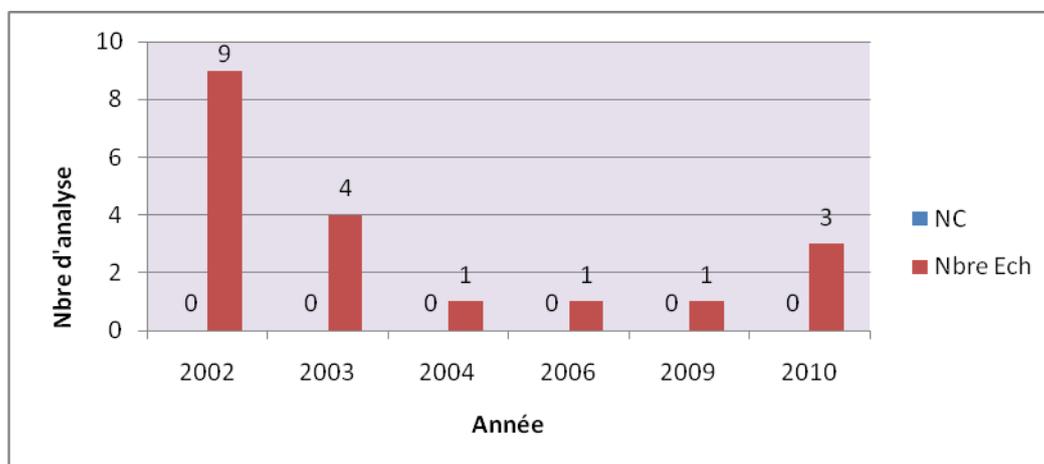


Figure 7 : Evolution annuelle du nombre des analyses d'eau et de la non-conformité entre 2000 et 2010.

4.2. Evolution mensuelle

➤ Denrées alimentaire

Le nombre des préparations analysées a peu varié au cours de la période d'un mois à l'autre (figure 8), un maximum de prélèvements s'est enregistré en mois d'octobre avec une valeur moyenne de (n=3,9).

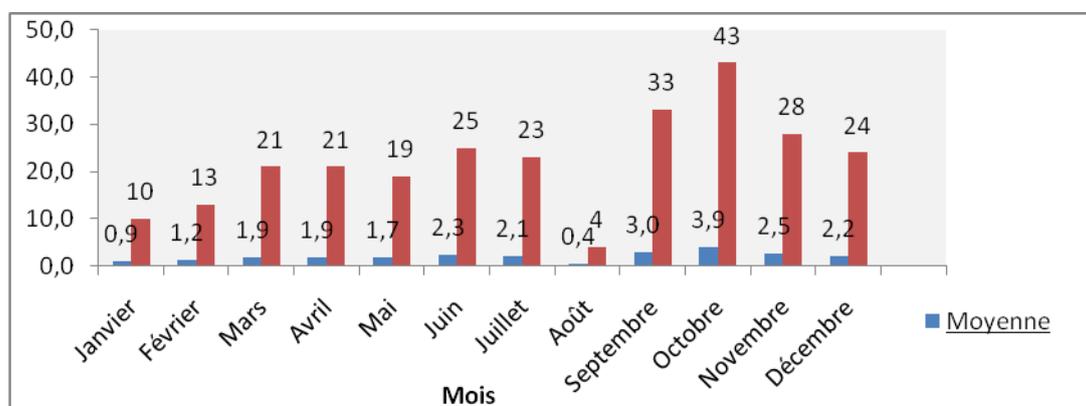


Figure 8 : Evolution mensuelle moyenne des analyses des aliments enregistrés au LRDEHM entre 2000 et 2010.

Sur 264 préparations desservies entre 2000 et 2010, l'analyse de la répartition saisonnière de la qualité bactérienne des préparations alimentaires montre une légère variation entre les mois de janvier jusqu'au mois de décembre à l'exception du mois d'août dont le nombre d'échantillons analysés est trop faible (n=4), ceci peut être due à la période des congés.

La valeur maximale des non-conformités est enregistrée entre mai et juillet (figure 9), ce qui reflète que la chaleur et le degré de température du milieu environnant est un facteur essentiel favorisant la contamination des aliments.

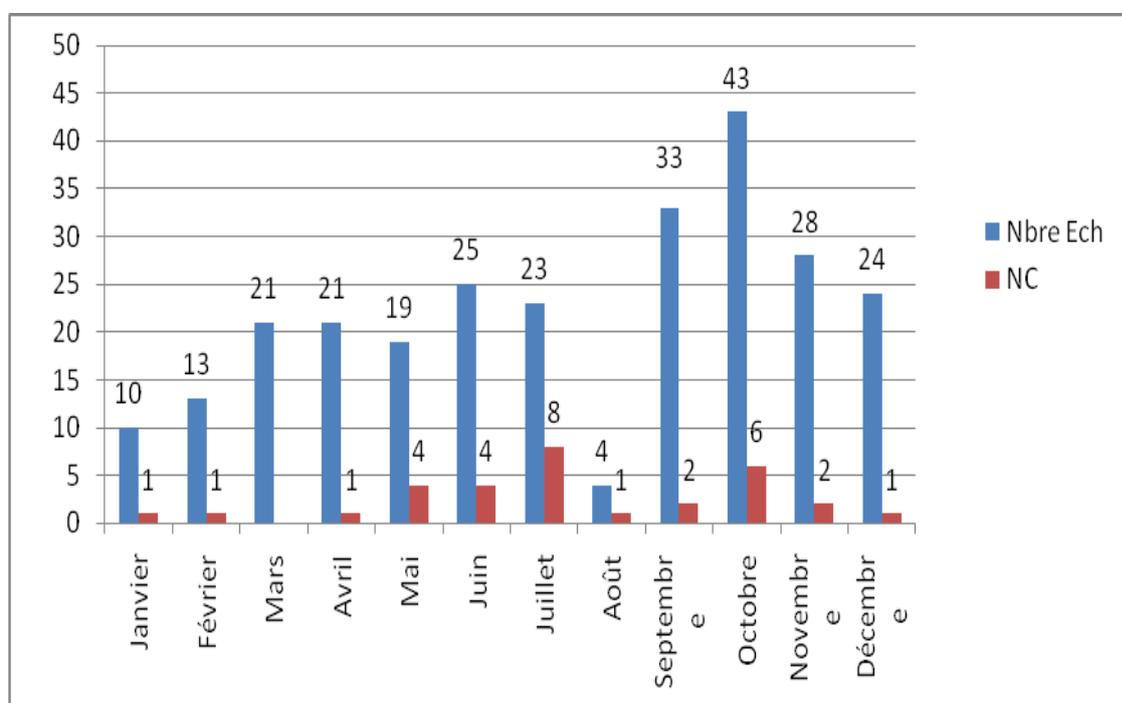


Figure 9: Evolution mensuelle de la non-conformité des échantillons d'aliments Analysés au LRDEHM entre 2000 et 2010.

➤ Eau de consommation

Globalement, la répartition des analyses d'eau de consommation, a été enregistrée avec une fréquence homogène qui varie entre deux et trois échantillons par mois (figure 10).

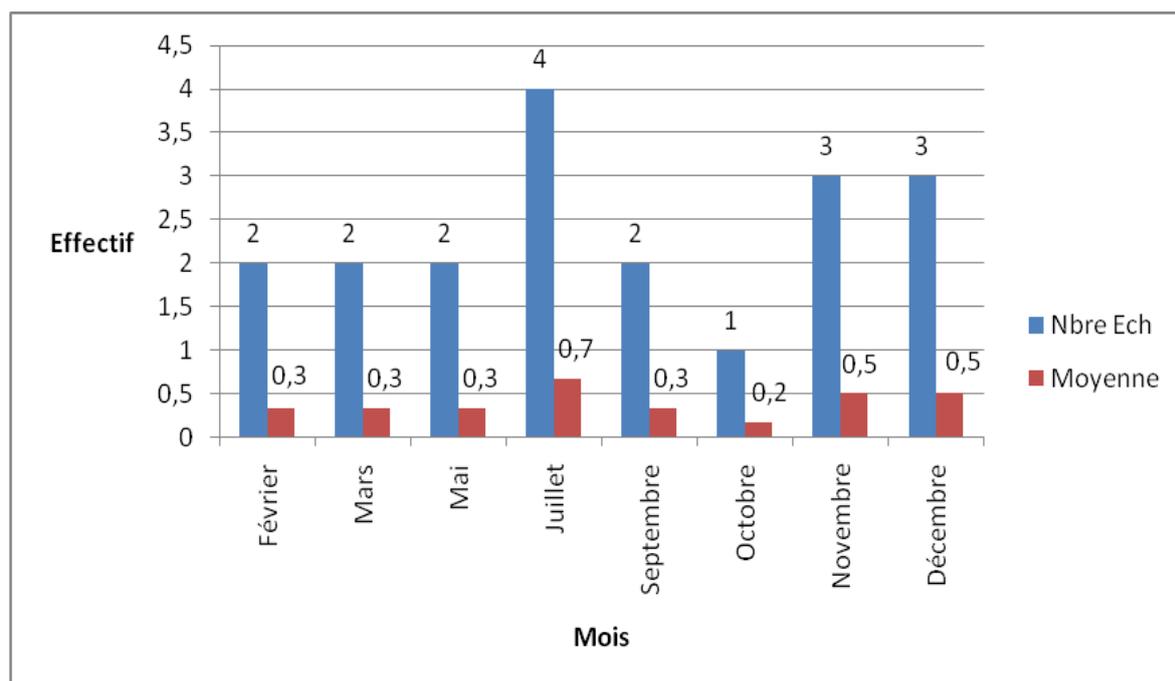


Figure 10: Evolution mensuelle moyenne des analyses d'eau du réseau enregistrées au LRDEHM entre 2000 et 2010.

4.3. Répartition des échantillons selon les hôpitaux

➤ Denrées alimentaires

D'après la figure, l'hôpital Al Ghassani a enregistré le plus grand nombre d'échantillons ($n=169$) ainsi que le nombre des non-conformités ($n=19$) des aliments par rapport à l'hôpital Ibn Al Khatib (figure 11).

Cela est dû probablement à la taille des deux établissements ainsi qu'à leur capacité d'accueil. Il faut signaler que l'hôpital Al Ghassani appartient au centre hospitalier Hassan II pendant la période allant de 2002 au 2008 (**Rapport d'activités, 2003**).

D'après la synthèse des résultats, les risques microbiologiques alimentaires mis en évidence par les non conformités trouvées imposent aux personnels de la restauration hospitalière de bien surveiller et s'assurer de l'absence de contamination bactérienne des aliments.

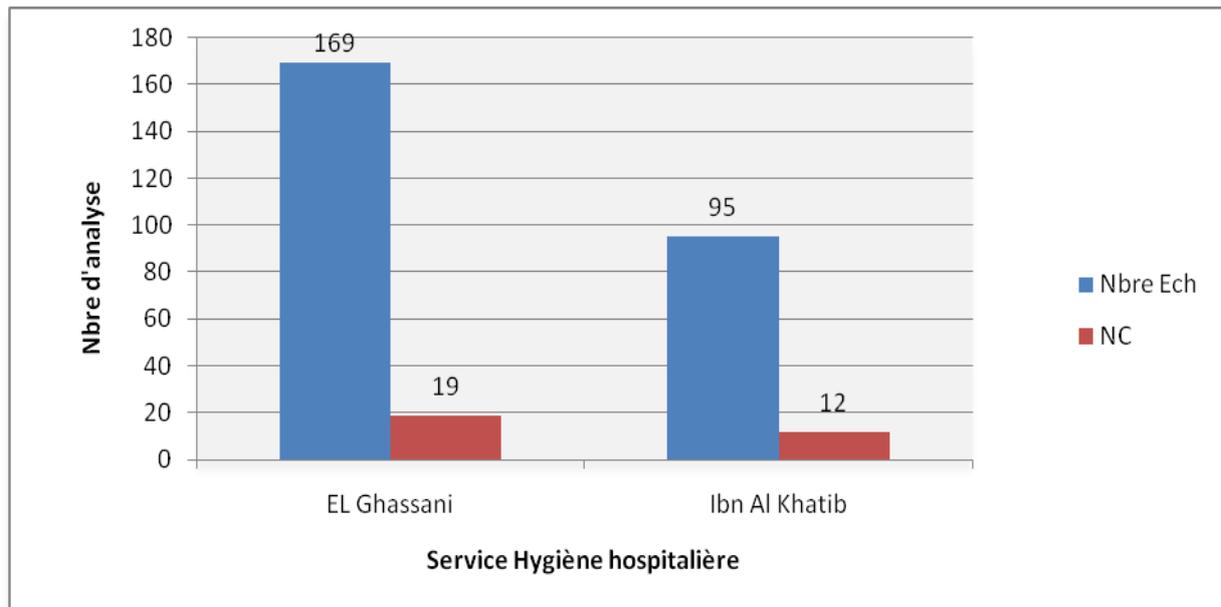


Figure 11: Répartition du nombre des analyses des aliments et de la non conformité des échantillons entre 2000 et 2010 aux hôpitaux Al Ghassani et Ibn Al Khatib.

➤ Eau de consommation

D'après la figure 12, tous les échantillons ont été prélevés à l'hôpital Ibn Al Khatib, par contre l'hôpital Al Ghassani n'a enregistré aucun prélèvement.

Il apparaît clairement que le manque de prélèvement ne permet pas l'évaluation des risques infectieux hydriques pour les patients.

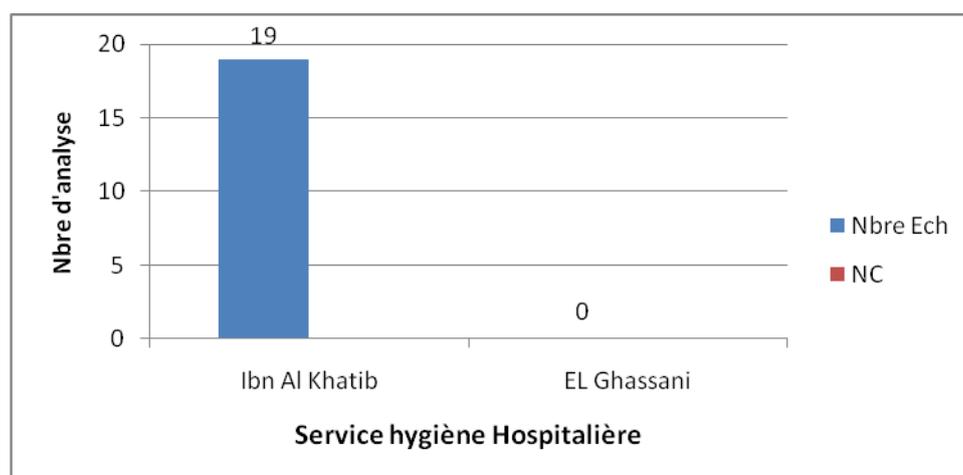


Figure 12: Répartition du nombre d'analyses d'eau potable et de la non-conformité aux des hôpitaux, Al Ghassani et Ibn Al khatib.

5. Variation du nombre de la non- conformité des aliments en fonction des germes suspects

Dans la majorité des cas, la contamination est due à la prolifération importante des coliformes fécaux (47%). Viennent ensuite *Staphylococcus aureus* (15%), les coliformes totaux (13%) et la flore mésophile (11%). Les anaérobies sulfitoréducteurs viennent en dernière position (5% de préparations non conforme) (figure 13), alors que la contamination par *salmonella* n'a pas été décelée (figure 14).

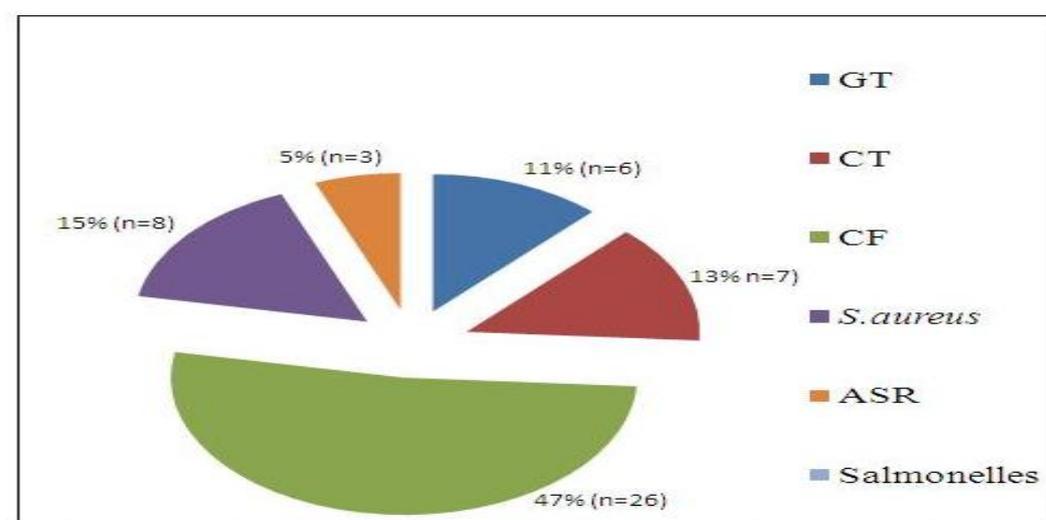


Figure 13 : Pourcentage de contamination des microorganismes dans les aliments.

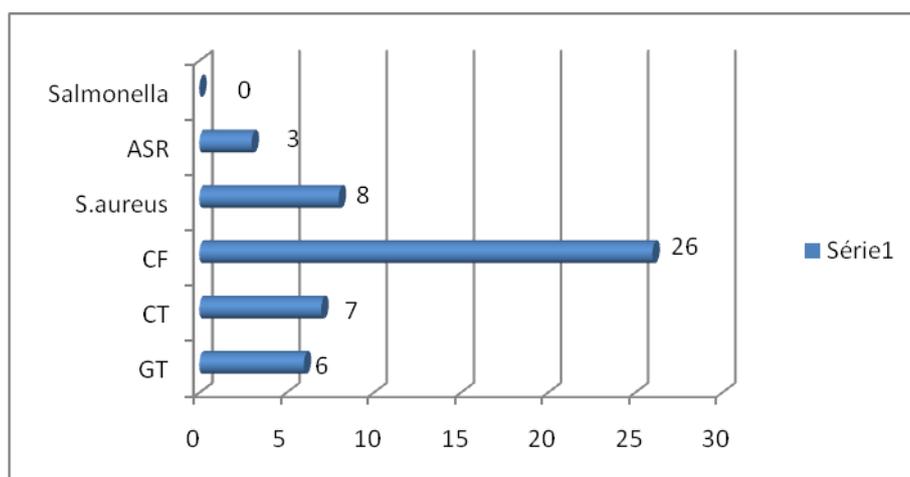


Figure 14 : Variation de la non-conformité des échantillons alimentaires par rapport aux germes suspectés.

La contamination par *Staphylococcus aureus* et les anaérobies sulfito-réducteurs pourrait témoigner du manque d'hygiène et de non respect des bonnes pratiques en restauration hospitalière.

II. Etude prospective sur la qualité bactériologique en restauration hospitalière de l'hôpital Al Ghassani et Ibn Al Khatib de Fès

Notre étude a porté sur 52 échantillons d'aliments et 25 échantillons d'eau potable en provenance de la cuisine des établissements de santé Al Ghassani et Ibn Al khatib de Fès (figure 15).

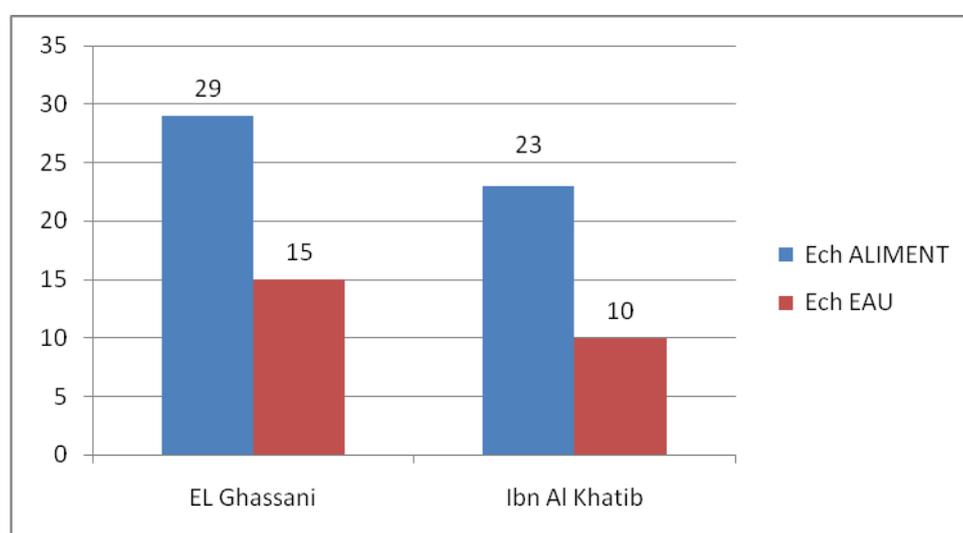


Figure 15 : Répartition des échantillons d'eau et d'aliments prélevés des deux hôpitaux Al Ghassani et Ibn Al khatib et analysés au LRDHEM.

1. Variation de la contamination par classe d'aliments

D'après les résultats portés sur la figure 16, il apparaît que les taux de contamination les plus élevés sont notés au niveau des plats cuisinés à base de viande (33%) d'une part, les végétaux et crudités (67%) d'autre part, contrairement à une étude similaire qui a été faite par **Lejeune et al (1988)** où le pourcentage de la contamination des viandes tranchées et des légumes est respectivement de (15,9%) et (17,8%).

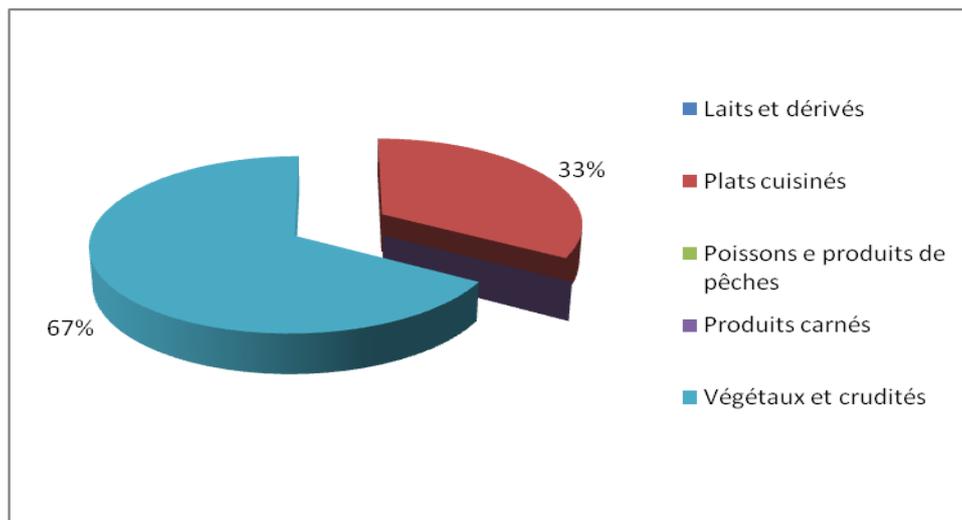


Figure 16: Répartition des différents types de préparations alimentaires non conformes.

2. Etude des dénombrements bactériens dans les échantillons d'aliments analysés.

2.1. Flore mésophile aérobie totale

La charge bactérienne des différents prélèvements analysés est obtenue en calculant la moyenne des valeurs trouvées au niveau des 52 échantillons. La contamination moyenne en FMAT est de l'ordre de 10^4 UFC/g. Elle varie entre 0 UFC/g et un maximum de 10^6 UFC/g (tableau 4).

Une étude comparative (Dejli et al. 2000) des nombres de bactéries existant dans les échantillons prélevés du centre hospitalier Avicenne de Rabat nous a montré qu'il n'y avait pas de différence significative entre les taux bactériens trouvés. La flore mésophile aérobie totale (FMAT) a présenté des taux variant de $3,3 \cdot 10^2$ UFC/g pour les plats cuisinés jusqu'à $5,2 \cdot 10^6$ UFC/g pour les échantillons du poulet cru.

Tableau 4: valeurs minimales, maximales et moyennes des microflores analysées au niveau des échantillons d'aliments en UFC/g.

	FMAT	CT	CF	<i>St. aureus</i>	ASR	<i>Salmonella</i>
Moyenne	$4,1 \cdot 10^4$	$3,7 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^2$	8,44	0,86	Abs
MIN	0	0	0	0	0	Abs
MAX	10^6	10^4	$9 \cdot 10^3$	310	10	Abs

2.2. Coliformes totaux

Compte tenu des conditions de son étude, cette flore comporte, outre les bactéries mésophiles, la plupart des psychrotrophes. Elle n'est pas rigoureusement totale puisque n'y figurent pas les bactéries exigeantes en certains facteurs de croissance.

D'après les résultats portés sur le tableau 4, il apparaît que les taux bactériens par gramme d'aliment se situent entre 0 et un maximum de 10^4 UFC/g. La charge moyenne des CT est de l'ordre de $3,7 \cdot 10^3$ UFC/g. Une constatation analogue a été faite par **Dejli et al (2000)** ont rapporté une charge maximale des coliformes fécaux atteignant $5 \cdot 10^4$ UFC/g.

2.3. Coliformes fécaux

La charge moyenne des CF dans les aliments analysés est de l'ordre de $2 \cdot 10^2$ UFC/g. Elle varie entre une valeur nulle et un maximum de $9 \cdot 10^3$ UFC/g (tableau 4), ce résultat avoisine celui trouvé par (**Dejli, et al. 2000**) avec un maximum de $3,3 \cdot 10^3$.

Les échantillons non conformes représentent (38%) (figure 17), cette valeur nous paraît assez inquiétante car le germe *E. coli* fait partie des CF, ce germe est connu par sa virulence et qui provoque un SUH qui détruit les érythrocytes et entraîne une insuffisance rénale aiguë. Nous avons pu isoler certaines souches d'*E. coli*.

Shooter et al. en 1971, Lors d'une étude portant sur les aliments préparés dans plusieurs hôpitaux soulignent le fait que la bactérie recherchée : *Escherichia coli* est

nettement plus fréquent dans les salades vertes que dans les autres catégories d'aliments (plats cuisinés). Dans les salades, l'incidence d'*E.coli* est de 20,9 %. Les taux d'*E. coli* est supérieurs à 10^3 bactéries par gramme dans au moins la moitié des salades contaminées.

Une étude comparative réalisée par **Loiseau- Marolleau et Laforest (1976)** montre aussi que le germe *Escherichia coli* est trouvé dans 34,5% des aliments à des taux échelonnés entre 10 et 1.000 bactéries par gramme. Il prédomine dans les viandes hachées et les salades vertes.

Les études menées par **Montgomerie en 1970**, Shooter en 1971, **Selden en 1971**, **Casewell et Phillips en 1978** et **Cooke en 1980** ont abouti à démontrer le rôle que pourrait jouer la nourriture hospitalière contaminée par des germes pathogènes dans l'infection hospitalière. Comme le remarque **Loiseau- Marolleau (1976)**, la pollution alimentaire par des bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes amène à poser le problème de leurs possibilités d'implantation dans le tube digestif et de leur rôle dans l'infection hospitalière et dans le transfert de résistance aux antimicrobiens.

Par conséquent, la maîtrise des conditions de préparation des aliments par l'application des bonnes pratiques d'hygiène et le respect des températures, permet d'éviter la contamination et la prolifération microbienne. De plus, l'éducation sanitaire du personnel de la restauration hospitalière devrait être améliorée avec des règles simples d'hygiène élémentaire telles que le lavage des mains pour la préparation des repas.

2.4. *Staphylococcus aureus*

Dans cette étude, trois souches de *Staph. aureus* ont été identifiées dans deux types de préparations alimentaires à savoir les plats cuisinés à base de viande et les plats à base de végétaux et crudités.

La valeur moyenne de ce germe est de l'ordre de 8,44 UFC/g, les valeurs minimales et maximales varient entre 0 et 310 UFC/g, soit un taux de contamination de 6%(figure 17). Par contre les charges les plus élevées en *Staph. aureus* ont été

notées au niveau des échantillons du poulet cru, avec un maximum de $1,5.10^5$ UFC/g d'après les travaux de **Dejli et al (2000)**.

L'incidence de *Staph. aureus* est de 7,7 % pour les 194 aliments examinés lors d'une étude réalisée par **Loiseau-Marolleau et Laforest (1976)** et un pourcentage d'incidence de 11,71% rapporté par **Lejeune et al (1988)**.

Il apparait que la présence de *Staph. aureus* témoigne d'une contamination secondaire, d'origine humaine des aliments, donc il s'agit d'une conséquence logique d'un ensemble d'opérations non hygiéniques vue que cette bactérie est commensale de la peau et des muqueuses de l'homme.

2.5. Bactéries anaérobies sulfito-réducteurs

Nos résultats montrent l'absence des ASR dans la quasi-totalité des aliments analysés, son taux est faible inférieur à 10^2 UFC/g.

Par contre l'étude de **Loiseau-Marolleau et Laforest (1976)** ont rapportés un pourcentage de contamination de 14,4% dans les salades vertes.

Des travaux analogues faits par **Rodriguez-Rebollo en 1974** montrent que lors d'une analyse de la flore bactérienne des légumes et des fruits, les teneurs en germes aérobies totaux, en coliformes et *E. coli*, en *Clostridium perfringens* (ASR) sont plus élevés dans les légumes que dans les fruits.

2.6. Salmonelles

Sur les 52 échantillons analysés, nous avons noté l'absence d'éventuelles contaminations par les Salmonelles dans les différents types de préparations alimentaires (figure 17).

On constate que ce type de contamination quoique toujours très faible, a disparu dans les services de la restauration hospitalière, chose qui montre une nette amélioration de la qualité microbiologique des plats.

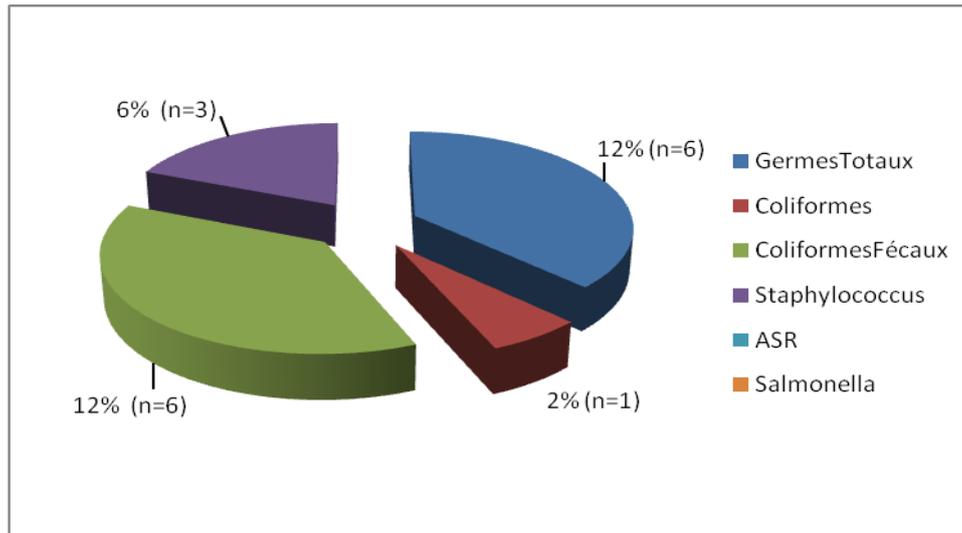


Figure 17 : Pourcentage de la contamination des aliments par les microorganismes.

3. Variation mensuelle de la contamination

L'analyse des résultats ne révèle pas de différences importantes observées durant les deux mois de mars et mai avec un taux de contamination de 12%, par contre le mois de février et avril, les résultats sont globalement meilleurs avec un taux de conformité de 100% (figure 18).

Dans les études récentes faites en milieu hospitalier par **Abouda et al (2010)** ont affirmé que le taux de la contamination des aliments servis aux patients a concrètement diminué et de ce fait, le taux de non-conformité s'est dégradé de 24 % en 2007 jusqu'à 15% en 2010. Alors que **Majjou (2006)** affirme que l'incidence de pourcentage de contamination des aliments est de 25% dans une étude bactériologique effectuée durant le premier semestre de l'année 2006 par l'unité d'hygiène hospitalière de l'hôpital Ibn Sina de Rabat.

Le taux global de non-conformité trouvé montre clairement une amélioration importante et significative de la qualité bactériologique des plats servis aux patients.

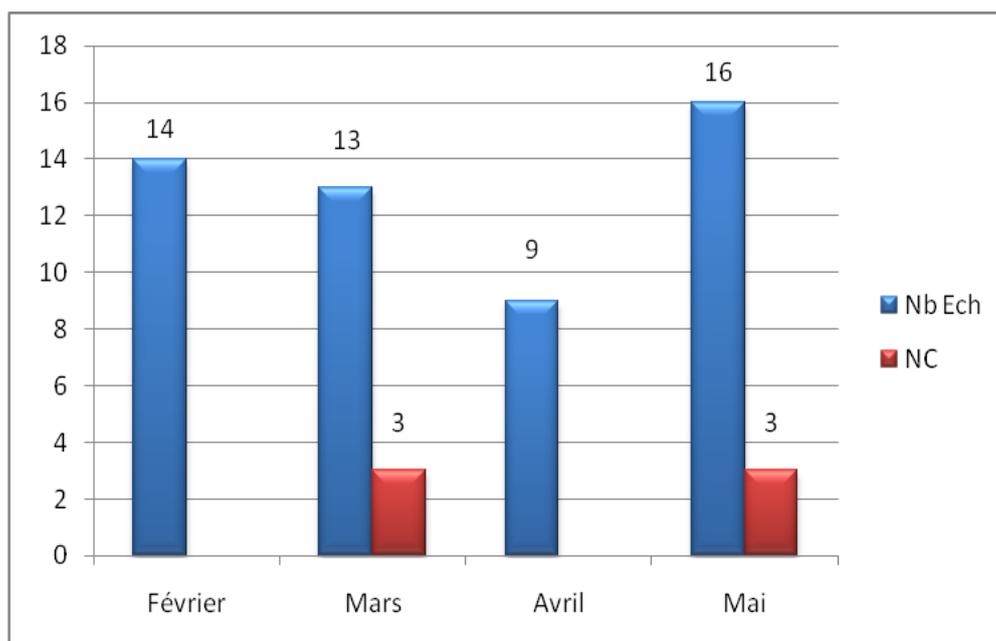


Figure 18 : Evolution mensuelle des analyses et de la non-conformité des aliments analysés entre le mois de février et mai 2011.

4. Répartition des échantillons alimentaire par classe de contamination

D'après la figure 19, exprimant les résultats en tenant compte des quatre niveaux de qualité (satisfaisante, acceptable, non satisfaisante et impropre à la consommation), il s'avère que 69% des échantillons sont d'une qualité satisfaisante, 13% des échantillons présentent une qualité acceptable, 6% sont non satisfaisante et 12% sont impropres à la consommation (NM. BO N°: 5214/2004).

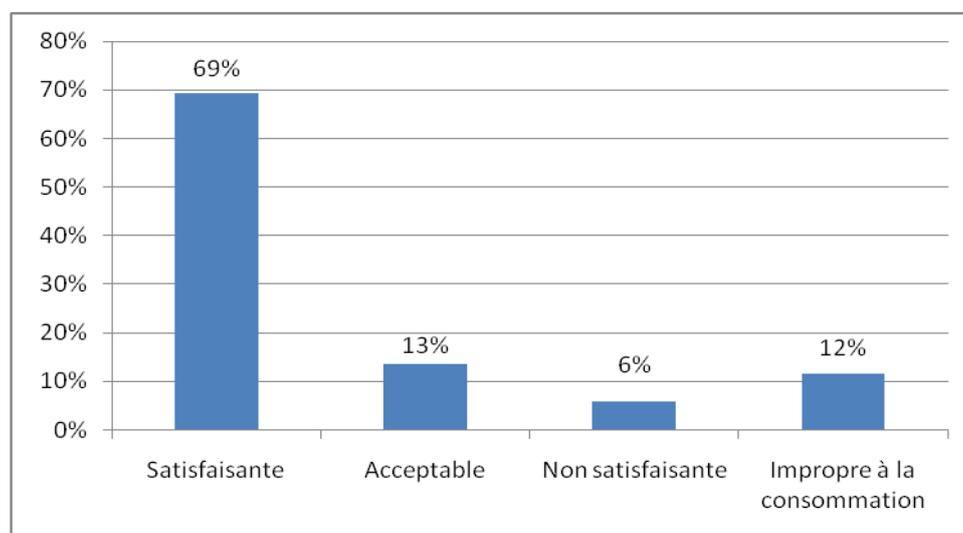


Figure 19: Répartition des échantillons par classe de contamination.

5. Etude des dénombrements bactériens dans les échantillons d'eau analysés.

Globalement, nous observons que sur 25 échantillons d'eau analysés et selon les limites de conformité de la norme marocaine, les échantillons ont montré une conformité au niveau des coliformes totaux. La recherche des autres germes pathogènes ou potentiellement pathogènes n'a pas été décelée (tableau 5). Ces résultats confirment la bonne qualité hygiénique de l'eau distribuée dans les établissements de santé. Ceci n'empêche pas de faire une vérification périodique pour s'assurer de la qualité de l'eau afin d'éviter la survenue d'infections nosocomiales liées à la contamination de l'eau distribuée.

Tableau 5: Valeurs moyennes des germes par rapport à l'eau du réseau traitée.

Germes UFC/g Type d'eau	GT	GT	CT	CF	ASR	Streptocoques
	22°C	37°C		(E.coli)		fécaux
Eau du Réseau	5,32	1,72	0	0	0	0

III. Etude de la sensibilité des souches isolées des aliments par antibiogramme

Pour les 52 échantillons d'aliments analysés, L'incidence des souches alimentaires résistantes aux antibiotiques a été étudiée surtout pour *E. coli*, *Staph. aureus* et *salmonella spp*, cette dernière a été isolée au LRDEHM et identifiée au Centre Hospitalier Hassan II de Fès.

Nous avons proposé de tester aussi la sensibilité de *P. aeruginosa* isolé à partir de l'eau du réseau en milieu hospitalier en vue d'établir le profil d'antibiorésistance de cette souche.

1. Antibiorésistance des souches alimentaires

1.1. *E. coli*

Les différents antibiotiques sont étudiés sur *E. coli* comme espèce représentative des coliformes fécaux. Les résultats obtenus sur le tableau (6) montrent une légère résistance vis-à-vis de céfotaxime et tobramycine. Le reste des antibiotiques à montré 100% d'activité sur *E. coli*, à l'exception de l'amoxicilline qui a montré une activité intermédiaire (figure 20).

L'incidence des souches alimentaires résistantes aux antibiotiques a été étudiée surtout pour *Escherichia coli* par **Walton (1970)**, **Shooter et al (1971)** **Cooke et al (1980)**. D'après ces travaux il ressort que les polyrésistances sont observées essentiellement parmi les souches de provenance animale contaminant les viandes et les volailles.

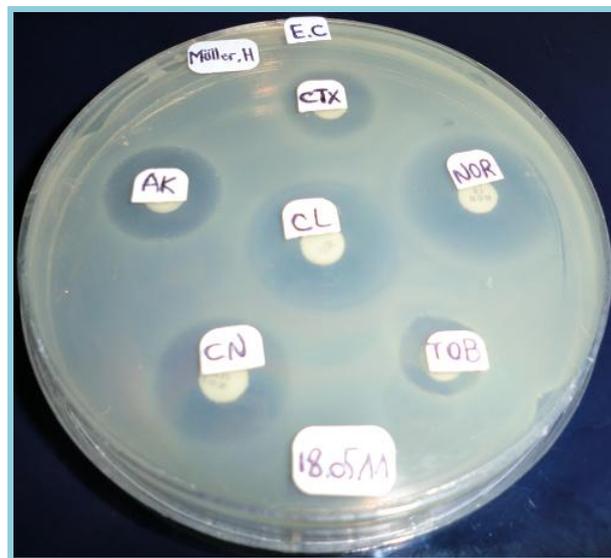


Figure 20: Antibiogramme montrant l'activité des antibiotiques sur *E. coli*.

Tableau 6: Résistance d'*E. coli* aux différents antibiotiques testés.

Antibiotique	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Résistance
Céfotaxime (CTX)	16	Résistante
Norfloxacine (NOR)	25	Sensible
Colistine (CL)	23	Sensible
Gentamycine (CN)	19	Sensible
Amoxiciline (AK)	20	Intermédiaire
Tobramycine (TOB)	12	Résistante

1.2. *Staph. aureus*

La pénicilline G est pratiquement inactive sur *Staph. aureus*, le profil de résistance de cette bactérie est comparable à celui des souches isolés dans les aliments en milieu hospitalier, cette étude est réalisée par **Dejli et al (2000)**. L'acide fusidique et la ciprofloxacine ont montré une activité plus ou moins importante (Tableau 7). Par contre vancomycine a présenté un profil de résistance intermédiaire (figure 21).

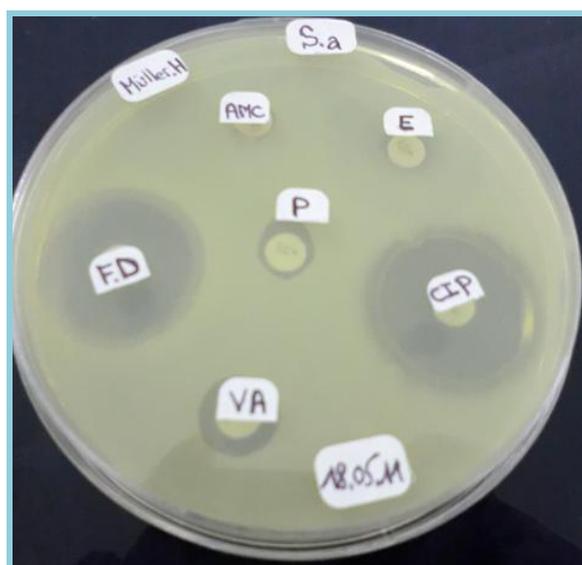


Figure 21: Antibiogramme montrant l'activité des antibiotiques sur *Staph. aureus*.

Tableau 7 : Résistance de *Staph. aureus* aux différents antibiotiques testés.

Antibiotique	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Résistance
Pénicilline G (P)	9	Résistante
Acide fusidique (A.F)	25	sensible
Amoxycilline (Am)	8	Résistante
Erythromycine (E)	9	Résistante
Vancomycine (VA)	13	Intermédiaire
Ciprofloxacine (CIP)	25	Sensible

1.3. *Salmonella spp*

Salmonella spp a présenté une résistance à l'amoxycilline et l'ampicilline. Par contre les autres antibiotiques sont tous actifs (tableau 8, figure 22).

La résistance à ces antibiotiques serait due peut être à l'usage de ces derniers dans les élevages intensifs, et en aviculture en particulier. D'après certaines études, cette résistance a touché d'autres sérotypes isolés chez l'homme et chez l'animal. **Brisabois et al (1995)** en étudiant la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Salmonella* isolées chez l'homme et chez l'animal, rapportent que plus de 80 % de résistance aux tétracyclines et aux sulfamides ont été notés et que cette résistance était toujours associée à la résistance à l'ampicilline (**Dejli et al. 2000**). D'autres études portant sur des souches de *Salmonella* d'origine humaine ont abouti aux mêmes fréquences de résistance vis-à-vis des antibiotiques (**Zouhdi et al. 1996**). Le profil de résistance entre les souches isolées chez l'homme et chez l'animal est donc très comparable. Ces résultats suggèrent d'une part, l'acquisition de la résistance aux antibiotiques des souches de *Salmonella* par recombinaison et transfert entre elles, et d'autre part, la possibilité de transfert de cette résistance de l'animal à l'homme, de plus en plus confirmée (**Dejli et al. 2000**).



Figure 22: Antibiogramme montrant l'activité des antibiotiques sur *Salmonella spp.*

Tableau 8: Résistance de *Salmonella spp* aux différents antibiotiques testés.

Antibiotique	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Résistance
Céftriaxone (Ci)	25	Sensible
Chloramphénicol (C)	23	Sensible
Ciprofloxacine (CIP)	31	Sensible
Gentamycine (G)	20	Sensible
Amoxyciline (Am)	10	Résistante
Ampiciline (AMP)	10	Résistante

1.4. *P. aeruginosa*

La souche présente le profil de résistance le plus important parmi les bactéries étudiées. La Gentamicine, la Colistine et la ciprofloxacine sont les antibiotiques les plus actifs (figure 23). *P. aeruginosa* est d'une activité intermédiaire à l'imipénème, alors que les autres antibiotiques (amoxycilline et l'ampicilline) n'ont présenté aucune activité (tableau 9). Des résultats similaires ont été présentés par **Dejli et al (2000)**.

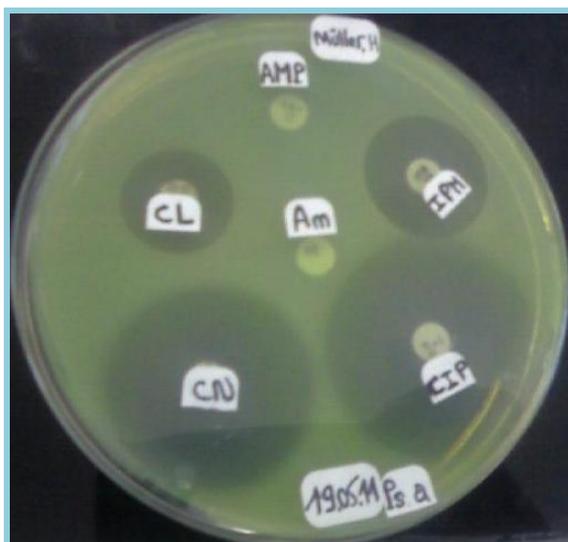


Figure 23: Antibiogramme montrant l'activité des antibiotiques sur *P. aeruginosa*.

Tableau 9: Résistance de *P. aeruginosa* aux différents antibiotiques testés.

Antibiotique	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Résistance
Amoxycilline (Am)	0	Résistante
Ciprofloxacine (CIP)	36	Sensible
Colistine (CL)	17	Sensible
Gentamycine (CN)	30	Sensible
Ampiciline (AMP)	0	Résistante
Imipénème (IMP)	19	Intermédiaire

En résumé, *Escherichia coli* provenant des coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* et *Pseudomonas aeruginosa* ont été testées pour leur sensibilité vis-à-vis de différents antibiotiques largement utilisés en thérapeutique humaine. Ces souches étudiées ont présenté le même profil de résistance à l'amoxycilline. Une résistance très élevée vis-à-vis du ciprofloxacine, ainsi la gentamicine et la colistine étaient les antibiotiques les plus actifs.



CONCLUSION GENERALE

L'alimentation est un service quotidien à l'hôpital. Elle touche l'ensemble des usagers du secteur qui, pour une grande majorité d'entre eux, conçoivent l'alimentation comme un élément important des actes de vie.

Rentrant dans le cadre de la surveillance épidémiologique du risque microbien à l'hôpital, les analyses bactériologiques des denrées ont abouti à évaluer la qualité microbiologique des aliments servis aux patients de l'hôpital Al Ghassani et Ibn Al Khatib de Fès.

Les résultats de l'étude rétrospective sur l'analyse de l'eau du réseau montrent un nombre très faible d'échantillons analysés dans une période de 11 ans, ceci ne permet pas d'évaluer la qualité microbiologique de l'eau dans le réseau intérieur de distribution des établissements de santé. D'autre part, les analyses des denrées alimentaires ont abouti à un pourcentage de contamination de 47% par des coliformes fécaux, 15% par *Staphylococcus aureus*, 13% par les coliformes totaux et 11% par la flore mésophile. Les anaérobies sulfitoréducteurs viennent en dernière position (5% de préparations étaient non conforme).

Dans cette étude prospective, nous avons analysé un total d'échantillons compris entre 25 prélèvements d'eau du réseau intérieur et 52 prélèvements d'aliments dont le pourcentage de contamination est respectivement de l'ordre de 0% et 12%.

Le niveau de contamination par les germes totaux est de 12%, les coliformes fécaux est de 12%, et *Staph. aureus* est de 6%. Alors que la recherche des salmonelles ainsi que les anaérobies sulfitoréducteurs s'est révélée négative.

La contamination par *Staphylococcus aureus* et les anaérobies sulfito-réducteurs pourrait témoigner du manque d'hygiène et de non respect des bonnes pratiques en restauration hospitalière.

Nous avons noté aussi l'absence des germes pathogènes dans les échantillons d'eau analysés chose qui évalue la bonne qualité de l'eau du réseau distribuée à l'intérieur des canalisations.

L'étude de la sensibilité des espèces d'*E. coli*, *Staph. aureus*, *P. aeruginosa*, et *Salmonella spp* par les antibiotiques sont couramment utilisés en thérapeutique humaine. Ces souches étudiées ont présenté le même profil de résistance à

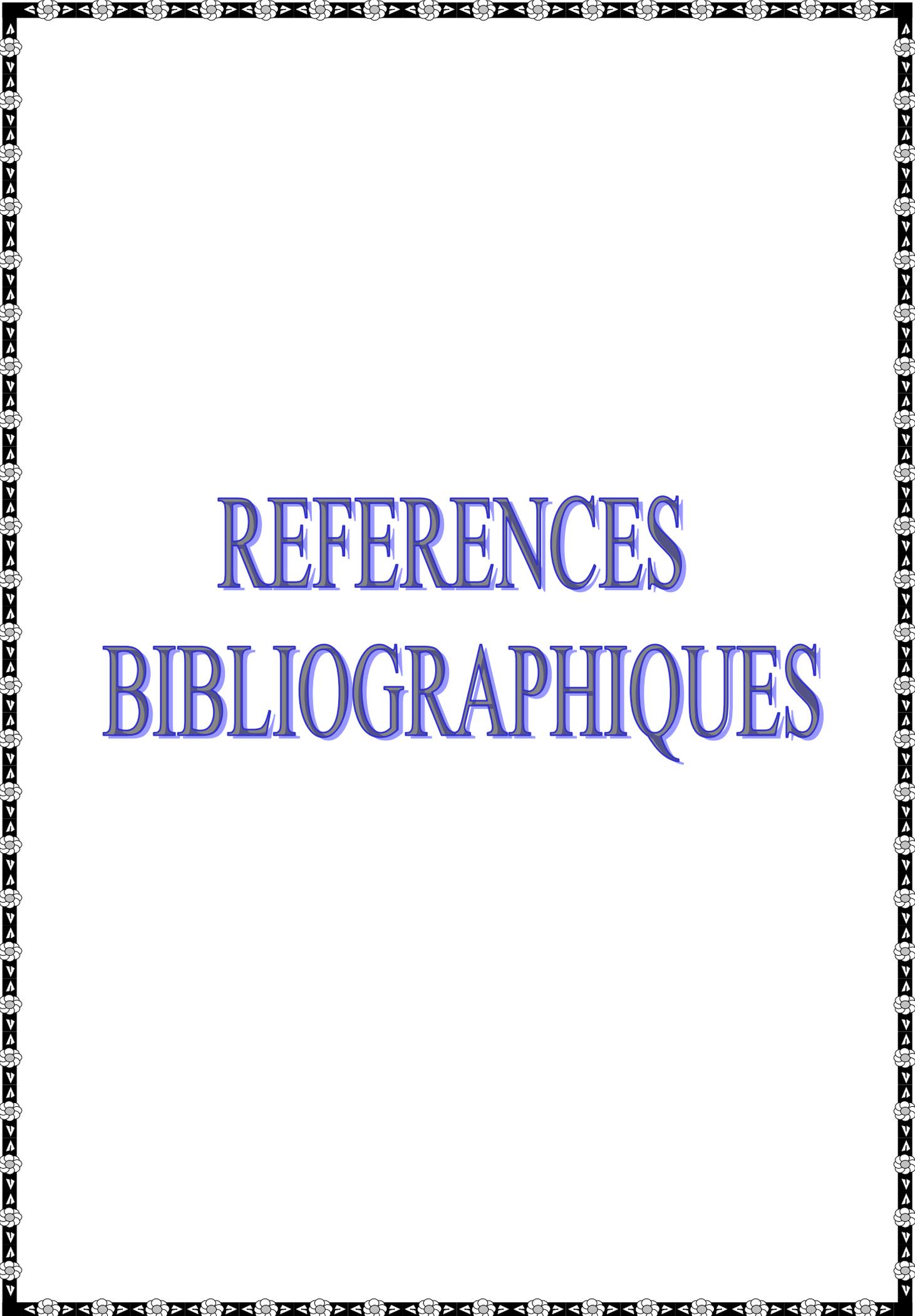
l'amoxicilline. Une résistance très élevée vis-à-vis de la ciprofloxacine, ainsi la gentamycine et la colistine ont été les antibiotiques les plus actifs.

Au cours de ce travail, nous n'avons pas ainsi analysé d'autres aspects importants de cette qualité comme les composantes nutritionnelles et hédoniques. L'alimentation doit en effet être considérée comme un tout et des défauts de qualité dans un des aspects peuvent influencer la qualité de l'ensemble de la prestation. En tenant compte de ces différents aspects, des actions d'amélioration pourront alors être identifiées et intégrées dans un programme complet soutenu par une structure qui pourrait garantir des prestations optimales à ce niveau.

A la lumière de ces résultats, nous recommandons aux personnels impliqués dans la restauration hospitalière de maîtriser les conditions de préparation des aliments par l'application des bonnes pratiques d'hygiène, ainsi que le renforcement de leurs niveaux de compétences par des formations.

En perspective, il est intéressant de réaliser des prélèvements des denrées alimentaires d'une façon systématique dans le temps et dans l'espace, ainsi de bien gérer le risque et maîtriser ses points critiques par la mise en place d'un système de sécurité alimentaire type HACCP (**Ben Jaâfar, 2005** et **Dahl et al, 1997**).

A l'instar d'autres pays, un comité de liaison alimentation nutrition (CLAN) pourrait jouer ce rôle en coordination avec les services d'hygiène hospitalière dont les tâches de surveillance épidémiologique restent importantes à ce niveau, sans oublier la valeur éducative de l'intervention de l'hygiéniste pour l'ensemble du personnel de la cuisine de la restauration hospitalière, seul garant d'une responsabilisation des professionnels concernés.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

YAHIA ABOUDA, NABIHA BOUAFIA, RIDHA MZOUGH, HAMIDA HOUIJ, MANSOUR NJAH .2010. La qualité bactériologique en restauration hospitalière : un paramètre de gestion de risque infectieux. ScienceLib Editions Mersenne : ISSN 2111-4706 Volume 3 , N ° 110301

AFSSA, Agence Française de Sécurité sanitaire des aliments, 2000 : Rapport de la commission d'étude des risques liés à *Listeria monocytogenes*.

ALARY M., 1991. Risk factors for contamination of domestic hot water systems by Legionelle. Appl Environ Microbial 1991; 57: 2360-7.

AMÉLIE AVET-ROCHEX, 2005. Thèse : Rôle de l'exoenzyme S de *Pseudomonas aeruginosa* dans la virulence bactérienne. p: 2,3

ANNE NARDIN, 1997. L'hôpital face à la question de l'alimentation, in « L'appétit vient en mangeant ! Histoire de l'alimentation à l'hôpital, catalogue du Musée de l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Doin Editeurs, paris, p. 11-18.

APHA (American Public Health Association) / AWWA (American Water Works Association /WEF (Water Environment Federation) (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater. 20^{ème} édition. Washington, DC.

AVRIL J-L., DABERNAT H., DENIS F., MONTEIL H., 2000. Bactériologie Clinique, Ellipses, Paris, 601 p.

ASSISES NATIONALES QUALIBIO, 1996. La qualité de l'eau dans le secteur santé. Techniques Hospitalières: p: 22-59

AWWA Committe Report (1999). Emerging pathogens bacteria. Water Works Assoc., p: 101-109.

B

BEN JAÂFAR K.S. 2005. Etude comparative sur les plats cuisinés présentés au buffet entre un groupe d'hôtels appliquant le système HACCP et un groupe sans système. Microb.Hyg.Ali., 17(48): 9-14.

BENLARABI, S., SEMLALI, I., ELOUFIR, G., BADRI, M., 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 10 et 11 Mars, Institut National De L'administration Sanitaire (Inas) – Rabat.

BOLNOT F.H., CARLIER V, 2000. Sécurité des aliments : du risque à la crise. Bull Soc Vet Prat de France;84(no 3):130–42.

C

CATTEA M., 2006. Fiche de description de danger transmissible par les aliments: *Listeria monocytogenes*. Agence française de sécurité sanitaire.

CASEWELL M.W., PHILIPS I. 1978. Food as a source of Klebsiella species for colonisation and infection of intensive care patients. J. Chir. Path. 31,845-849.

COHEN N., ENNAJI H., HASSAR M., and KARIB H., 2006. The Bacterial quality of red meat and offal in Casablanca (Morocco). Mol.Nutr.Food Res. 50:557-562.

CLAUDE FISCHLER, DIAFOIRUS et LUSTUCRU, 1989. « Nourritures », Autrement, n°108, Paris, pp.126-140.

COOKE E.M., SAZEGAR T., EDMONSON A.S., BRAYSON J.C., HALL D. 1980, KlebsieUa species in hospital food and kitchens: a source of organisms in the bowel of patients. J. Hyg. Camb. 84, 97-101.

COSSON C, 2002. Sécurité et vigilance alimentaires à l'hôpital. Éditions de l'École Nationale de la Santé Publique.

COSSON C, BOLNOT F.-H, TRONCHON P, 2003. Sécurité alimentaire en milieu hospitalier : de la logique de crise à la logique de progrès. ELSEVIER, Nutrition Clinique et Métabolisme.

CUQ J.L. (2007). Microbiologie alimentaire : contrôle microbiologique des aliments Manuel technique politech département : science et techniques des industries alimentaires.

D

DAHL, CA, MATTHEWS, ME, 1997. Hospital cook/chill foodservices systems. Effect of endtemperature of initial cooking on yield and moisture of beef loaf during processing. J Am Diet Assoc, Jul 75(1): 34-6.

DECADE C, MARTY L, DEMONTROND D, MANUEL C, CABRIT R, MANN G., 2005. Gestion du risque infectieux d'origine alimentaire dans les unités de soins. XVI EME CONGRES NATIONAL DE LA SFHH. REIMS.

DEJLIL J., CHIBANIL A., ZOUHDI M., EL MESSOUIL M. ALAOUI M.A., EL YACHIOUIL M. 2000. Antibiorésistance de certains germes isolés dans les aliments en milieu hospitalier (CHU AVICENNE, Rabat). Med Mal Infect ; 30 : 661-4
éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS..

DELMAS G., GALLAY A., ESPIÉ E., HAEGHEBAERT S., PIHIER N., WEILL F. X., DE VALK H., VAILLANT V. ET DÉSENCLOS J. C, 2006. Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 1996 et 2005. BEH 51-52 418-422.

F

FREVEY J., RENAUD F., HANSEN W., BOLLET C, 2000. Précis de bactériologie clinique, (Laccassogne A. Eds), ESKA.

G

GALAF.F, GHANNAM.S. (2003). Contribution à l'élaboration d'un manuel et d'un site Web sur la pollution du milieu marin. Mémoire de 3^{ème} cycle présenté pour l'obtention du Diplôme d'ingénieur d'état en Agronomie Option : halieutique. IAV Hassan II, Rabat. p : 8-10.

GREIG J. D., TODD E. C., BARTELSON C. A. et MICHAELS B. S. (2007). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 1. Description of the problem, methods, and agents involved. J Food Prot, 1752-61.

Groupe eau Santé. Eaux à usage médical, 1998. Définitions et interprétations pratiques Asta Medica. Merignac.

GUGNANI, H.C. (1999). Some emerging food and water borne pathogens. J. Commun. Dis: 65-72.

GUIRAUD J-P, 2003. Microbiologie alimentaire, Dunod, Paris, RIA (Le mensuel de l'innovation alimentaire), 651 p.

H

HAEGHEBAERT S., LE QUERREC E., GALLAY A., BOUVET P., GOMEZ M., VAILLANT V., 2002. Les toxi-infections alimentaires en France en 1999 et 2000. B.E.H, 23 : 105-109

HAEGHEBAERT S., LE QUERREC E., VAILLANT V., DELAROCQUE-ASTAGNEAU E., BOUVET P., (2001). Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 1998, Bull. épidémiol. Hebd. 15 65-70.

HYGIS N, 1998. Hygiène hospitalière ; Manuel de lutte contre l'infection nosocomiale. Ed. C &R La M Madeleine., p 411.

HARTEMANN P., KRAMER M., 1998. Risque infectieux, eau et hôpital. Hygiènes ; 6 : 385-8.

J

JACKSON, S.G., GOODBRAND, R.B., JOHNSON, R.P., ODORICO, V.G., ALVES, D., RAHN, K., WILSON, J.B., WELCH, M.K. ET KHAKHRIA, R. (1998). *Escherichia coli* O157:H7 diarrhoea associated with well water and infected cattle on an Ontario farm. Epidemiol. Infect, 120 : 17-20.

K

KILVINGTON, S. ET PRICE, J. (1990). Survival of *Legionella pneumophila* within cysts of *Acanthamoeba polyphaga* following chlorine exposure. J. Appl. Bacteriol., 68 : 519-525.

L

LABBE R. 1989. Clostridium perfringens. In Foodborne Bacterial Pathogens, Doyle M. P. (Ed.), Marcel Dekker, New York.

LECLERC H, FESTY B, LAZAR P, 1982. Connaissances actuelles de la pathologie hydrique. Rev Epidemiol Sante pub1; 30 : 363-85.

LEJEUNE B., POINSIGNON M., LE ROUX N., et LE BRAS M.P. 1988. L'hygiène alimentaire en cuisine hospitalière: Bilan de trois années de surveillance microbiologique. Médecine et Maladies Infectieuses - 2bis - 110 à 114.

LIEBERMAN R.J., SHADIX, L.C., NEWPORT, B.S., CROUT, S.R., BUESCHER S.E., SAFFERMAN R.S., STETLER R.E., Lye, D., SHAY FOUT D. et Dahling, D.R. (1994). Source water microbial quality of some vulnerable public ground water supplies: Proceedings of the 1994 Water Quality Technology Conference, Part II., p. 1425-1436. American Water Works Association, Denver, CO.

LIN Y.E., STOUT J.E., Yu Y.L. et VIDIC R.D. (1998). Disinfection of water distribution systems for Legionella. *Semin. Respir. Infect.*, 13 : 147-159.

LOISEAU-MAROLLEAU M.L., LAFOREST H. 1976. Contribution à l'étude de la flore bactérienne des aliments en milieu hospitalier. *Med. Mal.Inf.*, 5, 160-171.

LYCZAK J. B., CANNON C. L., et PIER, G.B. 2000. Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. *Microbes Infect* 2: 1051-60.

M

MAJJOU M., 2006. Etude de la sécurité du circuit alimentaire dans les hôpitaux, Cas de l'hôpital Ibn Sina de Rabat. Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de 2ème cycle des EPM Section : Surveillant des services de santé. 2eme Cohorte : 2004-2006.

MANON DUQUENNE, 2010. Thèse : Incidence de paramètres technologiques sur l'expression de gènes et la production d'entérotoxines de *St. aureus* au cours des 72h suivant l'emprésurage des laits en fabrication fromagère.

MATHIEU L., SIBILLE I., HARTEMANN P., 1998. Ecosystème et biotilm des réseaux de distribution d'eau potable. *Hygiènes* : 6 : 375-84.

MOE, C.L. (1997). Waterborne transmission of infectious agents. Dans : *Manual of environmental microbiology*. Sous la direction de C.J. Hurst, G.R. Knudsen, M.J. McInerney, L.D. Stetzenbach et M.V. Walter. ASM Press, Washington, DC.

MONTGOMERIE J.Z., DOAK P.B., TAYLOR D.E., NORTH J.D.K., MARTIN W.J. 1970. Klebsiella in faecal flora of renal-transplant patients. *Lancet*, 2,787-792.

N

NM 03.7.001. (2006). Norme marocaine relative à la qualité des eaux d'alimentation humaine. Bulletin Officiel N° 5404 du 16 Mars 2006.

NM 08.0.116 (2004). Recherche des salmonella.

NM 08.0.121 (2004). Dénombrement des microorganismes par comptage des colonies obtenus à 30°C.

NM 08.0.124 (2004). Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenus à 30°C.

NM 08.0.125, (2004). Dénombrement en anaérobiose des bactéries sulfito-réducteurs par comptage des colonies.

NM 08.01.104, ISO 6888 (2004). Directives générales pour le dénombrement de *staphylococcus aureus*.

NM 08.0.100, 2001. Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique

NGUYEN M.H., STOUT J.E. ET YU, V.L. (1991). Legionellosis. Infect. Dis. Clin. North Am., P: 561-584.

NUGON-BAUDON L., ET MOLLIER P. (2002). La sécurité alimentaire à l'INRA. Dernière consultation en décembre 2009.

O

O.M.S, 1972. Directives de qualité pour l'eau de boisson. Genève

O.M.S, 2002. Directive de qualité pour l'eau de boisson Genève

OUMOKHTAR B., (2000). Qualité bactériologique de viandes, d'abats, de préparations carnées et d'huîtres commercialisées à Rabat. Doctorat national N°15 : Université chouaib Doukkali, Faculté des sciences el jadida, UFR : science de l'alimentation, option : microbiologie alimentaire.

P

PALMER C.J., TSAI, Y-L., PASZKO-KOLVA C., MAYER C. ET SANGERMANO L.R. (1993). Detection of *Legionella* species in sewage and ocean water by polymerase chain reaction, direct fluorescent-antibody, and plate culture methods. Appl. Environ. Microbiol., 59 : 3618-3624.

POPOFF M. (Institut Pasteur), 2006. Fiche de description de danger transmissible par les aliments: *Clostridium perfringens*. Agence française de sécurité sanitaire.

POULAIN JP., SAINT-SEVEN B., 1990. La restauration hospitalière-des attentes alimentaires du malade hospitalisé à la conception du système de restauration, éditions Cristal, diffusion Lanore.

R

RAGON Alain, 2006. L'eau et la santé dans les établissements de soins. Support de formation développé dans le cadre du projet INTERREG.

RIOU F., LE GUYADER A., 1995. Risque infectieux et surveillance des circuits d'eau à l'hôpital. Hygiènes : 8 : 26-30.

Rapport d'activités du CENTRE HOSPITALIER HASSAN II 2003-2004.

RIGAUD D., DUTHEIL M., BOUROULLEC A., PUISSANT MC., TRONCHON P., ALLOUCHE R., 1999. Facteurs individuels dans l'appréciation de la qualité de la restauration hospitalière : évaluation prospective auprès de 8140 patients. Cahier de nutrition et de diététique Fév.;Vol. 34(no 1).

S

SELDEN R., LEE S., WANG W.L, BENNETT J.V., EICKHOFF T.C. 1971. Nosocomial *Klebsiella* infections : intestinal colonisation as a reservoir. Ann. Int. Med, 74,657-667.

SQUINAZI F., LABADIE A., 1998. L'eau à l'hôpital. Dans N. HYGIS - Hygiène hospitalière. Collection Azay - Lyon : Presses Universitaires de Lyon.

SQUINAZI F, 1998. L'eau en milieu hospitalier. éd. Infections nosocomiales et environnement hospitalier. Paris : Flammarion Médecine-Sciences. p : 40-7.

SHOOTER R.A., FAIERS M.C., COOKE E.M., BRAEDEN A.L., O'FARRELL S.M. 1971 - Isolation of *E. coli*, *Ps. Aeruginosa* and *Klebsiela* from foods in hospitals, canteens and schools. Lancet,2, 390-392.

SWERDLOW D.L., WOODRUFF B.A., BRADY R.C., GRIFFIN P.M., TIPPEN, S., DONNELL H.D., GELDREICH E., PAYNE, B.J., MEYER, A., WELLS J.G., GREENE K.D., BRIGHT M., BEAN N.H., ET BLAKE P.A. (1992). A waterborne outbreak in

Missouri of *Escherichia coli* O157:H7 associated with bloody diarrhea and death. Ann. Intern. Med., 17(10) : 812-819.

T

TODD E. C., GREIG J. D., BARTLESON C. A. ET MICHAELS B. S. (2007A). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 2. Description of outbreaks by size, severity, and settings. J Food Prot, 1975-93.

TODD E. C., GREIG J. D., BARTLESON C. A. ET MICHAELS B. S. (2007B). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 3. Factors contributing to outbreaks and description of outbreak categories. J Food Prot 70 (9), 2199-217.

TODD E. C., GREIG J. D., BARTLESON C. A. ET MICHAELS B. S. (2008). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 5. Sources of contamination and pathogen excretion from infected persons. J Food Prot , 2582-95.

TRONCHON P., BONHOMME C., 1994. « Projet restauration service à l'AP-HP ». Revue hospitalière de France Sept/oct. (No 5).

U

Unité sanitaire de Bruce- Grey -Owen Sound 2000, The investigative report on the Walkerton outbreak of waterborne gastroenteritis, Owen Sound

V

VANDELLEN C., ET IGLEWSKI B. 1998. Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. Emerg Infect Dis: 551-60.

VARNAM A.H., EVANS M.G., 1996. Foodborne Pathogens, Manson Publishing Ltd, London.

W

WALTON L.R. 1970. Contamination of meat carcasses by antibiotic-resistant coliform bacteria. Lancet, 561-563.

WERTHEIM H.F., MELLES D.C., VOS M. C., VAN LEEUWEN W., VAN BELKUM A., VERBRUGH H.A., ET NOUWEN J. L. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*, 751-62.

WILLIAMS R. E., (1963). "Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance." *Bacteriol Rev*: 56-71.

Y

YVES BUISSON, REMY TEYSSOU. 2002. La sécurité sanitaire des aliments d'origine animale : Les toxi-infections alimentaires collectives. Dossier scientifique : *Revue Française des Laboratoires*, N ° 348.

Z

ZOUHDI M, BENOUDA A, ALAOUI MA. Etat actuel de résistance des salmonelles aux antibiotiques au CHU Ibn Sina de Rabat. 1996. *Revue Marocaine de Biologie-Infectiologie*; (numero special) : 24-8.



ANNEXES

Annexe A**Tableau 10:** Spécifications des eaux d'alimentation humaine : Paramètres à effet sanitaire (NM 03.7.001).

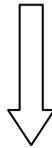
Paramètres	Valeur Maximale Admissible (VMA)	Remarque
Coliformes	0/100 mL	Pas de coliformes dans 95% des échantillons prélevés sur une période de 12 mois
Micro-organismes revivifiables à 22 °C et 37 °C	20/1 mL à 37°C 100/1 mL à 22°C	Variation dans un rapport de 10 par rapport à la valeur habituelle
Escherichia coli	0/100 mL	Non détectables dans un échantillon de 100 ml
Entérocoques intestinaux	0/100 mL	Non détectables dans un échantillon de 100 ml

Annexe B₁ : Fiches techniques

Dénombrement des coliformes totaux et fécaux dans l'eau de consommation

(NM 03.7.001)

Filtration de 100 ml d'eau sur membrane

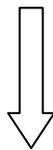


Boîtes de Pétri contenant le milieu lactosé au Tergitol 7 et au TTC



Incubation des CT à 37°C pdt 24h

Incubation des CF à 44°C pdt 24h



Réduction du TTC : colonies rouges

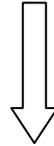
colonies jaunes : E. coli

Annexe B2 : Fiches techniques

Dénombrement des microorganismes revivifiables dans l'eau du réseau

(NM 03.7.001)

Placer un volume de 1ml dans une boîte de pétri stérile



Ajout de la gélose à l'extrait de levure



Incubation à 37 °C



Incubation à 22°C



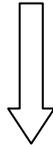
Dénombrement des microorganismes aérobies totaux à 20°C ou à 37°C

(Colonies blanchâtres)

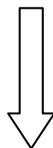
Annexe B3 : Fiches techniques

Dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs dans l'eau (NM 03.7.001)

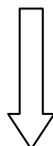
Méthodes en tubes



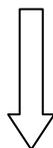
Placé un volume de 20 ml d'eau dans un tube stérile et le porter au bain d'eau à 80°C pendant 10 min (destruction de la forme végétative)



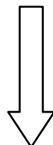
Tubes contenant 20ml du milieu SPS



Homogénéiser par rotation sans faire de bulles



Incuber après solidification à 46°C pdt 24h

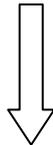


Dénombrement des colonies noires apparentes

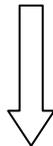
Annexe B4 : Fiches techniques

Dénombrement des streptocoques fécaux dans l'eau (NM 03.7.001)

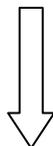
Filtration de 100 ml d'eau sur membrane



Boites de Pétri contenant le milieu de Slanetz



Incubation à 37°C pendant 24h

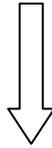


colonies de taille moyenne, roses ou rouges.

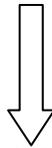
Annexe B5 : Fiches techniques

Dénombrement de la flore mésophile totale dans l'aliment (NM.08.0.102)

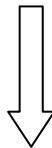
1ml de dilution décimale (10^{-1}) de l'aliment



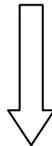
Boites de Pétri stériles



Couler 15 ml de gélose PCA



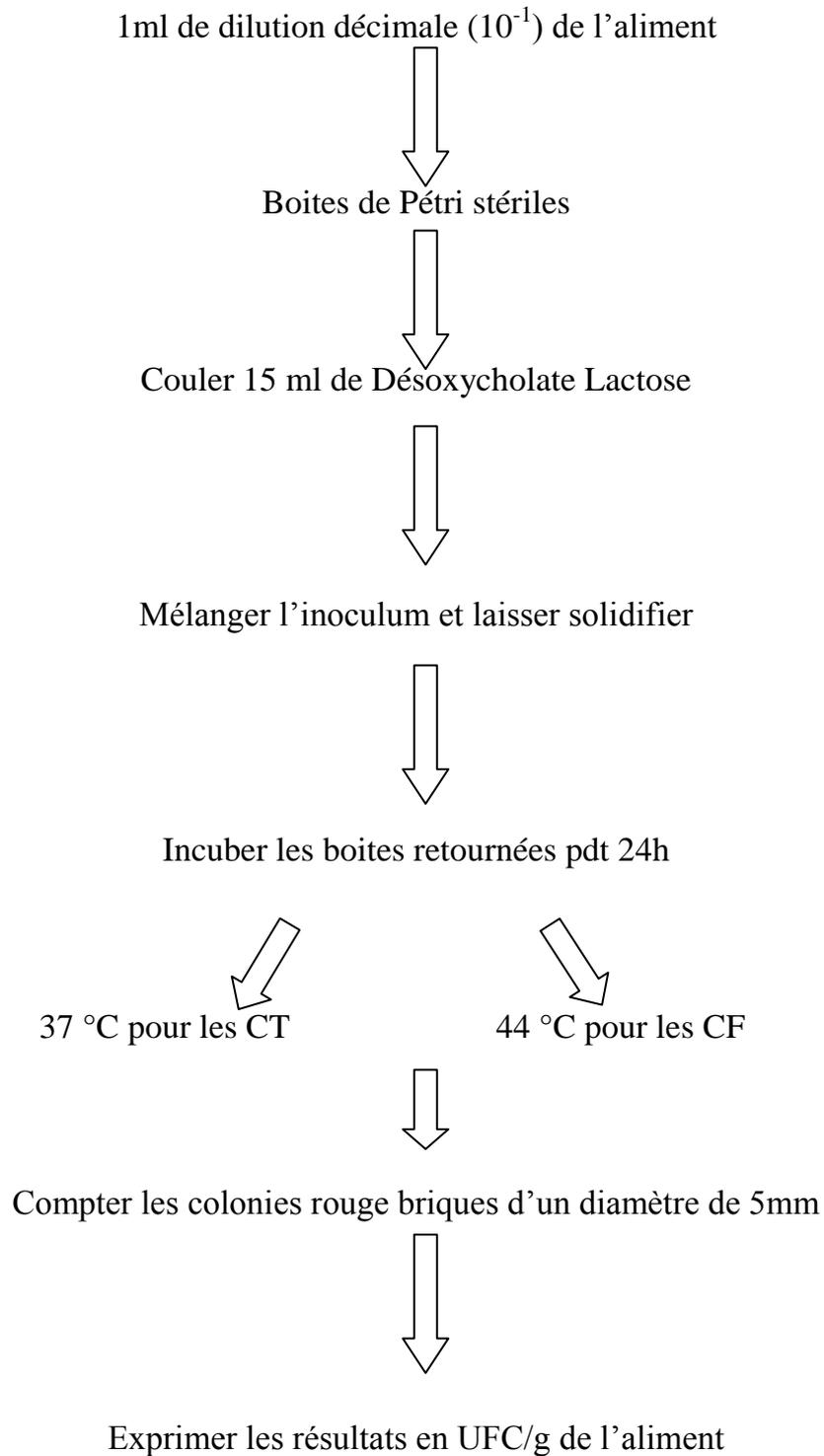
Mélanger l'inoculum et laisser solidifier

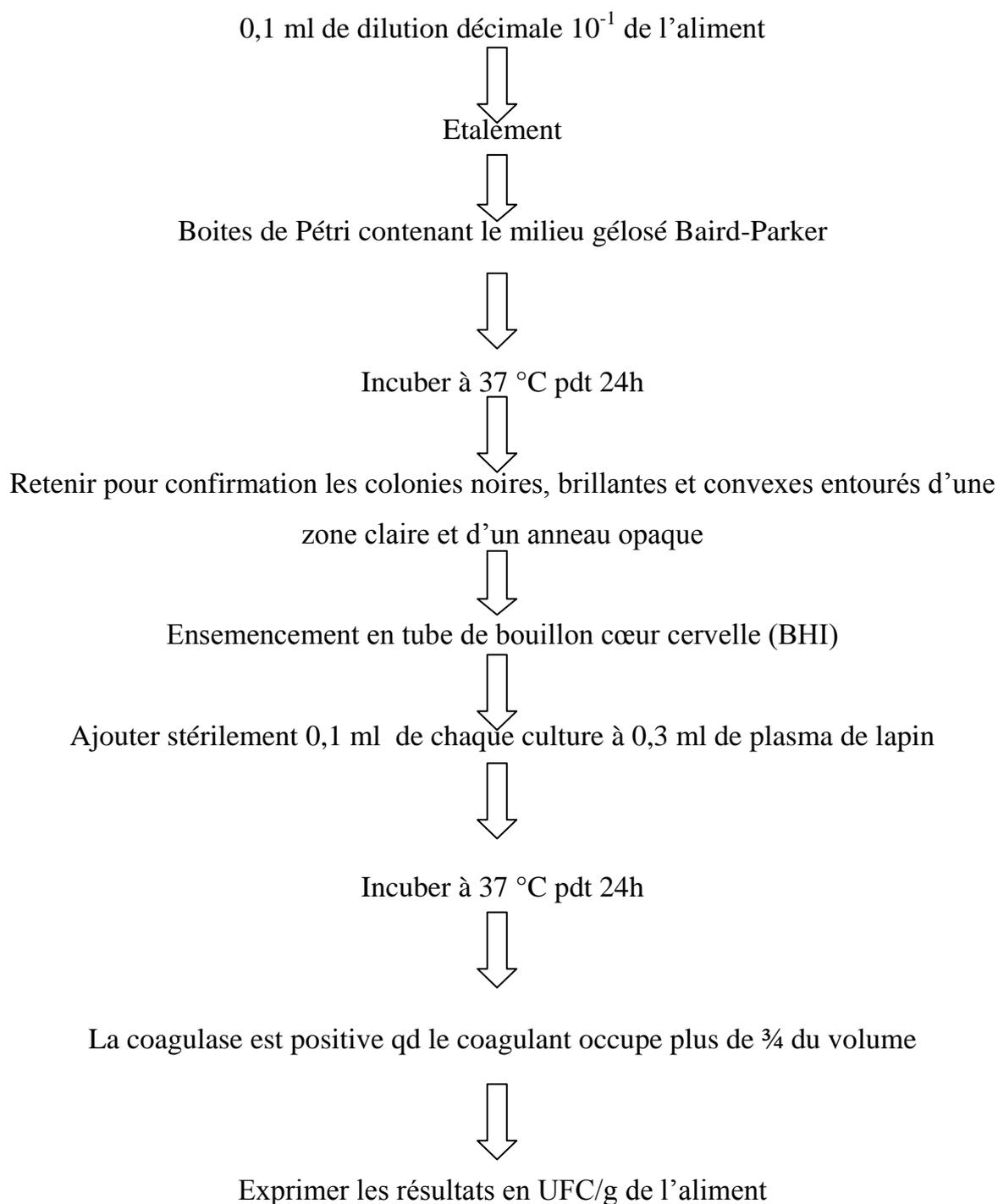


Incuber les boites retournées à 37 °C pdt 24h

Annexe B6 : Fiches techniques

Dénombrement des coliformes totaux et fécaux dans l'aliment (NM.08.01.124)

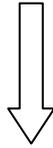


Annexe B7 : Fiches techniques**Dénombrement des staphylocoques pathogènes dans l'aliment (NM.08.01.104)**

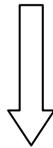
Annexe B8 : Fiches techniques

Dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs dans l'aliment (NM.08.0.125)

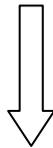
Méthodes en tubes



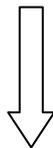
Ensemencer 1ml de la solution mère



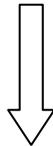
Tubes contenant 20ml du milieu SPS



Homogénéiser par rotation sans faire de bulles



Incuber après solidification à 46°C pdt 24h à 36h



Dénombrement des colonies noires apparentes

Annexe B9 : Fiches techniques**Recherche des salmonelles : (NM 08.01.16)****Etape 1 : Pré enrichissement**

25g d'aliment + 225 ml d'eau peptonée tamponnée

Incubation à 37 °C pdt 24h

Etape 2 : Enrichissement

Enrichissement sélectif

0,1 ml de culture + 10 ml de bouillon Rappaport vassiliadis

Incubation à 44°C pdt 24h

Etape 3 : Isolement

Isolement sur milieu Hektoen

Incubation à 37°C pdt 24h

Colonies à centre noir

Etape 3 : Identification

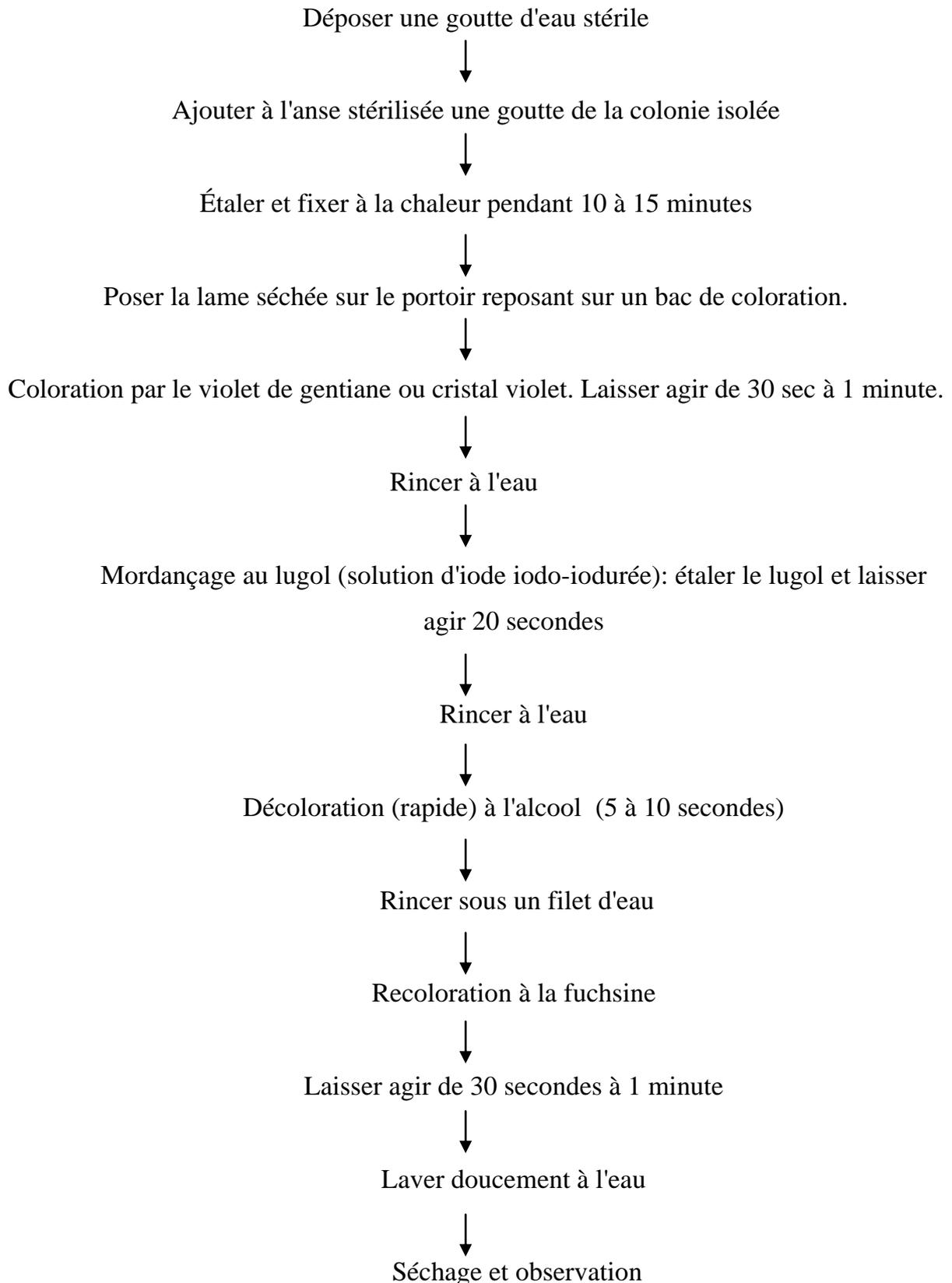
Galerie biochimique

Confirmation sérologique

Présence ou absence de salmonella dans 25g d'aliment

Annexe B10 : Fiches techniques

Coloration de Gram



Annexe C : Composition des milieux de culture**Gélose lactose au désoxycholate 0,1 %**

Composition	g/l
Peptone	10
Lactose	10
Citrate de sodium	1
Rouge neutre	0,03
Désoxycholate de sodium	1
Chlorure de sodium	5
Hydrogénophosphate de potassium	2
Agar	13

Milieu PCA

Composition	g/l
Pastone	5,00
Extrait de levure	2,50
Glucose	1,00
agar	15,00

Bouillon Rappaport Vassiliadis

Composition	g/l
Peptone de soja	4,5
Vert de malachite	0,04
Chlorure de sodium	7,2
Dihydrogénophosphate	1,5
Chlorure de magnésium hexahydraté	37,3

Annexe C : Composition des milieux de culture**Milieu Baird-Parker**

Composition	g/l
Bio-trypcase	10
Extrait de viande de bœuf	5
Extrait de levure	2
Chlorure de lithium	5
Pyruvate de sodium	10
Glycocolle	5
Tellurite de potassium	1 ml
Emulsion de jaune d'œuf à 10%	1 ml
Agar	15

Gélose Hektoen

Composition	g/l
Protéose peptone	12
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Thiosulfate de sodium	5
Sels biliaires	9
Citrate de fer III et d'ammonium	1,5
salicine	2
Lactose	12
Saccharose	12
Fushine acide	0,1
Bleu de bromothymol	0,065
Agar	14
Eau distillée	1000ml

Annexe C : Composition des milieux de culture**Eau peptonée tamponné**

Composition	g/l
Peptone	10
Chlorure de sodium	5

Gélose à l'ADN

Composition	g/l
ADN	0,3
Solution de bleu de toluidine (0,1 mol/μl)	3 ml
Tampon TRIS pH 9 (50 mmol/μl)	1 μl
Chlorure de sodium	10
Agar-agar	10

Gélose à l'extrait de levure

Composition	g/l
Tryptone	6
Extrait de levure	3
Agar	10l

Milieu SPS (Sulfadiazine-polymyxine- sulfite)

Composition	g/l
Caséine	15
Extrait de levure	10
Sulphite de sodium	0,5
Sulphadiazine	0,12
Sulphate	0,01
Citrate ferrique	0,50
Agar	13,90

Annexe C : Composition des milieux de culture**Gélose de Slanetz**

Composition	g/l
Tryptose	20
Extrait de levure	5
Glucose	2
Dipotassium phosphate	4
Sodium azide	0,4
2, 3,5, triphényltétrazolium chloride	0,1
Agar	10

Gélose de Kligler

Composition	g/l
Tryptone	20
Extrait de levure	3
Extrait de viande	3
Glucose	1
Lactose	10
Thiosulphate de sodium	0,5
Citrate ferrique ammoniacal	0,5
Rouge de phénol	0,025
Agar-agar	15

Annexe C : Composition des milieux de culture**Milieu lactosée au Tergitol 7 et au TTC (Gélose)**

Composition	g/l
Peptone	10
Extrait de levure	6,0
Extrait de viande	5,0
Lactose	20
Tergitol 7	0,01
TCC	0,025
Bleu de bromothymol	0,05
Agar	13,0

Milieu de Mueller Hinten

Composition	g/l
infusion de viande de bœuf	300,0 ml
peptone de caséine	17,5
amidon de maïs	1,5
agar	17,0

Annexe D : Antibiogramme

Préparation de l'inoculum



Ensemencement par inondation sur milieu M.H



Laisser sécher à température ambiante



Déposer les disques d'ATB



Incubation à 37°C pdt 18h à 24h



Mesurer les diamètres des zones d'inhibition



Interprétation

Annexe E : Concentrations et diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations Critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
PENICILLINES					
Pénicilline G	6 µg (10 UT)	≤ 0,25	> 16	≥ 29	< 8
Oxacilline (staphylocoques)	5 µg	≤ 2	> 2	≥ 20	< 20
Ampicilline	10 µg	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14
Ampicilline/sulbactam	10/10 µg	≤ 4/8	> 16/8	≥ 19	< 14
Amoxicilline	25 µg	≤ 4	> 16	≥ 21	< 14
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 4/2	> 16/2	≥ 21	< 14
Mécillinam	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 18
Ticarcilline	75 µg	≤ 16	> 64	≥ 22	< 18
Ticarcilline/ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 16/2	> 64/2	≥ 22	< 18
Mezlocilline	75 µg	≤ 8	> 32	≥ 21	< 16
Azlocilline	75 µg	≤ 16	> 64	≥ 19	< 13
Pipéracilline entérobactéries	75 µg	≤ 8	> 64	≥ 20	< 12
autres bacilles à Gram négatif	75 µg	≤ 16	> 64	≥ 18	< 12
Pipéracilline/tazobactam entérobactéries	75/10 µg	≤ 8/4	> 64/4	≥ 21	< 14
autres bacilles à Gram négatif	75/10 µg	≤ 16/4	> 64/4	≥ 19	< 14
Sulbactam		≤ 8	-		
CARBAPENEMES					
Imipénème	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 22	< 17
Méropénème	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 20	< 15
MONOBACTAME					
Aztréonam	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 23	< 17

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations Critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
CEPHALOSPORINES (Voie parentérale)					
Céfalotine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Céfamandole	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15
Céfuroxime	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15
Céfoxitine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15
Céfotétan	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 23	< 17
Céfotiam	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 22	< 15
Céfopérazone	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 21	< 14
Céfotaxime	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 21	< 15
Ceftizoxime	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 21	< 15
Ceftriaxone	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 21	< 15
Ceftazidime	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 21	< 15
Céfépime	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 21	< 15
Cefpirome	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 21	< 15
Latamoxef	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 23	< 17
Cefsulodine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 14
CEPHALOSPORINES (Voie orale)					
Céfadroxil	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Céfalexine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Céfradine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Céfaclor	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 16
Céfatrizine	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15
Loracarbef	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 23	< 15
Céfuroxime-axétil	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 26	< 20
Céfotiam-héxétil	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Céfixime	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 25	< 22
Cefpodoxime-proxétil	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 24	< 21

Annexe E : Concentrations et diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques (suite)

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations Critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
AMINOGLYCOSIDES					
Streptomycine	500 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 12
streptocoques, entérocoques	10 UI	≤ 8	> 16	≥ 15	< 13
autres bactéries					
Gentamicine	500 µg	≤ 250	> 500	≥ 17	< 11
streptocoques, entérocoques	15 µg (10 UI)	≤ 4	> 8	≥ 16	< 14
autres bactéries					
Sisomicine	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 16	< 14
Nétilmicine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Kanamycine	1000 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 10
streptocoques, entérocoques	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
autres bactéries					
Tobramycine	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 16	< 14
Dibékacine	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 16	< 14
Amikacine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
Isépamicine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
Spectinomycine (<i>Neisseria gonorrhoeae</i>)	100 µg	8	> 64	≥ 17	< 15
		≤ 64		≥ 20	< 20
PHENICOLES					
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 23	< 19
TETRACYCLINES					
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Oxytétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Doxycycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Minocycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Antibiotique	Charge du disque	Concentrations Critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
MACROLIDES					
Erythromycine	15 UI	≤ 1	> 4	≥ 22	< 17
Dirithromycine	15 µg	≤ 0,12	> 4	≥ 28	< 16
Azithromycine	15 µg	≤ 0,5	> 4	≥ 22	< 17
Spiramycine	100 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19
LINCOSAMIDES					
Lincomycine	15 µg	≤ 2	> 8	≥ 21	< 17
Clindamycine	2 UI	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
KETOLIDES					
Télithromycine	15 µg	≤ 0,5	> 2	≥ 21	< 17
OXAZOLIDINONES					
<i>Linézolide</i>	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 28	< 24
STREPTOGRAMINES					
Pristinamycine	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Virginiamycine	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Quinupristine-dalfopristine	15 µg	≤ 0,5	> 2	≥ 25	< 19
GLYCOPEPTIDES					
Teicoplanine	30 µg	≤ 4	> 16	≥ 17	-
Vancomycine	30 µg	≤ 4	> 16	≥ 17	-
POLYPEPTIDES					
Bacitracine	130 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
Colistine	50 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
SULFAMIDES-TRIMETHOPRIME					
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12
Triméthoprime	5 µg	≤ 4	> 8	≥ 16	< 12
Triméthoprime/sulfaméthoxazole (cotrimoxazole)	1,25/23,75 µg	≤ 2/38	> 8/152	≥ 16	< 10

Annexe E : Concentrations et diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques (suite)

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations Critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
NITROFURANES	300 µg	≤ 32	> 128	≥ 17	< 14
QUINOLONES					
Acide oxolinique	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 17
Fluméquine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 25	< 21
Acide nalidixique	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15
Acide pipémidique	20 µg	≤ 8	> 16	≥ 19	< 14
Acide piromidique	25 µg	≤ 16	> 32	≥ 20	< 16
FLUROQUINOLONES					
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Enoxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Gatifloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 21	< 18
Lévofloxacine	5 µg	≤ 2	> 4	≥ 17	< 15
Loméfloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Moxifloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 21	< 18
Norfloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Ofloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16
Péfloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16
Sparfloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 16
Trovafloxacine	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 17

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations Critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
DIVERS					
Acide fusidique	10 µg	≤ 2	> 16	≥ 22	< 15
Fosfomycine	50 µg	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14
Métronidazole	Comprimé 16 µg	≤ 4	> 16	-	< 21
Nitroxoline	20 µg	≤ 1	> 32	≥ 30	< 12
Rifampicine					
- staphylocoques	30 µg	≤ 0,5	> 16	≥ 29	< 14
- autres bactéries	30 µg	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14
Mupirocine	5 µg	≤ 2	-	≥ 19	-

Résumé

Dans le but de surveiller la qualité bactériologique des denrées alimentaires en milieu hospitalier, nous avons étudié entre le mois de février et le mois de mai 77 échantillons qui ont été prélevés de la cuisine des hôpitaux Ibn Al Khatib et Al Ghassani de Fès (52 prélèvements de denrées alimentaires et 25 échantillons d'eau du réseau traitée).

Nos objectifs ont consisté à déterminer la qualité bactériologique des denrées alimentaires servis aux patients et aux corps soignants. Ainsi, nous avons cherché à identifier les différents germes en cause (flore aérobie mésophile, coliformes totaux et fécaux, anaérobies sulfite-réducteurs, *staphylocoques aureus* et *Salmonella*). Les résultats ont été interprétés suivant les normes et les critères microbiologiques en vigueur.

D'après l'étude rétrospective, les principaux résultats enregistrés montrent que les contaminations les plus fortes sont observées, d'une part au niveau des produits carnés (viande hachée) et d'autre part, dans les végétaux et crudités (salades).

Dans la présente étude, les résultats des analyses bactériologiques effectués ont aboutis à un pourcentage de non-conformité nul pour l'eau du réseau et 12% pour les denrées alimentaires. Les germes qui ont été isolé sont *E. coli* (12%) et *Staph. aureus* (6%).

Une étude complémentaire par l'antibiogramme a été réalisée afin de tester la sensibilité des souches isolées. Les antibiotiques, ciprofloxacine, gentamycine et la colistine étaient les antibiotiques les plus actifs sur *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Staph. aureus*, *salmonella spp.*

Par conséquent, les résultats ont prouvé l'impact positif d'une intervention sérieuse pour l'amélioration de la qualité bactériologique des repas servis en milieu hospitalier.

Il nous semble que la surveillance bactérienne de l'alimentation présente un triple intérêt : s'assurer de l'absence de contamination bactérienne des mets dispensés aux hospitalisés, avoir une valeur éducative pour le personnel des cuisines ; enfin contrôler de façon globale, la qualité du travail tout au long de la chaîne de préparation des aliments.

Mots-clés : Aliment - Eau du réseau - Qualité hygiénique – Milieu hospitalier – Risque sanitaire - Antibiogramme - Fès - Maroc.