



Master : Biotechnologie Microbienne

PROJET DE FIN D'ETUDES

Identification des germes pathogènes (*Salmonella* et *Listeria*) dans les aliments, sérotypage des *Salmonella* isolés et leur sensibilité aux antibiotiques

Stage effectué au : Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu (LRDEHM), Direction Régional de la Santé Fès-Boulemane.

Présenté par : KARIM safae

Encadré par :

- **Etablissement d'accueil :** Dr BENNANI L.
Dr EL OUALI LALAMI A.
- **FST- Fès :** Pr FIKRI BENBRAHIM K.

Soutenu le : 25/06/2012

Jury :

- Dr BENNANI L.
- Dr EL OUALI LALAMI A.
- Pr FIKRI BENBRAHIM K.
- Pr BEKHTI K.
- Pr RACHIQ S.
- Mme ZBADI L.

Année universitaire : 2011-2012



Résumé

Les intoxications alimentaires causent toujours un problème de santé surtout lorsqu'elles sont dues à la consommation des denrées alimentaires contaminées par des germes pathogènes tels que *Salmonella spp* et *Listeria monocytogenes*.

Le but de ce travail est le sérotypage des germes pathogènes isolés des denrées alimentaires et leur sensibilité aux antibiotiques. Nous avons réalisé en un premier lieu des analyses microbiologiques pour 233 échantillons d'aliments prélevés au niveau de la ville de Fès, ainsi que l'identification sérologique des salmonelles et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de ces souches et celles de *Listeria monocytogenes* isolées.

Les résultats obtenus indiquent que le pourcentage de la non-conformité est de 46% pour la classe des laits et dérivés, 21% pour les viandes et les produits carnés, 11% pour les plats cuisinés, 9% pour les pâtisseries et crèmes pâtisseries, 8% pour la classe des boissons et limonades et 5% pour la classe des végétaux et crudités. Cette non-conformité est dû aux germes de contamination fécale, au *Staphylococcus aureus*, au Levures et moisissures et principalement aux Salmonelles et *Listeria monocytogenes*.

16 souches de *Salmonella spp* et 12 souches de *Listeria monocytogenes* ont été isolées à partir des produits laitiers et produits carnés ce qui témoignent de la qualité hygiénique non satisfaisante de ces aliments et du risque sanitaire qui peuvent engendrés.

Le sérotypage des salmonelles a permis d'identifier 6 sérotypes différents : *S. menston*, *S. westhampton*, *S. enteritidis*, *S. altona*, *S. rissen* et *S. kentucky*, ces derniers ont été isolés à partir des produits carnés et des produits laitiers.

L'étude de la sensibilité de *salmonella* aux antibiotiques a montré que les souches de *Salmonella spp* sont sensibles à l'Imipenème, au Chloramphénicol, à la Céfotaxime, et au Trimethoprime+Sulfamethoxazole et sont résistantes au Gentamycine.

Les résultats de l'étude de la sensibilité de *Listeria monocytogenes* aux antibiotiques, a permis de déduire que certaines souches sont sensibles et d'autres sont résistantes à l'Amoxicilline mais sont sensibles à la Rifampicine.

Mots clés : *Salmonella spp*; *Listeria monocytogenes*; Sérotypage ; Sensibilité; Antibiotiques, Fès, Maroc.



Sommaire

Introduction générale	1
Partie I : Revue Bibliographique	3
I- Les denrées alimentaires.....	4
II- La microbiologie des aliments	6
1- Les microorganismes utiles.....	6
2- Les microorganismes d'altération.....	6
2-1 Les levures et les moisissures	6
3- Les microorganismes témoins de contamination fécale	6
3-1 les coliformes totaux	6
3-2 les coliformes fécaux	7
4- Les microorganismes pathogènes et toxigènes	7
4-1 <i>Staphylococcus aureus</i>	7
4-2 Anaérobies sulfito-réducteurs	7
4-2-1 <i>Clostridium perfringens</i>	8
4-2-2 <i>Clostridium botulinum</i>	8
5- <i>Salmonella spp</i>	8
6- <i>Listeria monocytogenes</i>	14
III- Les toxi-infections alimentaires	19
1-	Situatio
n épidémiologique dans le monde.....	19
2-	S
ituation épidémiologique au Maroc	20
IV- Les antibiotiques	20
1-	D
éfnition	20
2-	M
ode d'action des antibiotiques	20
3-	L
es classes des antibiotiques	21
3-1 les β lactamines	21
3-2 les aminosides ou aminoglycosides	21
3-3 les phenicoles.....	21
3-4 les tétracyclines	21
.....	3-5 les polymyxines
.....	3-6 les macrolides



.....	3-7 les lincosanides	
3-8 les synergistines.....		21
.....	3-9 les quinolones	
.....	3-10 les nitrofuranes	
.....	3-11 les cinq nitroimidazoles	
.....	3-12 les acides sulfuriques	
.....	3-13 les novobiocines	
3-14 les rifamycines		22
4-La résistance bactérienne aux antibiotiques.....		22
4-1 la résistance naturelle		22
4-2 la résistance acquise		22
4-2-1 La Résistance par mutation chromosomique.....		22
4-2-2 Les résistances extra-chromosomiques.....		22
Partie II : matériel et méthodes		23
I- Analyse microbiologique des denrées alimentaires		24
1-		L
lieu et période d'étude		24
2-		E
chantillonnage		24
3- Préparation de l'échantillon à analyser et des dilutions.....		24
4- Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale		24
5- Dénombrement des <i>coliformes totaux</i> et des <i>coliformes fécaux</i>		24
6 -Dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>		25
7 Dénombrement des anaérobies sulfuro reducteurs.....		25
8 Dénombrement des levures et moisissures		25
9 Recherche de Salmonelle		25
9-1 Pré-enrichissement		25
9-2 Enrichissement		25
9-3 Isolement		26
9-4 Identification biochimique		26
a-Galerie classique		26
b- Galerie api		27
9-5 Identifications sérologiques : sérotypage des Salmonelles.....		27
10- Recherche de <i>Listeria monocytogenes</i>		30
II- Etude de la sensibilité de Salmonella spp et de Listeria monocytogenes aux antibiotiques		33



Partie III: Résultats et discussions	34
I- Analyse microbiologique des denrées alimentaires	35
1- L	
es classes d'aliments analysées au LRDEHM.....	35
1-1 A	
nalyse microbiologique des plats cuisinés	38
1-2 A	
nalyse microbiologique des laits et dérivés	42
1-3 A	
nalyse microbiologique des pâtisseries et crèmes pâtissières	46
1-4 A	
nalyse microbiologique des Viandes et produits carnés	48
1-5 A	
nalyse microbiologique des végétaux et crudités	49
1-6 A	
nalyse microbiologique des boissons et limonades	51
II- Sérotypage des Salmonelles	52
III- Etude de la sensibilité des germes pathogènes aux antibiotiques	54
1-Etude de la sensibilité des souches <i>de Salmonella spp</i> aux antibiotiques	54
2-Etude de la sensibilité des souches <i>de Listeria monocytogenes</i> aux antibiotiques	55
Conclusion	58
Recommandations et perspectives	59
Références bibliographiques	60
Annexes	

Liste des figures

Figure 1: Aspect de <i>Listeria monocytogenes</i> sous microscope optique après coloration de gram.....	16
Figure 2 : Voie de contamination par <i>L.monocytogenes</i>	18
Figure 3 : Mode d'action des antibiotiques	21
Figure 4 : La galerie apie 20 E.....	27
Figure 5 : Schéma illustrant l'interaction antigène-anticorps.....	28
Figure 6 : Test agglutination sur lame	28
Figure 7 : Conduite du sérotypage des <i>Salmonella</i>	29
Figure 8 : Galerie api <i>Listeria</i>	31
Figure 9 : Aspect de <i>Listeria monocytogenes</i> sur api <i>Listeria</i>	32
Figure 10 : pourcentage des classes d'aliments analysées au LRDEHM durant la période d'étude....	35
Figure 11 : Pourcentage de la non-conformité par classe d'aliments analysés au LRDEHM.....	35
Figure 12: Répartition des analyses et de la non-conformité en fonction des secteurs.....	36
Figure 13 : Pourcentage de la non-conformité des aliments enregistrés au LRDEHM en fonction des secteurs	37
Figure 14 : Nombre de cas positifs de <i>Salmonella</i> pour chaque secteur.....	37
Figure 15 : Pourcentage de la non-conformité pour la catégorie des plats cuisinés	41
Figure 16 : Germes responsables de la non-conformité pour la catégorie des plats cuisinés à base de volailles	41
Figure 17 : Germes responsables de la non-conformité pour la catégorie des plats cuisinés à base de viandes.....	42
Figure 18 : Pourcentage de la non-conformité pour la catégorie des laits et dérivés.....	44
Figure 19 : Germes responsables de la non-conformité pour la catégorie des laits et dérivés (Raib,Lben)	45
Figure 20 : Germes responsables de la non-conformité pour la catégorie des laits et dérivés (Jben) ...	45
Figure 21 : Germes responsables de la non-conformité pour la catégorie des laits et dérivés (Lait cru)	46
Figure 22 : Pourcentage de la non-conformité pour la catégorie des pâtisseries et crèmes pâtisseries...32	
Figure 23 : Germes responsables de la nonconformité pour la catégorie des pâtisseries et crèmes pâtisseries	47
Figure 24 : pourcentage de la non-conformité des viandes et produits carnés.....	49
Figure 25 : Bactéries responsables de la non-conformité pour la catégorie des viandes et produits carnés.....	49
Figure 26 : Pourcentage de la non-conformité pour la catégorie des végétaux et crudités.....	50
Figure 27 : Microorganismes responsables de la nonconformité pour la catégorie des végétaux et crudités	51
Figure 28 : Pourcentage de la non-conformité pour la catégorie des boissons et limonades.....	51



Figure 29:Bactéries responsables de la non-conformité pour la catégorie des boissons et limonades 52
Figure 30:Pourcentage de résistance de salmonella spp vis-à-vis des antibiotiques utilisées.....55
Figure 31:Pourcentage de résistance de Listeria monocytogenes vis-à-vis des antibiotiques57



Liste des tableaux

Tableau 1 : Extrait de la classification de Kauffman-White indiquant les formules antigéniques de quelques sérotypes	10
Tableau 2 : formules antigéniques des sérovars de <i>salmonella enterica</i> les plus fréquemment rencontrés en France (extrait du tableau de kauffmann-white	12
Tableau 3 : Les caractéristiques biochimiques et culturelles du genre <i>Listeria</i>	16
Tableau 4 : Caractères biochimiques différentiels des espèces de <i>Listeria</i> (Lebres., 2006).....	31
Tableau 5 : Lecture et Interprétation des caractères portés sur la galerie api <i>Listeria</i>	32
Tableau 6 : Résultats des analyses microbiologiques des plats cuisinés à base de viandes	38
Tableau 7 : Résultats des analyses microbiologiques des plats cuisinés à base de volaille.....	40
Tableau 8 : Analyses microbiologiques des laits et dérivés(Raib et Lben)	42
Tableau 9 : Analyses microbiologiques des laits et dérivés (Jben).....	43
Tableau 10 : Analyses microbiologiques des laits et dérivés (lait cru).....	43
Tableau 11 : Analyses microbiologiques des pâtisseries et crèmes pâtisseries	46
Tableau 12 : Analyses microbiologiques des viandes et produits carnés	48
Tableau 13 : Analyses microbiologiques des végétaux et crudités.....	49
Tableau 14 : Analyses microbiologiques des boissons et limonades.....	51
Tableau 15 : Résultats de sérotypage des souches de <i>Salmonella spp</i>	52
Tableau 16 : Sensibilité de <i>Salmonella spp</i> aux antibiotiques	54
Tableau 17 : Sensibilité de <i>Listeria monocytogenes</i> aux antibiotiques.....	56



Liste des abréviations

TIAC	: Toxi-infection alimentaire collective
TIA	: Toxi-infection alimentaire
EFSA	: European Food Safety Authority
LRDEHM	: laboratoire régional de Diagnostic Epidémiologique et d'hygiène de Milieu
CA-SFM	: Comité d'antibiogramme de la Société française de microbiologie
OMS	: Organisation mondiale de la santé
AW	: Activité de l'eau
FMAT	: Flore Mésophile Aérobie totale.
CT	: Coliformes Totaux.
CF	: Coliformes Fécaux
UFC	: Unité Formant Colonie.
RM	: rouge de méthyle
ASR	: Anaérobie Sulfite Réducteur.
C	: Conforme
NC	: Non conforme
S.a	: <i>Staphylococcus aureus</i>
DL	: Désoxycholate lactose
GT	: Germes totaux
P	: Pâtisseries
VH	: Viandes hachée
V	: Végétaux



Introduction

La nourriture ou l'aliment est un élément d'origine animale ou végétale (parfois minérale) consommé par des êtres vivants à des fins énergétiques et nutritionnelles. La consommation de ces aliments doit être bien entretenue, définie et rationnée. Pour cela une alimentation saine, équilibrée est considérée comme un facteur vital pour l'humanité. Mais les constituants de ces aliments peuvent être contaminés par les microorganismes dont l'origine dépend d'une part de l'environnement de la production de la matière première (sol, air, eau) et d'autre part, des conditions de sa manipulation (récolte ou capture, transport, etc.) et sa transformation (machines, personnel, traitements de stabilisation, etc.) en produit fini.

La contamination des denrées alimentaires peut avoir un effet plus ou moins graves sur la qualité du produit et sur la santé du consommateur. Elle peut être à l'origine d'une altération du produit, lui faisant perdre ses caractéristiques organoleptiques et/ou commerciales ; et parfois la cause d'intoxications ou toxi-infections graves.

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), sont considérées parmi les problèmes sanitaires d'actualité dans le monde entier. Elles nécessitent la mise en place d'un système de surveillance basé sur le contrôle des denrées alimentaires, l'information et l'intervention rapide afin d'arrêter l'extension de l'épidémie et d'assurer au consommateur des produits alimentaires de meilleure qualité hygiénique.

Ces toxi-infections résultent généralement de deux mécanismes consécutifs: la contamination par des bactéries d'un produit destiné à la consommation, et la multiplication de ces bactéries aboutissant à l'élaboration d'une toxine ou à la constitution d'un inoculum infectieux.

Elles sont dues essentiellement aux, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella*.

En Mars 2011, l'EFSA (European Food Safety Authority) a publié les statistiques 2009 relatives aux zoonoses (infections naturellement transmissibles de l'animal à l'homme) qui incluent les toxi-infections alimentaires. Il a rapporté qu'en 2009, l'Europe a connu 5 550 cas de TIAC, qui ont affecté 48 964 personnes, dont 4 356 ont dû être hospitalisées et 46 sont décédées. Les deux principales bactéries qui sont à l'origine de TIAC sont *Salmonella* et *Campylobacter*.

Concernant les bactéries *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli*, les tendances étaient à la hausse entre 2008 et 2009 : respectivement +19,1% et +13,1%. Alors que le nombre de cas de listériose reste faible : 1645 cas confirmés en 2009, comparés aux 108 614 cas de salmonellose, du fait de la faible déclaration de la listériose.

La salmonellose est une infection bactérienne due à *Salmonella*. La plupart des personnes infectées par ce germe développent de la diarrhée, de la fièvre et des crampes abdominales dans un délai de 12 à 72 heures après l'infection. La contamination s'effectue par voie digestive, en consommant des aliments contaminés crus ou peu cuits : lait, viande notamment viande hachée et volaille, œuf ou préparation à base d'œufs crus (mayonnaise, crème, pâtisserie...).

La listériose est due à *Listeria monocytogenes*, seule espèce pathogène pour l'homme dont l'agent mis en évidence au début du siècle (1926) a pris peu à peu une importance considérable en hygiène alimentaire en raison essentiellement du changement du mode de vie et d'alimentation (réfrigération) qui favorise la survie et la multiplication de cette bactérie. Il s'agit d'une zoonose



majeure, pouvant être mortelle, à l'origine de troubles cliniques graves (méningites, avortements, septicémie) dont le nombre de cas semble en augmentation.

Dans le cadre du contrôle de la qualité hygiénique des aliments pour un but de prévention des maladies à transports alimentaires (TIA, TIAC, Gastroentérites...), une étude prospective a été menée au Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu (LRDEHM) pendant une durée de cinq mois.

L'objectif de cette étude est de faire :

- Analyse microbiologique des denrées alimentaires.
- Identification biochimique des souches de *Salmonella spp* et de *Listeria monocytogenes*
- Identification sérologique des souches de *Salmonella*.
- Etude de la sensibilité aux antibiotiques de *Listeria monocytogenes* et de *Salmonella spp*.



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES
Département de Biologie



REVUE BIBLIOGRAPHIQUE



I- Les denrées alimentaires

On entend par denrée alimentaire toute substance ou produit, transformé, partiellement transformé ou non transformé, destiné à être ingéré ou raisonnablement susceptible d'être ingéré par l'être humain (CE) N°178/2002.

Le rôle essentiel de l'alimentation et des aliments est de fournir les éléments essentiels à la croissance, la restauration et à la subvention aux besoins énergétiques et physiologiques de l'organisme. En effet, les aliments sont constitués d'un nombre d'éléments nutritifs qui sont :

- Les protéines.
- Les lipides.
- Les glucides.
- L'eau.
- Les sels minéraux et les oligo-éléments.
- Les fibres.

On distingue sept grands groupes d'aliments :

1- Groupe des viandes, poissons et œufs

Ce groupe comporte toutes les viandes, les abats, les volailles, les poissons, les coquillages, les crustacés et les œufs.

Ces aliments sont riches en protéines animales (éléments constitutifs de notre corps), contiennent du fer et des vitamines du groupe B.

2- Groupe du lait et des produits laitiers

Ce groupe est constitué du lait, des fromages et des yaourts. Ces aliments sont riches en protéines animales et en calcium pour assurer la solidité des os.

3- Groupe des fruits et légumes

Dans ce groupe on classe les légumes en général et tous les fruits crus ou cuits, à l'exception des pommes de terre, des légumes secs, des petits pois et du maïs (féculents), de l'avocat, de la noix de coco et des oléagineux (matières grasses).

Les légumes et les fruits sont riches en eau (80 à 95%), en fibres, en vitamine C et en sels minéraux. Les fruits sont également riches en sucres.

4- Groupe des féculents

Ce groupe est représenté par le pain, les céréales (riz, pâtes, blé, avoine..., les pommes de terre et les légumes secs.

Ils sont essentiellement composés de glucides complexes (amidon) et de protéines végétales, apportent aussi des sels minéraux et des vitamines du groupe B (B1). Les céréales complètes sont riches en fibres.

Les glucides fournissent de l'énergie nécessaire au travail musculaire et de toutes les cellules de l'organisme.

5- Groupe des matières grasses

Ce groupe est constitué de tous les aliments riches en lipides. On y retrouve :

- les corps gras d'origine animale : beurre, crème, saindoux, riches en acides gras saturés. Ne pas en abuser. 10 g de beurre suffisent.



- les corps gras d'origine végétale : toutes les huiles, les margarines, riches en acides gras insaturés, parmi ces acides gras, certains sont appelés essentiels (indispensable à la vie, on ne les trouve pas ailleurs).

Les matières grasses sont également riches en vitamine A (beurre) et E (huiles).

6 -Groupe des boissons

Leur rôle essentiel est de nous apporter la quantité d'eau dont notre corps a besoin. Ce besoin est de 2 à 3 l par jour, la moitié est fournie par les aliments et donc 1,5 l par l'eau de boisson.

On retrouve : l'eau, le thé, les tisanes, les jus de fruits et le lait.

7- Groupe des produits sucrés

Ce sont des aliments à base de saccharose, riches en glucides simples.

Leur consommation n'est pas indispensable à l'organisme, si par ailleurs suffisante en farineux, fruit et produits laitiers frais.

Par contre, le sucre est très apprécié et entre dans la composition de nombreux produits :

- pâtisserie, biscuiterie
- confiture, compote, salade de fruits, miel
- entremet, yaourt, glace
- chocolat
- boissons sucrées...

II- La microbiologie des aliments

1- Les microorganismes utiles

Les microorganismes utiles sont des bactéries d'intérêt technologique tel que :

✓ bactéries

Les bactéries lactiques (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, ...) interviennent dans l'affinage des fromages, dans l'élaboration des produits de charcuterie et de la choucroute notamment.

Les *Brevibacterium* sont responsables principalement de l'aromatisation et de la coloration de certains fromages lors de l'affinage.

Les bactéries acétiques (*Acetobacter*, *Gluconobacter*,...) interviennent dans la fabrication du vinaigre par exemple.

Les bactéries propioniques (*Propionibacterium*) interviennent dans l'affinage des fromages à pâte pressée cuite de type emmental.

✓ levures et moisissures

Les levures (*Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*,...) sont utilisées pour lever la pâte à pain et préparer des boissons alcoolisées comme le vin, le cidre et la bière.

Les moisissures (*Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*,...) participent à l'affinage des fromages et



plus particulièrement à la formation des croûtes dîtes fleurées et des pâtes persillées. Dans les produits fermentés, les moisissures jouent essentiellement un rôle d'aromatisation.

2- Les microorganismes d'altération

2-1 les levures et les moisissures

Les levures et moisissures sont cependant souvent cause d'altérations de produits, notamment ceux à pH bas. Certaines moisissures peuvent former, si elles se développent sur certains aliments des toxines.

-Les levures

Les levures sont des champignons microscopiques se présentant sous forme unicellulaire au moins à un stade de leur cycle biologique (Bouix et Leveau, 1980).

Les levures sont une cause fréquente d'altération des aliments, et plus particulièrement des aliments acides tels que les fruits et les jus de fruits, et des aliments à faible activité de l'eau (aw) comme les pâtisseries. S'altèrent le goût, l'odeur, l'aspect du produit alimentaire.

Conditions de développement: Présence d'éléments nutritifs, un pH optimal de 4-5, des températures optimales : 25 –35° C, une aw faible.

NB : Des températures fortement négatives inhibent le développement des levures < - 18° C (par rapport aux bactéries < - 12° C).

-Les moisissures

Les moisissures sont des champignons microscopiques se développant sur des substrats morts (ce sont des saprophytes) et se caractérisent par un thalle filamenteux : le mycélium. Ce dernier se bouture aisément par fragmentation, mais différencie aussi des organes variés de multiplication : les spores (Moreau, 1980). Selon les espèces, les spores sont aisément dispersées par l'air (xérospores) ou par l'eau (myxospores).

Les moisissures ont un fort pouvoir de dégradation des aliments. En effet, leur développement à la surface et dans les produits destinés à l'alimentation est fréquemment constaté, surtout dans les denrées stockées et leur présence est généralement corrélée avec un défaut d'hygiène.

Les conditions de récolte des produits agricoles et surtout celles de stockage de ces produits ou de leurs dérivés ont une grande influence sur le développement des moisissures. Les facteurs les plus importants à ce point de vue sont: la température, l'humidité et les divers facteurs nutritionnels.

Il existe des moisissures qui produisent des mycotoxines qui sont à l'origine des maladies graves, cancers, insuffisance rénale, etc.

a. Les facteurs de développement

Les moisissures sont aérobies strictes (elles se développent uniquement à la surface des aliments). Elles ont besoin de substances nutritives, une aw < à celles des bactéries, des milieux légèrement acides, et une température minimale < 5° C.

3- Les microorganismes témoins de contamination fécale

3-1 Les Coliformes Totaux



Ce groupe contient toutes les bactéries aérobies ou anaérobies facultatifs, Gram négatif, non sporulés, en forme de bâtonnets, mobiles ou non (Cardinal et al, 2003).

Ces germes possèdent l'enzyme β -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 37°C afin de produire des colonies rouges sur un milieu bien approprié.

3-2 Les Coliformes Fécaux

Le groupe des coliformes fécaux est utilisé depuis la fin du 19^{ème} siècle comme indicateur de pollution fécale (Archibald, 2000). La plupart des espèces de ce groupe se retrouvent naturellement dans le sol ou la végétation (Edberg et al, 2000).

Ces coliformes fécaux ou coliformes thermo tolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44 °C (Edberg et al, 2000).

E. coli fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae* et est utilisé à titre indicateur de la contamination fécale dans la plupart des aliments.

La plupart des souches d'*Escherichia coli* sont des bactéries de la microflore commensale du tube digestif de l'homme et de nombreux mammifères. Cependant, certaines d'entre elles, comme le stéréotype O 157 : H, peuvent être à l'origine d'accidents alimentaires sévères : ce sont les *Escherichia coli* entérohémorragiques. Ces souches produisent des toxines appelées toxines « Shiga-like » (SLT ou STX) du fait de leur similarité avec les toxines produites par *Shigella dysenteriae* type 1. En effet, ces bactéries sont responsables des diarrhées hémorragiques pouvant se compliquer en syndrome hémolytique et urémique graves, parfois mortels chez les jeunes enfants (Tarr, 1995).

Bien que plus de 50 sérotypes différents étaient associés à de tels troubles, le sérotype O157 :H7 est le plus souvent incriminé à travers le monde.

4- Les microorganismes pathogènes et toxinogènes

4-1 Staphylococcus aureus

b. *Staphylococcus aureus* est une cocci Gram positive, appartenant à la famille des Micrococcaceae, non sporulés, parfois capsulés, aérobies facultatifs, oxydases positifs. Ils sont immobiles et forment des amas irréguliers. Leur diamètre varie entre 0,5 à 1,5 μ m (Monica, 2000).

c. *Staphylococcus* est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. C'est un germe ubiquiste que l'on retrouve dans l'oropharynx, en plus, un tiers des individus est porteur de ces germes au niveau de leurs fosses nasales.

d. Dans la population générale, la prévalence du portage nasal permanent est comprise entre 20 et 25 % tandis que la colonisation transitoire par cette bactérie affecte au moins 60 % de la population restante.

Les staphylocoques dorés sont responsables de 1/3 des TIAC appelées également les « Maladies du Banquet ». Bactéries aérobies anaérobies qui aiment les milieux salés. Lorsque la teneur en staphylocoques devient $> 50000/g$, les bactéries sécrètent une entéro-toxine (toxinogénèse inhibée à $pH < 4.5$ et $T < 10^\circ C$) (Peacock et al, 2001).

4-2 Les Anaérobies Sulfite Réducteurs



Le nom de ces bactéries est lié à la méthode de leur détection. En effet, elles transforment les sulfites en sulfures noirs. Elles se développent à 46°C, et regroupent certaines espèces (dont le *Clostridium perfringens*).

4-2-1 Clostridium botulinum

Cette bactérie nécessite un milieu strictement anaérobie, un pH > 4,5 ; et des températures de 46°C. Le développement des *Clostridium botulinum* s'accompagne de fermentations diverses avec des odeurs nauséabondes qui peuvent alerter le consommateur.

Les conditions non propices au développement des bactéries botuliques sont : une forte teneur en sel (>10 %), l'addition suffisante de nitrates, un pH < 4,5 ; aliments secs.

4-2-2 Clostridium perfringens

Bacille Gram positif, immobile, sporulé, anaérobie stricte mais aérotoleérant. *C. perfringens* sécrète de nombreuses toxines et enzymes hydrolytiques dont l'enterotoxine, synthétisée au cours de la sporulation, responsable de d'intoxication alimentaire. Selon les principales toxines produites, les souches de *C. perfringens* sont classiquement classées en cinq toxinotypes (Type A à E). L'entérotoxine peut être produite par des souches de type A, mais aussi pas des souches d'autre type. Contrairement aux spores, l'enterotoxine est thermolabile ; elle est détruite en solution saline par un chauffage de 5 minutes à 60°C (Poumeyrol et Popoff, 2006).

C. perfringens est une bactérie très ubiquitaire largement répandue dans tout l'environnement. Par ailleurs, l'Homme et les animaux sains peuvent être porteurs de *C. perfringens* dans le tube digestif.

5- Salmonella spp

Historique

En 1880, Eberth a découvert l'agent responsable de la fièvre typhoïde et la culture de la bactérie a été possible en 1884 par Gaffky. Le genre *Salmonella* a été utilisé après que le bactériologiste américain Daniel Salmon eut isolé en 1886 (Encyclopédie ENCARTA 2004), avec quelques collègues, une bactérie provenant du porc (maintenant connu comme *Salmonella Choleraesuis*) qui était considérée comme étant la cause de la fièvre porcine (choléra du porc). En 1896 Widal a mis en évidence la diversité antigénique des souches de salmonelles. A ce jour on a isolé plus de 2500 sérotypes de salmonelles.

Depuis les premières observations rapportées par Eberth jusqu'à nos jours, le genre *Salmonella* n'a pas cessé de présenter une importance considérable dans les domaines vétérinaires et sur le plan médical, tant par les pertes économiques dues à la maladie animale, que par la forte incidence chez l'homme ; des fièvres typhoïdes et des toxi-infections alimentaires à salmonelles (Bornert, 2000).

Taxonomie

- Domaine : Bacteria
- Phylum : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Enterobacteriales



- Famille : *Enterobacteriaceae*
- Genre : *Salmonella*

Huit principaux caractères déterminent la famille des Enterobacteriaceae, ce sont :

1. Bacilles Gram négatif,
2. Souvent mobiles grâce à leur ciliature péritriche (rarement immobiles), non sporulés
3. Bacilles qui cultivent sur les milieux ordinaires
4. Bacilles aéro-anaérobies facultatifs
5. Bacilles qui fermentent le glucose avec ou sans production de gaz
6. Bacilles qui réduisent les nitrates en nitrites
7. Bacilles qui ne possèdent pas de cytochrome oxydase (Hanes, 2003; ICMSF., 1996).
8. Bacilles qui possèdent une catalase.

Certaines souches n'obéissent pas à tous ces caractères, c'est le cas de :

Erwinia qui ne réduit pas les nitrates, de *Shigella dysenteriae* sérotype 1 (SD1) qui ne possède pas de catalase, de *Salmonella galinarum-pullorum* qui est immobile.

Les caractères différentiels du genre Salmonella

Les différents biotypes ont par le passé été classés en espèce, en sous genre (kauffman) et enfin en sous espèces sur la base des critères biochimiques et surtout sérologique.

Les caractères biochimiques

Les principaux caractères biochimiques permettant l'identification du genre *Salmonella* (Humbert *et al*, 1998) sont :

- L'absence d'une uréase active, de tryptophane ou de phénylalanine désaminase,
- L'absence de production d'indole et d'acétoïne (test de Voges-Proskauer négatif),
- La production d'hydrogène sulfureux à partir du thiosulfate (présence d'un thiosulfate réductase).
- La décarboxylation fréquente de la lysine et de l'ornithine,
- La pousse fréquente sur le milieu au citrate de Simmons

Les antigènes des Salmonella

Les *Salmonella* peuvent posséder trois types d'antigènes présentant un intérêt diagnostique (Dumas, 1958).

✓ **Antigène somatique O (Ag O)**

L'antigène O est un antigène de la paroi porté par les chaînes spécifiques du lipopolysaccharide (LPS) qui possède des propriétés immunisantes. C'est un complexe contenant une protéine, un polysaccharide et un composé phospholipidique. On distingue 67 facteurs O selon la nature des sucres entrant dans la constitution des unités oligosaccharidiques du polysaccharide (Humbert *et al*, 1998).

Les antigènes O sont formés d'une fraction lipidique appelée lipide A qui est responsable des effets toxiques, du core ou partie basale et du polysaccharide support de la spécificité (Gledel and Corbion, 1991).



Les antigènes sont classés en facteurs O majeurs et en facteurs O accessoires. Les facteurs majeurs sont liés à la présence de certains sucres (abéquose pour O : 4, tyvélose pour O : 9) (Humbert *et al*, 1998).

L'antigène somatique est stable ; il résiste à l'alcool et au phénol pendant deux heures et demi à la température de 100°C (Dumas, 1958).

✓ Antigène flagellaire (Ag H)

C'est un polymère de flagelline (protéine de structure des flagelles). Cet antigène est thermolabile, détruit par la chaleur à 100° C, par l'action de l'alcool et par les ferments protéolytiques. Il résiste au formol et perd son agglutinabilité par les anticorps en présence d'alcool et d'acide phénique. Son développement optimum s'obtient sur les milieux liquides mous après un séjour de 8 heures à 37 °C (Dumas, 1958). La grande majorité des sérovars possèdent deux systèmes génétiques et peuvent exprimer alternativement deux spécificités différentes pour leur antigène flagellaire. On dit que les antigènes flagellaires de *Salmonella* sont diphasiques (Humbert *et al*, 1998)

✓ L'antigène de virulence (Ag Vi)

C'est un antigène de l'enveloppe, qui a été identifié chez trois types de sérovars : Typhi, Paratyphi C et Dublin mais toutes les souches de ces sérovars ne possèdent pas forcément cet antigène (Tableau 1) (Humbert *et al*, 1998).

Cet antigène est considéré comme un antigène de surface (Dumas, 1958), distinct de l'antigène somatique et de l'antigène flagellaire. Il rend les germes inagglutinables par les anticorps O quand il est abondant. Il ne se développe pas si les cultures sont effectuées au dessous de 25°C et au dessus de 40°C. Un chauffage à 100°C le détruit et les germes deviennent agglutinables par les anticorps O. Il est de nature glucidolipidopolypeptidique.

A côté de ces antigènes il existe dans le genre *Salmonella*, des structures protéiques de surface : les pili qui se différencient en pili communs (intervenant dans l'hémagglutination mannose dépendante) et en pili sexuels (intervenant dans la conjugaison bactérienne) et dont la présence est codée par des plasmides (Gledel and Corbion, 1991).

Tableau 1 : Extrait de la classification de Kauffman-White indiquant les formules antigéniques de quelques sérotypes

Sérotype	Antigène O	Antigène H	
		Phase I	Phase II
<i>S. paratyphi A</i>	Groupe A 1, 2, 12	a	
<i>S. paratyphi B</i> <i>S. typhimurium</i>	Groupe B 1, 4, [5], 12 1, 4, [5], 12	b i	1, 2 1, 2
<i>S. infantis</i> <i>S. virchow</i>	Groupe C1 6, 7 6, 7	r r	1, 5 e, n, x
<i>S. typhi</i> <i>S. enteritidis</i> <i>S. dublin</i>	Groupe D 9, 12, [Vi] 1, 9, 12 1, 9, 12, [Vi]	d g, m g, p	- - -

La classification actuelle des Salmonelles

La nomenclature des salmonelles est particulièrement complexe car elle a fait l'objet de controverses et de confusions liées, principalement, à un avis de la "Commission Judiciaire". Le nouveau système (utilisation des nomenclatures validement publiées par l'opinion 80, couplée à l'interprétation taxonomique de (Le Minor and Popoff, 1987) et à l'interprétation taxonomique de (Reeves *et al.* 1989) est employée par un nombre **toujours croissant** de bactériologistes. Il apparaît clairement que la "Commission Judiciaire" recommande l'utilisation du nouveau système. Ce nouveau système reconnaît que le genre *Salmonella* possède trois espèces :

- *Salmonella bongori*
- *Salmonella enterica* ou *Salmonella choleraesuis*. (Tableau 2)
- *Salmonella subterranea* (Shelobolina *et al.*, Nov 2004), qui est une souche bactérienne isolée d'un sédiment acide et contaminé par des nitrates et de l'uranium.

La seconde espèce la plus importante comprend six sous-espèces selon Grimont *et al.* (2000) qui sont :

- *Salmonella enterica* subsp. *arizonae*.
- *Salmonella enterica* subsp. *enterica*.
- *Salmonella enterica* subsp. *houtenae*.
- *Salmonella enterica* subsp. *indica*.
- *Salmonella enterica* subsp. *salamae*.
- *Salmonella enterica* subsp. *Diarizonae*



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES
Département de Biologie



Il existe environ 2000 sérovars de Salmonella, classés en groupes et en sous groupes d'après leur antigène O communs et constants. L'antigène Vi sert à différencier des sérotypes dans les groupes C et D : il rend O inagglutinable chez les sérovars *S. typhi* et *S. paratyphi*.

Les antigènes H complètent les sérotypes des différents groupes.

Tableau 2 : formules antigéniques des sérovars de salmonella enterica les plus fréquemment rencontrés en France (extrait du tableau de kauffmann-white)

N	Sérovar	Antigène O	Antigène H	
			Phase I	Phase II
	<i>S. Paratyphi A</i>	Groupe A 1, 2, 12 Groupe B	a	
8	<i>S. Paratyphi B</i> <i>S. Wien</i> <i>S. Schwarzengrund</i> <i>S. Dutsburg</i>	1, 4, (5), 12 1, 4, 12, 27 1, 4, 12, 27 1, 4, 12, 27	b b d d	1, 2 1, w 1, 7 e, n, z15
10	<i>S. Saint-paul</i>	1, 4, 12	e, h	1, 2
13	<i>S. Derby</i> <i>S. Agona</i>	1, 4, (5), 12 1, 4, 12	f, g f, g, s	- -
1	<i>S. Typhimurium</i>	1, 4, (5), 12	i	1, 2
15	<i>S. Bredeney</i>	1, 4, 12, 22	l, v	1, 7
12	<i>S. Brandenburg</i>	1, 4, 12	l, v	e, n, z15
11	<i>S. Heidelberg</i> <i>S. Coeln</i>	1, 4, (5), 12 4, 5, 12	r y	1, 2 1, 2
		Groupe C1		
14	<i>S. Ohio</i> <i>S. Isangi</i> <i>S. Ltvingsstone</i> <i>S. Braenderup</i> <i>S. Montevideo</i> <i>S. Thompson</i>	6, 7 6, 7 6, 7 6, 7 6, 7 6, 7	b d d e, h g k	1, w 1, 5 1, w 1, 2 m, s 1, 5
5	<i>S. Infantis</i>	6, 7	r	1, 5
3	<i>S. Virchow</i>	6, 7	r	1, 2
		Groupe C2		
4	<i>S. Manhattan</i> <i>S. Newport</i> <i>S. Litchfield</i>	6, 8 6, 8 6, 8	d e, h l, v	1, 5 1, 2 1, 2
6	<i>S. Bovismorbificans</i>	6, 8	r	1, 5
16	<i>S. Hadar</i>	6, 8	z10	e, n, x
		Groupe D		
9	<i>S. Panama</i>	1, 9, 12	l, v	1, 5
7	<i>S. Typhi</i>	9, 12, (Vi)	d	-
2	<i>S. Enteritidis</i>	1, 9, 12	g, m	-
8	<i>S. Dublin</i> <i>S. Gallinarum</i>	1, 9, 12 (Vi) 1, 9, 12	g, P	- -
		Groupe E		
	<i>S. Anatum</i> <i>S. Meleagridis</i> <i>S. Senftenberg</i> <i>S. London</i> <i>S. GIVE</i>	3, 10 3, 10 1, 3, 19 3, 10 3, 10	e, h e, h g, s, t l, v l, v	1, 6 1, w - 1, 6 1, 7
		Groupe G2		
	<i>S. Tet-el-kebir</i> <i>S. Kedougou</i> <i>S. Worthington</i>	13, 23 1, 13, 23 1, 13, 23	d i z	e, n, z15 1, w l, w

Pouvoir pathogène des salmonelles

Le pouvoir pathogène est différent pour les salmonelles typhiques, paratyphiques et pour les salmonelles non typhiques.

➤ *Salmonella typhique et paratyphique*

Ces *Salmonella* sont responsables des fièvres typhoïdes ayant l'homme pour seul réservoir. Dans ce cas, la contamination se fait par ingestion d'eau ou d'aliments ayant subi une contamination fécale d'origine humaine. Comme toutes les maladies à transmission oro-fécale, ces fièvres surviennent le plus souvent dans des zones où l'hygiène est précaire, et frappent principalement les pays en développement en Asie, en Afrique ou en Amérique Latine.

Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes sont causées par des *Salmonella* strictement adaptées à l'homme, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A* et certaines souches de *Salmonella paratyphi B*. Après une période d'incubation d'une à deux semaines, survient une fièvre continue accompagnée de



maux de tête, d'anorexie, d'abattement ("tuphos" torpeur en grec), de douleurs abdominales avec diarrhée ou constipation. Dans les formes bénignes, l'état reste stationnaire pendant une quinzaine de jours puis la convalescence dure plusieurs semaines. Dans les formes plus graves où des complications peuvent survenir au niveau de l'intestin, du cœur ou de la vésicule, la fièvre typhoïde peut être fatale en l'absence de traitement. Le taux de mortalité est de 10% comparé à moins de 1% pour les autres formes de salmonellose. Une antibiothérapie appropriée abaisse le risque de mortalité à moins de 1%, mais on isole de plus en plus de souches résistantes aux antibiotiques : au Vietnam, 75% des souches isolées sont résistantes aux antibiotiques classiquement utilisés, contre moins de 1% en France. Il existe de plus un portage chronique de *Salmonella typhi* : après guérison d'une fièvre typhoïde, 2 à 5% des individus continuent à excréter ces bactéries. Les symptômes des fièvres paratyphoïdes sont similaires, mais le plus souvent moins sévères, le taux de mortalité de cette salmonellose étant par ailleurs bien plus bas que celui de la fièvre typhoïde.

➤ *Salmonella non typhique*

La salmonellose est une maladie grave qui peut même parfois être mortelle. La salmonellose est la zoonose la plus fréquente dans les pays européens. L'infection survient habituellement après l'ingestion de produits d'origine animale. Les salmonelles peuvent être présentes dans toute une série de denrées alimentaires telles que les oeufs crus, la volaille, le porc, le boeuf, d'autres produits à base de viande et les produits laitiers.

Les gastro-entérites sont provoquées par des *Salmonella* ubiquistes présentes chez l'homme et les animaux. La durée d'incubation est généralement de 1 à 2 jours et dépend de la dose ingérée, de la santé de l'hôte et des caractéristiques de la souche de *Salmonella*. Les salmonelloses provoquent une forte fièvre accompagnée de diarrhées, vomissements et douleurs abdominales. Chez des adultes de condition physique normale, une gastro-entérite disparaît sans traitement après 3 à 5 jours en moyenne. En revanche, une antibiothérapie doit être prescrite chez les personnes âgées, les nourrissons, ou les personnes immunodéprimées chez lesquelles l'infection peut être plus sévère, voire mortelle.

Les principaux symptômes de la salmonellose (infections non typhoïdiques) sont la diarrhée non sanglante, les douleurs abdominales, la fièvre, les nausées et des vomissements qui surviennent généralement 12-36 heures après l'ingestion. Toutefois, les symptômes peuvent varier considérablement depuis une maladie grave rappelant la typhoïde jusqu'à l'infection asymptomatique. La maladie peut également entraîner des complications plus sérieuses. Chez les sujets en bonne santé, la dose infective varie selon les sérovars, les aliments incriminés et la sensibilité des individus. Alors que certains (Varnam and Evans, 1991) ont pu montrer que 20 cellules pouvaient suffire à constituer une dose infective minimale, d'autres études ont régulièrement fait état d'un ordre de grandeur supérieur à 10^6 cellules (Korsak *et al*, 2004).

Epidémiologie

Vue le large spectre d'animaux pouvant être porteurs de salmonella, une grande variété de produits alimentaires peut être à l'origine d'une contamination humaine : viande et particulièrement volaille, produits carnés, œufs et produits laitiers.



Les salmonelloses peuvent donner lieu à des foyers très importants qui peuvent atteindre une échelle nationale si un aliment commercialisé à large diffusion se trouve contaminé.

En 1994 aux états unis par exemple une épidémie provoquée par une crème glacée a touché 224 000 personnes.

En France, une des plus importantes épidémies dont la source n'a pu être identifiée, est celle survenu en 1985 et qui aurait touché 25000 d'après l'estimation la plus faible.

En France toujours, en 2001, 64 % des toxi infections alimentaires déclarées avec agent pathogène identifié, ont été provoquées par des Salmonella et ont touchés plus de 1700 personnes (Haeghebaert et al, 2001). En 2005 ; 39,9% des 311 foyers français de cas groupés signalés au Centre National de Référence étaient causés par *salmonella* sérotype *Typhimurium* suivi par le sérotype *Enteritidis* (33% des foyers).

Toujours en 2005, 146 nourrissons ont été touchés et du lait infantile était à l'origine de l'épidémie (Brouard et al, 2006). Il est difficile d'avoir une idée du nombre réel de cas annuels de salmonelloses mais on estime que les cas déclarés peuvent être multipliés par 20 à 200. Les toxi infections alimentaires collectives doivent obligatoirement être déclarées DDASS (direction départementale des affaires sanitaires et sociales ou aux DSV (direction des services vétérinaires) par les médecins, les biologistes, les responsables d'établissements ou les particuliers.

Personnes à risque

Bien que les adultes et les enfants sains courent le risque de contracter la salmonellose, les personnes âgées et les nourrissons et les personnes dont l'immunité est réduite courent de plus grands risques de contracter des cas graves de la maladie. Chez ces sujets, un nombre relativement réduit de salmonella peut causer un cas grave. La majorité des décès résultant de *S.enteritidis* dans les maisons de repos pour les personnes âgées.

Prévention

La prévention commence par une hygiène sans faille : respect des règles de production, de transport, et de stockage des aliments.

- Bien cuire les aliments d'origine animale surtout la volaille à une température supérieure à 65°C
- Respecter les dates limites de consommation (DLC) et les températures de conservation
- Conserver les œufs ainsi que les préparations à base d'œuf au réfrigérateur
- Respecter la chaîne du froid durant et après les achats, ne jamais recongeler un produit décongelé
- Se laver les mains avant et après la manipulation des aliments et nettoyer le matériel de cuisine en contact des aliments.

6-Listeria monocytogenes

Historique

Cette bactérie a été nommée ainsi par PIRIE en 1940 en l'honneur du chirurgien LISTER. En plus, elle est caractérisée par une élévation anormale du taux de monocytes d'où son nom de monocytogenes.



Hulphers, vétérinaire Suédois, fut le premier auteur à avoir décrit une infection par *Listeria* chez un lapin atteint de méningite en 1911.

Dumon et Cotoni, isolèrent la même souche à partir d'un liquide céphalorachidien (LCR) chez l'homme et cette souche demeure toujours conservée au niveau de l'Institut Pasteur de Paris depuis 1921.

En 1926 par Murray -Webb et Swann, lors d'une épizootie chez des lapins et des cobayes qui présentaient une mononucléose sanguine et des lésions de nécrose au niveau du foie, lui donnèrent alors le nom de *Bacterium monocytogenes*.

Taxonomie

Listeria a longtemps été considérée comme une bactérie corynéforme; il est actuellement admis que les bactéries de ce genre appartiennent à la branche phylogénétique des *Clostridium*, voisin des genres *Brochothrix*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Bacillus*.

Listeria monocytogenes, espèce type du genre *Listeria*, a été décrite en 1926 par Murray *et al.* sous le nom de "*Bacterium monocytogenes*" puis renommée "*Listerella hepatolytica*" (Pirie, 1927). En 1940, Pirie a proposé la nomenclature de *Listeria monocytogenes* qui sera retenue par les *Approved Lists of Bacterial Names*.

En 1961, Prévot propose l'appellation de *Listeria denitrificans* pour une unique souche bactérienne isolée en 1948 par Sohler, Benazet et Piéchaud à partir de sang de boeuf chauffé. Ultérieurement, ont été décrites les espèces *Listeria grayi* et *Listeria murrayi*. Ces quatre espèces ont été retenues dans les *Approved Lists of Bacterial Names* mais, depuis la parution de ces listes, la systématique du genre *Listeria* a été profondément modifiée.

Actuellement 6 espèces sont donc reconnues dans ce genre, en plus de *Listeria monocytogenes*, il s'agit de :

- *Listeria grayi* qui a été découverte en 1966 par Larsen et Seeliger
- *Listeria murrayi* qui a été découverte en 1971 par Welshimer et Meredith
- *Listeria ivanovii* qui a été découverte en 1984 par le microbiologiste bulgare Ivanov
- *Listeria innocua* qui a été découverte en 1981 par Seeliger
- *Listeria seeligeri* et *Listeria welshimeri* qui ont été mises en évidence en 1982.

En 1992, Rocourt *et al.* confirment l'existence de fortes similitudes génomiques entre *Listeria grayi* et *Listeria murrayi* et proposent de réunir ces deux taxons en une unique espèce qui, en raison des règles de priorité, doit être dénommée *Listeria grayi*.

Caractéristiques phénotypiques

Les *Listeria* sp. se présentent sous la forme de petits bacilles droits, de 0,4 à 0,5 μm de diamètre sur 0,5 à 2,5 μm de longueur, aux extrémités arrondies, se présentant de manière isolée ou groupés en V ou en L ou en palissades ou, parfois, en courtes chaînes ou petits amas. Ce sont des bactéries à Gram positif, non acido-résistantes, non capsulées, non sporulées, aéro-anaérobies facultatives mais cultivant mieux en aérobiose et mobiles lorsqu'elles sont cultivées à 20 °C (ciliature péritriche), immobile 37° C.

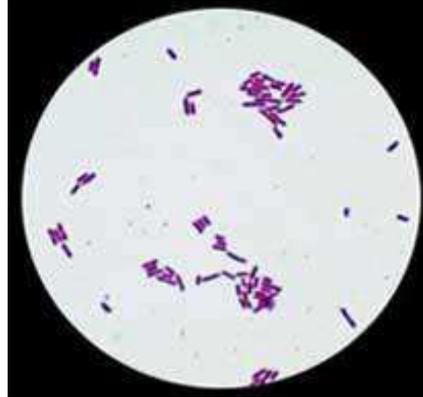


Figure 1 : Aspect de *Listeria monocytogenes* sous microscope optique après coloration de gram

Caractères biochimiques

Tableau 3 : Les caractéristiques biochimiques et culturelles du genre *Listeria*

Réactions positives	Réactions négatives
Catalase	Oxydase
Glucose	Gaz en glucose
VP, RM	Urease
Esculine	Indole
Aero-anaérobie facultatif	Gélatinase
Réduction du lait tournesolé	H ₂ S

Peu ou pas mobile à 37° C, *Listeria monocytogenes* est toujours mobile à 22-25° C.



Photo n° 1 : Aspect de *Listeria monocytogenes* sur gélose mobilité à 22 ° C.

Biotype de *L. monocytogenes*

Glucose + (gaz -), esculine + (gaz -), maltose + (gaz -), rhamnose + (gaz -), xylose fructose +, mannose +, cellobiose +, tréhalose +, gentobiose +, mannitol -, D arabitol +, esculine+, amygdaline +, salicine +, uréase -, indole -, H₂S -, RM +, VP



+, nitrate réductase -, hémolyse β +.

- Caractères culturels

Les *Listeria sp* ne sont pas des germes exigeants et la culture est obtenue sur les milieux classiques tels qu'une gélose nutritive ou une gélose au sang. La culture est stimulée par l'addition de glucose à la concentration de 0,2 à 1 % et, sur de tels milieux, les cultures dégagent une odeur de beurre rance.

Sur gélose nutritive, après 24 heures d'incubation en aérobiose à 30-37°C, les colonies sont lisses, légèrement convexes, à bords réguliers, translucides et leur diamètre varie de 0.5 à 1.5 mm. En transillumination oblique, les colonies présentent une coloration bleu-vert caractéristique. Si l'incubation est prolongée, les colonies grandissent, s'opacifient, elles peuvent prendre un aspect rugueux et celles de l'espèce *Listeria grayi* apparaissent orange rouge en transillumination oblique. Sur gélose nutritive contenant du glucose et incubée à 22-25°C, quelques souches de *Listeria grayi* produisent un pigment jaune.

Sur une gélose contenant 5% de sang de mouton ou de cheval ou de lapin ou d'homme, les colonies de *Listeria ivanovii*, de *Listeria monocytogenes* et de *Listeria seeligeri* sont bêtas hémolytiques. Le sang de certaines espèces, notamment celui des ovins, peut contenir des anticorps anti-*Listeria* et il est préférable de rechercher l'hémolyse en utilisant des globules rouges lavés. L'hémolyse est particulièrement importante avec *Listeria ivanovii* (le rayon de la zone d'hémolyse peut atteindre 1 cm après 3 jours d'incubation) et les souches de cette espèce peuvent s'entourer de plusieurs zones d'hémolyse. En revanche, l'hémolyse est moins importante pour *Listeria monocytogenes* ou *Listeria seeligeri* et elle n'est parfois visible que sous la colonie.

Pathogénicité

La listériose invasive : divisée en deux grands groupes d'infection, celles du nouveau-né et de la femme enceinte avec une incidence de 12/100.000 (Mylonakis et al, 2002) par opposition à celles de l'adulte et qui se manifeste par l'atteinte du système nerveux central allant jusqu'à la septicémie. Ces deux cas représentent les principales formes cliniques (Siegman et al, 2002).

La listériose non invasive: est essentiellement constituée par des cas de gastroentérite qui affiche des symptômes, tels que diarrhée, fièvre, céphalées et myalgie, après une brève période d'incubation. Ces poussées correspondent à l'ingestion de fortes doses ($>10^3$ UFC/g) de *Listeria monocytogenes* par des individus en bonne santé, pour lesquelles toutes les classes d'âges semblent pouvoir être atteintes (Aureli et al., 2000, Ooi et al., 2005).

Les formes les plus graves sont les formes invasives.

L'infection du système nerveux central: La listériose neuro-méningée est une méningo-encéphalite lympho-monocytaire ou purulente, avec fièvre, céphalées, raideur de la nuque, parfois des paralysies des nerfs crâniens (rhombocéphalites), on parle d'une neurolistériose (Ricard et al., 2008).

Physiopathologie de la listériose

L. monocytogenes est une bactérie intracellulaire facultative. La porte d'entrée est digestive (aliments contaminés). A partir de l'intestin, les bactéries gagnent les ganglions lymphatiques régionaux, puis la circulation sanguine. Les monocytes véhiculent et libèrent les bactéries dans la circulation. Les bactéries se multiplient dans le foie et la rate qui sont les organes-cibles. La plupart du temps, le système immunitaire contrôle l'infection chez les sujets immunocompétents qui font une infection inapparente.

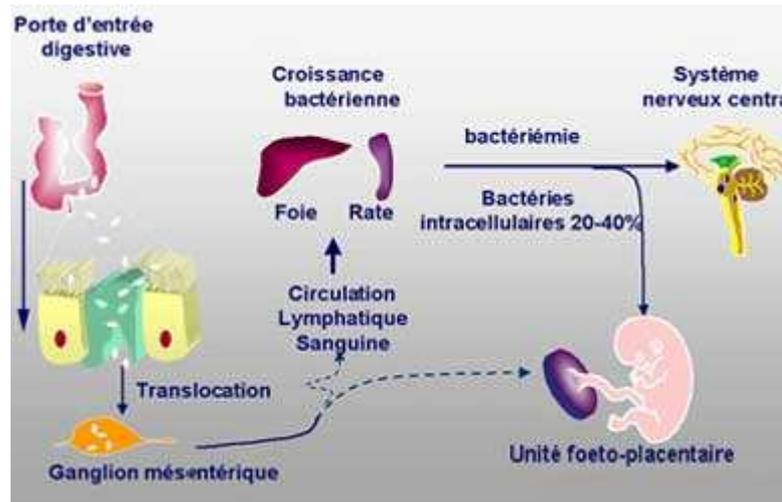


Figure 2 : Voie de contamination par *L.monocytogenes*(Berche ,1999)

Cependant, si l'inoculum a été massif ou chez certains sujets fragilisés, l'infection n'est pas contrôlée dans l'intestin, la rate et le foie et les bactéries sont libérées dans la circulation sanguine, exposant le placenta et le système nerveux central. Chez la femme enceinte, surtout après le 5ème mois, les bactéries colonisent le placenta avec formation de nombreux granulomes inflammatoires, puis induisent à une chorio-amnionite et l'infection de l'enfant in utero (90% des cas). Plus rarement, l'enfant peut être contaminé à la naissance (< 10% des cas).

Epidémiologie

La listériose humaine est essentiellement diagnostiquée dans les pays industrialisés. Il s'agit d'une maladie infectieuse d'origine alimentaire, *L. monocytogenes* s'implantant progressivement dans nos usines en raison de son aptitude à coloniser des zones humides (matériels, locaux, environnement) et surtout par sa capacité à se multiplier à basse température. Les aliments responsables sont soit contaminés à la production soit en cours de distribution (contaminations croisées). Depuis 1987, l'enquête réalisée par les Services Vétérinaires, la DDAS, l'Institut National de Veille Sanitaire etc. en cas d'épidémie permet en général l'identification relativement rapide de l'aliment responsable ; les mesures préventives sont prises en conséquence (divulgaration de marque, retrait, information, etc.). Le plus souvent il s'agit d'aliments fortement contaminés (plus de 100 bactéries / g) consommés en l'état et dont la composition permet la croissance de *Listeria* ; ces aliments sont généralement conservés au froid (réfrigération). La dose infectante est estimée à plus de 100 cellules viables et l'incubation varie entre 2 jours et plus de 6 semaines. Il existe de nombreux porteurs sains de *Listeria monocytogenes*. L'épidémiologie est mal connue ; les animaux sont des réservoirs naturels de la bactérie qui se propage soit par contamination directe, soit par contamination indirecte par l'intermédiaire du sol, des eaux usées ou des aliments souillés par les selles ou les urines d'animaux infectés ou d'arthropodes



vecteurs. Le contact avec des produits ou objets ou surface contaminés peut se traduire par une dissémination de la bactérie et une rémanence dans une usine ou un type donné de produit. Il existe chez les animaux beaucoup de porteurs sains. L'homme peut se contaminer au contact d'animaux malades.

Traitement

L. monocytogenes est une bactérie très sensible aux antibiotiques. À de rares exceptions près, la sensibilité est presque constante aux pénicillines (pénicilline G, ampicilline), aux aminosides (gentamicine), aux tétracyclines (sauf de rares souches résistantes) et au triméthoprime-sulfaméthoxazole. Le niveau de résistance *in vitro* est intermédiaire à celui des céphalosporines de troisième génération et de la fosfomycine, lesquelles sont contre-indiquées en cas de listériose. Toutes les souches sont résistantes à l'acide nalidixique et à la colistine, mais sensibles à la rifampicine et aux nouvelles quinolones (péfloxacine), dont les concentrations minimales inhibitrices restent médiocres (de 2 à 8 mg/l). Les souches sont sensibles à la vancomycine qui est peu ou non efficace sur les localisations neuro-méningée ; Le traitement de choix d'une listériose neuro-méningée est fondé sur l'association ampicilline aminoside. Chez l'adulte, l'ampicilline est administrée par voie veineuse à la dose de 200 mg/kg/j. Chez le nouveau-né et l'enfant, la dose est portée à 400 mg/kg/j pendant les premiers jours de l'infection La pénicilline G à la dose de 300 000 UI/kg/j peut remplacer l'ampicilline chez l'adulte. La gentamicine, associée à l'ampicilline, est administrée par voie musculaire ou veineuse à fortes doses (de 3 à 6 mg/kg/j). La durée du traitement est de 3 ou 4 semaines du fait de la possibilité de rechutes en cas de traitement trop court, surtout chez les sujets immunodéprimés.

En cas d'allergie aux pénicillines, le triméthoprime-sulfaméthoxazole, associé à la gentamicine, donne de bons résultats. D'autres antibiotiques (chloramphénicol, rifampicine ou tétracyclines), associés à un aminoside, ont aussi été utilisés avec succès. Si une listériose est suspectée et diagnostiquée par les hémocultures chez la femme enceinte, le traitement repose sur l'ampicilline (6 g/j) par voie veineuse pendant 3 semaines.

III- Les toxi infections alimentaires

Un foyer de toxi-infection alimentaire collective (TIAC) est définie par l'apparition d'au moins deux cas groupés, d'une symptomatologie similaire, en général digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire. La Salmonellose peut se transmettre d'une personne à une autre, ainsi que d'un animal, d'un oiseau ou d'un reptile à une personne. Elle peut également se transmettre par la consommation d'aliments contaminés par la *Salmonella* (Œufs et préparation à base d'œufs, volailles, charcuteries, fromages au lait cru,.....) consommés crus ou insuffisamment cuits.

1- Situation épidémiologique dans le monde :

Il est difficile d'estimer l'incidence mondiale des maladies d'origine alimentaire, mais il a été signalé que l'année 2000, environ 2,1 millions de personnes sont mortes de maladies diarrhéiques. Même dans les pays industrialisés, jusqu'à 30% de la souffre de maladies d'origine alimentaire chaque année. Aux États-Unis, environ 76 millions de cas de maladies d'origine alimentaire, qui a abouti à 325.000 hospitalisations et 5.000 décès, on estime à chaque année. Les pays en développement en particulier sont les plus touchés par les maladies d'origine alimentaire en raison de la présence d'un large éventail de maladies, y compris celles causées par des parasites.

Les maladies d'origine alimentaire peuvent causer un préjudice grave et vaste sur la société. En 1994, une épidémie de salmonellose provenant de crèmes glacées contaminées aux Etats-Unis,

affectant une 224.000 personne environ. En 1988, une épidémie d'hépatite A, résultant de la consommation de clams contaminés, touchée quelque 300.000 personnes en Chine.

La contamination des aliments crée une énorme pression sociale et économique sur les sociétés. Aux États-Unis, les maladies causées par les principaux agents pathogènes sont estimées à coûter jusqu'à 35 milliards \$ US par an (1997) en frais médicaux et la perte de productivité.

2- Situation épidémiologique au Maroc :

Une augmentation progressive au cours des dix dernières années a été constatée. En effet le nombre de cas et des épisodes de TIA et de TIAC de 1996 à 2001 a doublé. Les TIAC représentent, au Maroc, 11% des intoxications. Plus de 90% des TIAC sont d'origine bactérienne confirmée ou probable. Environ 7% des cas sont d'origine chimique: Contamination des aliments par des pesticides surtout. Prés de 1% des cas: TIAC d'origine végétale. Le reste étant d'origine indéterminée (1,5%) (Benkaddour, 2002)

La contamination des aliments peut provenir des matières premières ou des préparateurs. L'eau d'alimentation peut aussi être à l'origine des TIA et des TIAC. Les TIA et 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 TIA et des TIAC, celles-ci ne sont déclarées qu'en face d'aggravation. Ainsi on peut estimer 10 cas pour chaque déclaration.

En 2006 une chute remarquable est relevée. Ceci peut être lié à l'éducation sanitaire, l'information, la communication en matière d'hygiène alimentaire et la prise de conscience du citoyen. La restauration collective nécessiterait un suivi régulier et en particulier les foyers ayant présenté des TIAC antérieurement .

IV-Les antibiotiques

1-Définition

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est à dire produite par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable à une très faible concentration d'inhiber la multiplication ou détruire d'autres micro-organismes (Yala D., 2001).

2- Modes d'action des antibiotiques

La figure 3, montre les différents mécanismes d'action de différentes familles d'antibiotiques vis-à-vis de la cellule bactérienne :

- Action sur la membrane bactérienne
- Inhibition de la réplication de la molécule d'ADN
- Inhibition de la synthèse protéique

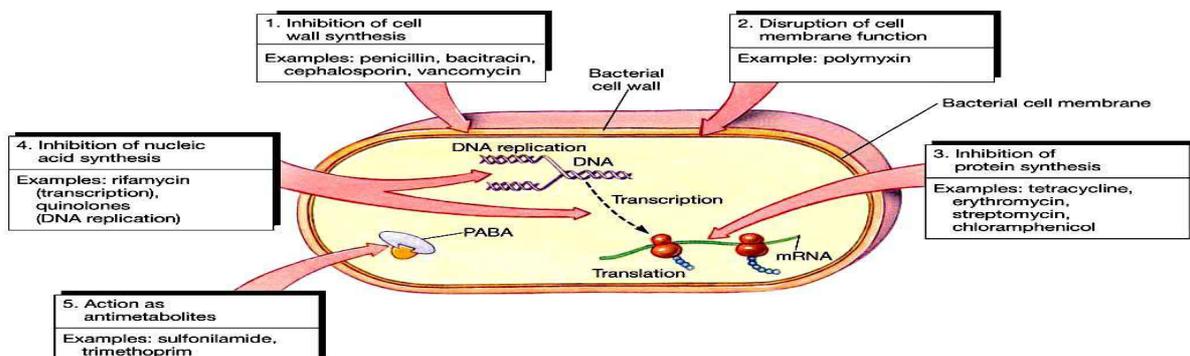


Figure 3 : Mode d'action des antibiotiques



3- Les classes des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères: l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action. Selon le mécanisme d'action on distingue :

3-1 LES BETA LACTAMINES : Les β lactamines agissent au niveau de la paroi bactérienne en inhibant la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane entraînant une lyse bactérienne.

3-2 LES AMINOSIDES OU AMINOGLYCOSIDES : Ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne.

3-3 LES PHENICOLES : Ils agissent au niveau de la sous unité 50 S du ribosome. Ceci a pour conséquence une inhibition de la synthèse des protéines

3-4 LES TETRACYCLINES : Les tétracyclines inhibent la synthèse des protéines au niveau de la sous unité 30 S du ribosome.

3-5 LES POLYMYXINES : Ils agissent au niveau de la membrane cytoplasmique bactérienne entraînant l'éclatement de la bactérie.

3-6 LES MACROLIDES : Les macrolides agissent en inhibant la synthèse protéique bactérienne. Ils se fixent sur l'unité 50 S du ribosome et bloquent ainsi la réunion du dernier stade de la synthèse.

3-7 LES LINCOSANIDES: Les lincosanides agissent sur la fraction 50 S du ribosome en inhibant la phase initiale de la synthèse protéique.

3-8 LES SYNERGISTINES: Agissent sur la sous unité 50 S du ribosome en bloquant en deux étapes différentes la synthèse de la chaîne peptidique.

3-9 LES QUINOLONES : Les quinolones inhibent la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe "ADN-ADN gyrase" en empêchant la réplication et transcription de l'ADN bactérien.

3-10 LES NITROFURANES : Les nitrofuranes agissent en perturbant la réplication de l'ADN.

3-11 LES CINQ NITROIMIDAZOLES : Ils agissent en inhibant la synthèse des acides nucléiques entraînant la mort rapide de la bactérie.

3-12 LES ACIDES SULFIRIQUES : agissent sur la synthèse des protéines.

3-13 LES NOVOBIOCINES : inhibent la réplication de l'ADN.

3-14 LES RIFAMYCINES : Les rifamycines agissent en bloquant la transcription par inhibition de l'ARN polymérase.

4- La résistance bactérienne aux antibiotiques

Les résistances bactériennes aux antibiotiques peuvent être naturelles ou acquises.

4-1 Résistance naturelle

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Elle est programmée sur le génome bactérien, donc fixe et constante à l'intérieur du taxon. A ce titre, elle constitue un critère d'identification. On peut citer, à titre d'exemple, les résistances naturelles des entérobactéries et de *Pseudomonas* aux macrolides.

4-2 Résistance acquise

Le terme de résistance acquise est utilisé pour désigner des processus permettant à des bactéries appartenant à une espèce originellement sensible de devenir résistantes à un ou plusieurs antibiotiques. Les résistances acquises résultent de l'emploi thérapeutique des antibiotiques et elles sont déterminées par des modifications génétiques, consistant en des mutations sur des gènes déjà



présents chez la bactérie (résistance par mutation chromosomique), ou en l'acquisition de nouveaux gènes de résistance par transfert horizontal (résistance extra-chromosomique).

4-2-1 Résistance par mutation chromosomique

Les résistances mutationnelles sont :

- Spontanées : elles préexistent à l'utilisation de l'antibiotique ;
- Stables : elles se transmettent verticalement dans le clone bactérien ;
- Spécifiques : elles n'intéressent qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques à la fois ;
- Rares : le taux de mutation se situe habituellement entre 10^{-7} et 10^{-8} .

La résistance par mutation est peu répandue en clinique (moins de 20% des résistances acquises). L'usage de l'antibiotique sélectionne les souches résistantes et la parade consiste donc à associer les antibiotiques. Ce type de résistance est observé, entre autres, chez les mycobactéries. Chez les salmonelles, les mutations sont favorisées par l'exposition d'inoculum importants à la pression antibiotique avec pour conséquence des résistances spécifiques à une famille d'antibiotiques (mutation avec altération de la cible) ou croises entre plusieurs familles d'antibiotiques (mutation avec altération des porines).

4-2-2 Les résistances extra-chromosomiques :

Ces résistances dont le support est un plasmide ou un transposon acquis par conjugaison ou plus rarement par transduction.

Les résistances extra-chromosomiques sont fréquentes (plus de 80% des résistances acquises), et contagieuses. Elles se transmettent horizontalement entre bactéries cohabitant, même d'espèces différentes. Ces résistances peuvent concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques, entraînant une polyrésistance.



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES
Département de Biologie



MATERIELS ET METHODES



I-Analyse microbiologique des denrées alimentaires

1- Lieu et période d'étude

Elle s'agit d'une étude prospective de la qualité hygiénique des aliments réalisée au niveau de l'unité d'hygiène alimentaire du Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu (LRDEHM) pendant une durée de cinq mois.

2- Echantillonnage

Les échantillons des denrées alimentaires (n=233) ont été prélevés au niveau du quartier de Fès, dans des conditions aseptiques par des Techniciens d'Hygiènes du Milieu (THM) et acheminés au laboratoire dans une glacière maintenue à 4°C.

Chaque échantillon a été muni d'une fiche dans laquelle tous les renseignements ont été enregistrés. A la réception, une fiche suiveuse a été réalisée (date, code du laboratoire, heure et température de réception, nature de l'aliment, etc.).

e. Les analyses microbiologiques des aliments ont été réalisées selon les normes marocaines en vigueur relatives à chaque microorganisme. L'interprétation des résultats a été faite selon l'arrêté conjoint n° 624-04 Safar 1425 (8 avril 2004) publié au bulletin officiel N : 5214-30 rabbi 1- 1425 (20-5-2004) relative aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments.

Le traitement statistique des données et la réalisation des graphiques ont été réalisés par le logiciel Excel.

N.B : La composition et les contrôles qualités des milieux de culture sont décrits en annexe (annexe 2).

3- Préparation de l'échantillon à analyser et des dilutions

25 g de l'échantillon a été diluée dans 225 ml de l'eau peptonée tamponnée préalablement stérilisée pour la préparation de la solution mère (dilution (10-1)), les sachets ont été soumis ensuite à une agitation dans un stomacher afin d'assurer la dispersion des germes.

A partir de cette solution mère, des dilutions décimales ont été réalisées, en transférant aseptiquement 1ml de la solution mère dans des tubes contenant 9ml d'eau physiologique stérile.

4- Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (NM 08.0.121)

Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale a été réalisé par la méthode d'ensemencement en profondeur sur le milieu PCA (Plate Count Agar) ; pour ce faire, 1ml de la solution mère et des dilutions décimales ont été déposés aseptiquement dans différentes boîtes de pétri stériles et 10 à 15 ml du milieu PCA maintenue à 45±1°C environ ont été ajoutés. L'inoculum et la gélose ont été mélangés en effectuant un mouvement circulaire.

L'incubation a été réalisée à 30°C pendant 24 h. Les colonies apparues sont comptées. Seules les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies sont considérées, et les résultats ont été exprimés en unité formant colonies (UFC) par gramme de l'échantillon.

5- Dénombrement des coliformes totaux (NM ISO 4832 2007 NM 08.0.115) et des coliformes fécaux (NM 08.0.124)

À partir de chaque dilution décimale et à l'aide d'une pipette stérile, 2 fois 1 ml ont été déposés dans deux boîtes de pétri vides préparées à cet usage et identifiées selon les échantillons.

- 10 à 15 ml de gélose au Désoxycholate Lactose (milieu différentiel pour la mise en évidence de l'utilisation du lactose) fondue puis refroidie à 45±1°C ont été ajoutés dans chaque boîte de pétri.

- Ces boîtes inoculées ont été soumises à une légère agitation pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée.



Une série de boîtes a été incubée à 30°C, pendant 24h et servira à la numération des coliformes totaux. L'autre série a été incubée à 44 °C pendant 24h et servira à la numération des coliformes fécaux.

6-Dénombrement des *Staphylococcus aureus* (NM ISO 6888 2002 NM 08.0.104)

f. Le dénombrement des *Staphylococcus aureus* s'effectue en 3 étapes :

✓ **Isolement :**

g. Etalement de 0.1ml de la solution mère à la surface du milieu Baird Parker d'une façon homogène, puis incubation à 37°C pendant 24h à 48heures.

✓ **Enrichissement :**

h. Les colonies noires, brillantes, convexes et entourées d'une zone d'éclaircissement (colonies suspects) ont été ensuite inoculées dans le bouillon BHI et incubées à 37°C pendant 24 heures.

✓ **Confirmation :**

Un volume de 0, 3 ml de la culture bouillon a été additionné à 0,3 ml du plasma de lapin, les tubes ont été ensuite incubés à 37°C pendant 24 heures.

Coagulation du plasma \Rightarrow Coagulase+ \Rightarrow *Staphylococcus aureus*

7- Dénombrement des anaérobies sulfite reducteurs (NM 08.0.125)

1 ml de la dilution mère a étéensemencé dans des tubes contenant 20 ml du milieu SPS, fondue puis refroidie à 45±1°C.

L'inoculum et le milieu de culture ont été mélangés doucement, sans faire de bulle pour ne pas provoquer une oxygénation du milieu, par un mouvement de rotation du poignet.

Les tubes ont été incubés à 44°C, pendant 24 h.

8- Dénombrement des levures et moisissures (NM 08.0.123)

Le dénombrement des levures et moisissures a été fait par étalement de 0,1 ml de la solution mère à la surface de boîtes de milieu Sabouraud, puis incubation à 37°C pendant 24h.

9-Recherche de Salmonelle (NM 08.0.116)

La recherche des salmonelles s'effectue en quatre étapes :

- le pré enrichissement
- l'enrichissement
- l'isolement
- l'identification biochimique et sérologique.

9-1 Pré-enrichissement

Dans des sachets stériles, 25g d'aliment ont été ajoutés à 225 ml d'eau peptonnée tamponnée. L'incubation a été réalisée pendant 18 h à 24h à 36°C. Ceci permet aux salmonelles (éventuellement présentes) de se multiplier en abondance ; elles deviennent ainsi facilement détectables par la suite.

i. 9-2 Enrichissement

j. 0,1 ml du milieu pré-enrichi a été ajouté dans des tubes contenant 10 ml de bouillon de Rappaport de Vassiliadis. L'incubation a été réalisée à 42°C pendant 18 à 24 heures. La sélectivité du bouillon et la température d'incubation relativement élevée entraînent l'élimination d'une grande partie de la flore d'accompagnement et favorisent la croissance des salmonelles.



k. 9-3 Isolement

l. L'isolement par épuisement a été réalisé sur le milieu Hektoen. Les boîtes de pétri ont été incubées à 37° pendant 24h,

m. Les *Salmonella* apparaissent sous forme de colonies verdâtre ou verdâtre avec centre noirâtre. Les isolats suspects, ont été repiqués sur gélose nutritive inclinée, en vue de leur identification.

n. 9-4 Identification biochimique

a. Galerie classique

o. L'identification biochimique a été effectuée selon les étapes expliquées ci-dessous :

➤ **Fermentation du lactose, du glucose, production d'H₂S et de gaz :**

p. Le milieu de Kligler est un milieu combiné qui permet de confirmer la fermentation du glucose, du lactose, et la production d'H₂S et de gaz. Ce milieu en tube doit présenter un culot (2/3)ensemencé par piqûre centrale profonde, et une pente (1/3) dont la surface estensemencée par des stries. La lecture des résultats nous renseigne sur 4 éléments :

- La fermentation du glucose : culot jaune
- La non-fermentation du lactose : une pente rouge
- La production d'H₂S : un noircissement du milieu
- Le dégagement du gaz : l'apparition de bulles.

q. Sur ce milieu, les salmonelles présentent souvent une pente rouge, un culot jaune et un léger noircissement, alors que le dégagement du gaz est variable.

➤ **Test à l'ONPG :** recherche de l'enzyme β -galactosidase :

Il s'agit de l'Ortho-Nitro-Phényle-Galactopyranoside qui est un composé incolore, comme le lactose, qui est séné par l'enzyme β -galactosidase (enzyme du métabolisme du lactose). En libérant l'orthonitrophenol, composé soluble caractérisé par une couleur jaune.

Dans un tube à hémolyse, une suspension bactérienne épaisse a été réalisée dans 0,3ml de l'eau physiologique à laquelle un disque imprégné d'ONPG a été ajouté.

Le tube a été incubé à 37°C pendant 24 heures. Une réaction positive se traduit par une coloration jaunâtre.

➤ **Test de l'oxydase**

Ce test consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée à oxyder la forme réduite incolore des dérivés N-méthylés du paraphénylène diamine en leur forme oxydée semi-quinonique rose violacés.

Les entérobactéries sont des bacilles Gram négatifs, oxydase négatif (Raffaello Pompei et al, 1996).

L'absence d'oxydase se manifeste par l'absence de coloration violette, à la suite du dépôt d'une parcelle de la culture sur le disque « OX » et l'imprégnation d'eau physiologique.

➤ **Test Urée-Indole**

L'uréase : les bactéries uréase (+) hydrolysent l'urée en ammoniacque, qui fait varier l'indicateur du pH, entraînant un changement de la couleur du milieu, ainsi il devient alcalin par formation de carbonate d'ammonium, et vire au rouge violacé, alors qu'il était jaune orange (Berrada S., 2006).

Dans un tube à hémolyse contenant 0,3ml de l'Urée, quelques colonies isolées ont été ensemencées sur milieu gélosé. Le tube va être incubé à 37°C pendant 24 heures. Le virage du milieu au rouge violacé montre que la bactérie est urée +.

Dans le même tube, après une incubation de 24 heures, quelques gouttes du réactif de Kovacs ont été ajoutés. L'apparition d'une auréole rouge indique la transformation du tryptophane en indole.

➤ **b-Galerie Api 20E**

Api 20 E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à gram négatif non fastidieux, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

La galerie Api 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation (18h à 24h à 37°C) se traduisent par des virages de coloration spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique selon les recommandations du fournisseur.

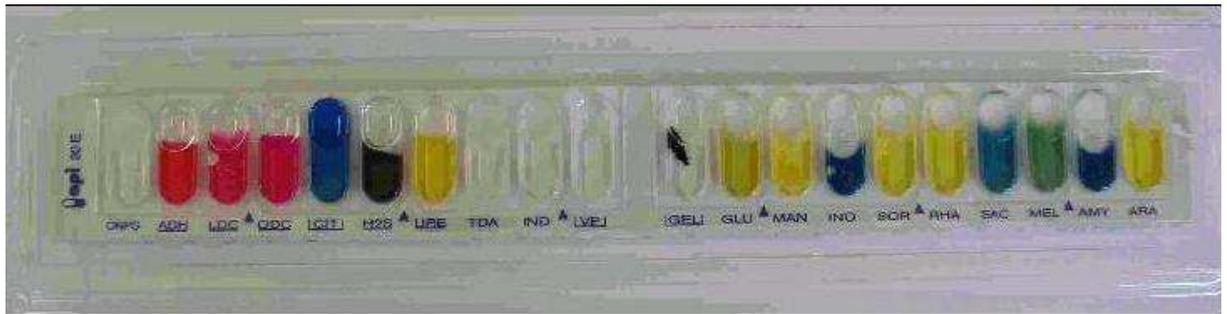


Figure 4 : La galerie api 20E

r. 9-5 identifications sérologiques : sérotypage des Salmonelles

But : Cette technique consiste à déterminer les sérotypes, la prévalence et la surveillance épidémiologique des souches de *Salmonella* collectées.

Principe : L'interaction antigène-anticorps est le principe clé de cette technique, en effet, les antigènes qui y sont impliqués sont portés par les bactéries à étudier, quant aux anticorps, ils sont représentés par les anti-sérums. Cette réaction est visualisée par une agglutination qui est le résultat macroscopique de la réaction antigène-anticorps (figure 5).

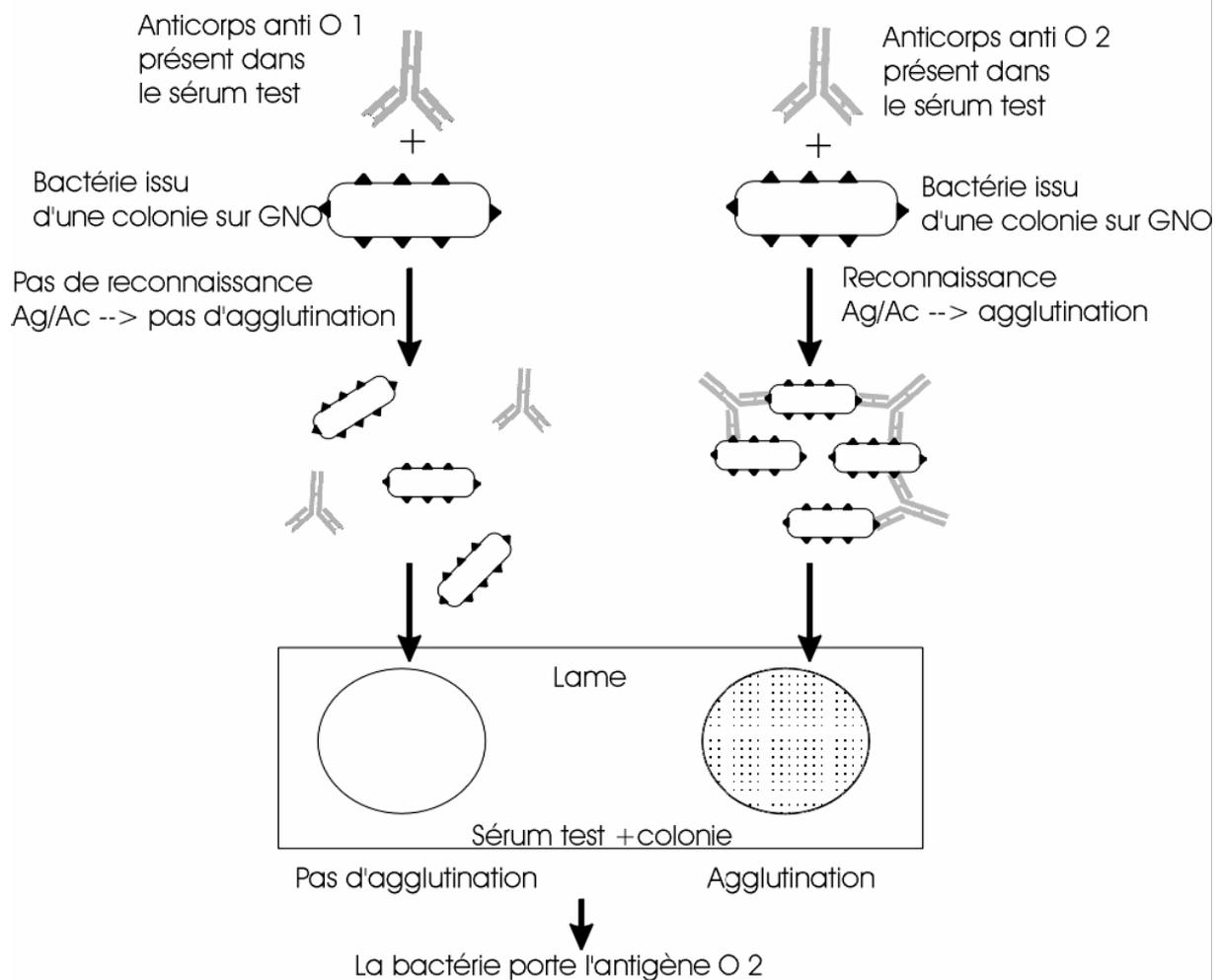


Figure 5 : Schéma illustrant l'interaction antigène-anticorps

Protocole :

Recherche des antigènes somatiques :

À partir d'une culture fraîche de *Salmonella* sur une gélose TCS ou gélose nutritive, on prélève avec une anse quelques bactéries qu'on mélange avec le sérum somatique anti-*Salmonella* sur une lame en verre, quelques minutes on observe à l'oeil nu la présence de l'agglutination (figure 6). Avant tout test d'agglutination, on vérifie d'abord avec de l'eau physiologique à 2 % l'auto-agglutination. Si la souche auto agglutine on réisole sur une nouvelle gélose TCS, puis on teste à nouveau l'agglutination sur cinq colonies différentes si le test est positif la souche est dite « Rough ».

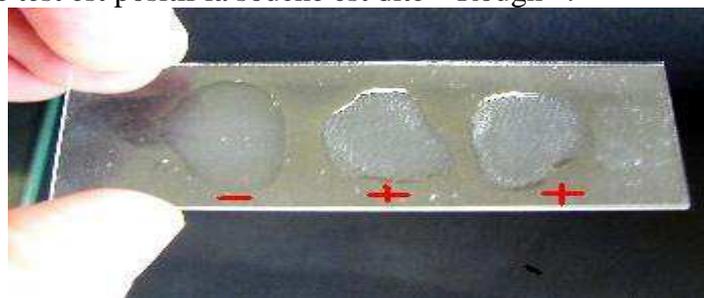


Figure 6 : Test agglutination sur lame

✚ Recherche des antigènes flagellaires :

A partir d'une culture fraîche sur un milieu gélosé semi solide Sven-Gard (SV), (Bio-Rad, Marnes-La-Coquette-France), on prélève des bactéries vers la périphérie des colonies qu'on mélange avec le sérum flagellaire anti-*Salmonella* (Bio-Rad, Marnes-La-Coquette-France) sur une lame, quelques minutes on observe à l'oeil nu la présence de l'agglutination. Pour la recherche des antigènes flagellaires de la deuxième phase chez les *Salmonelles* diphasique, on inactive la bactérie avec l'anti-sérum agglutinant, et on ensemence par piqure centrale sur gélose semi solide Sven-Gard (SV), pendant 12 à 18 heures. On prélève des bactéries vers la périphérie des colonies qu'on mélange avec le sérum flagellaire anti-*Salmonella* de la première phase. Les résultats sont reportés sur le schéma de Kaufmann-white pour identifier le sérotype correspondant.

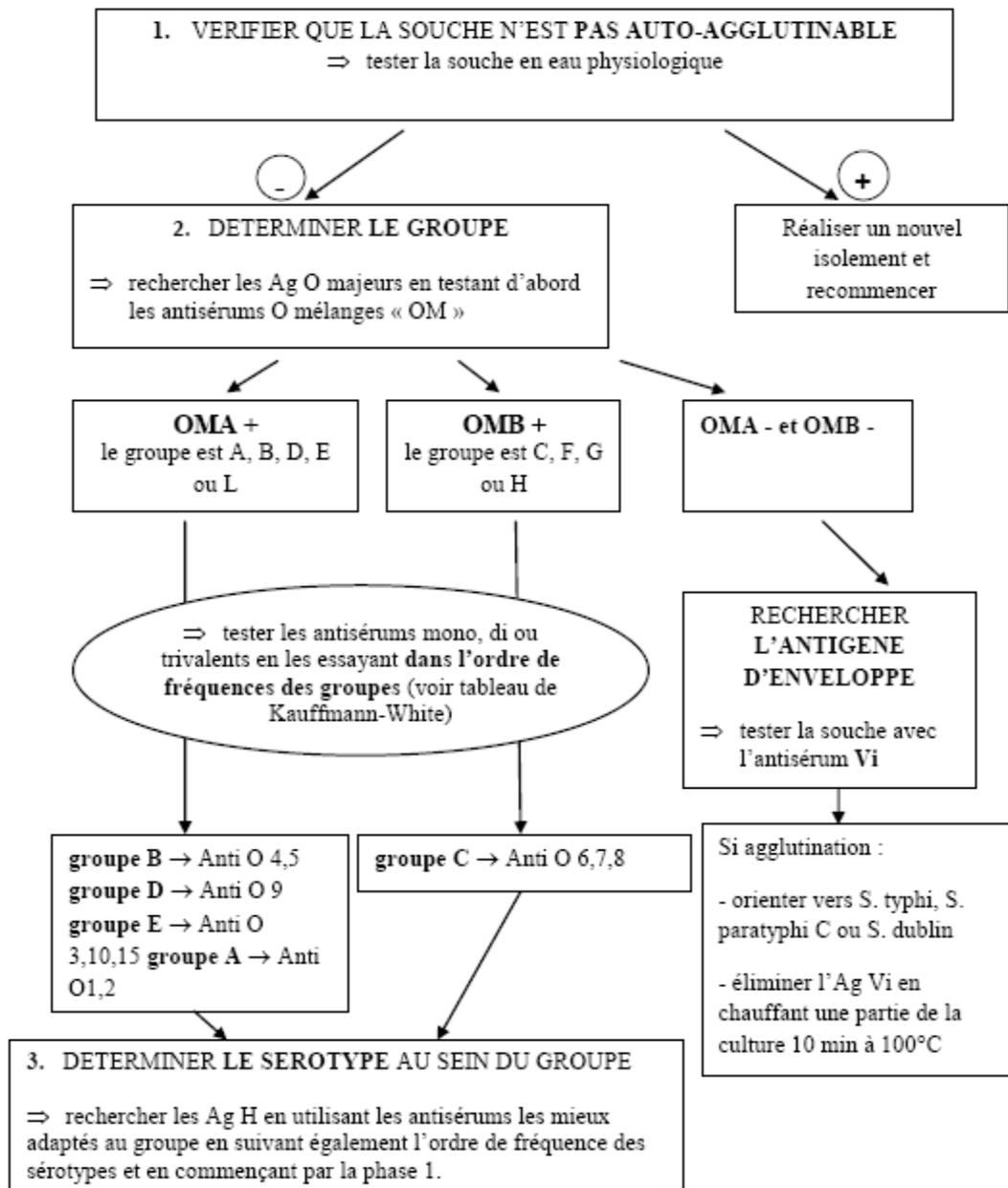


Figure 7: Conduite du sérotypage des *Salmonella*

10-Recherche de *Listeria monocytogenes* (NM 08.0.110)

La recherche des *Listeria monocytogenes* s'effectue en quatre étapes successives selon le protocole suivant:

Enrichissement primaire

10 g d'aliment ont été ajoutés à 90 ml de bouillon Fraser demi additionné à son supplément. Incuber à 30°C pendant 18 à 24 heures.

Enrichissement secondaire

A partir du bouillon Frazer 1/2, 0,1ml a été ajouté dans un tube contenant 10 ml de bouillon Frazer additionné lui aussi de son supplément. Les tubes inoculés ont été incubés à 37°C pendant 48 heures.

Le bouillon de Frazer intervient comme inhibiteur de l'acide nalidixique, le chlorure de lithium et une concentration assez élevée de chlorure de sodium.

Premier isolement

A partir du bouillon d'enrichissement primaire, un isolement a été réalisé par ensemencement par épuisement sur un milieu Palcam. Les boîtes ensemencées ont été incubées à 37°C pendant 24h à 48 heures. Les colonies retenues sont d'une couleur verte de 1,5mm à 2mm de diamètre avec une dépression centrale entourés d'un halo noir.

Deuxième isolement

A partir du bouillon d'enrichissement secondaire, un deuxième isolement par épuisement a été réalisé sur gélose Palcam, et incubé à 37°C pendant 24 à 48 heures.

La lecture des boîtes est faite, en recherchant les colonies caractéristiques.

Purification :

Les colonies suspectes ont été isolées sur milieu tryptone soja extrait de levure TSYAE. Les boîtes ensemencées ont été incubés à 37°C pendant 24 heures jusqu'au développement suffisant. Les colonies retenues sont de 1mm à 2 mm de diamètre, convexes, incolores et à bord régulier.

Lecture et identification biochimique

Les colonies caractéristiques ayant poussé sur gélose TSYAE font l'objet d'une identification biochimique basée sur :

- Coloration de Gram (petits BGP),
- Test Catalase (positif),
- Mobilité (en gélose mobilité à 22 - 25°C),
- Aéro-anaérobie facultatif,
- VP (+) et RM (+),
- Oxydase (-),
- Glucose (+), Gaz (-) et H₂S (-),
- Urée (-), Indole (-)

Les principaux caractères biochimiques communs au genre *Listeria* se trouve dans le tableau ci-dessous :

Tableau 4 : Caractères biochimiques différentiels des espèces de *Listeria*
(Lebres., 2006)

s.	Réactions positives	t.	Réactions négatives
u.	Catalase	aa.	Oxydase
v.	Glucose	bb.	Gaz en
w.	VP, RM		Glucose
x.	Esculine	cc.	Uréase
y.	Type respiratoire:	dd.	Indole
z.	aéro-anaérobie	ee.	H ₂ S

ff. Api Listeria :

Api Listeria est un système d'identification des *Listeria* utilisant des tests standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données spécifiques.

Elle permet la caractérisation du genre *Listeria* par élimination des espèces n'appartenant pas au genre *Listeria*.

Elle permet aussi la caractérisation de *Listeria monocytogenes* par rapport aux autres espèces.

Principe :

La galerie api Listeria comporte 10 micro tubes ou cupules contenant des substrats sous forme déshydratée, qui permettent la réalisation des tests enzymatiques.

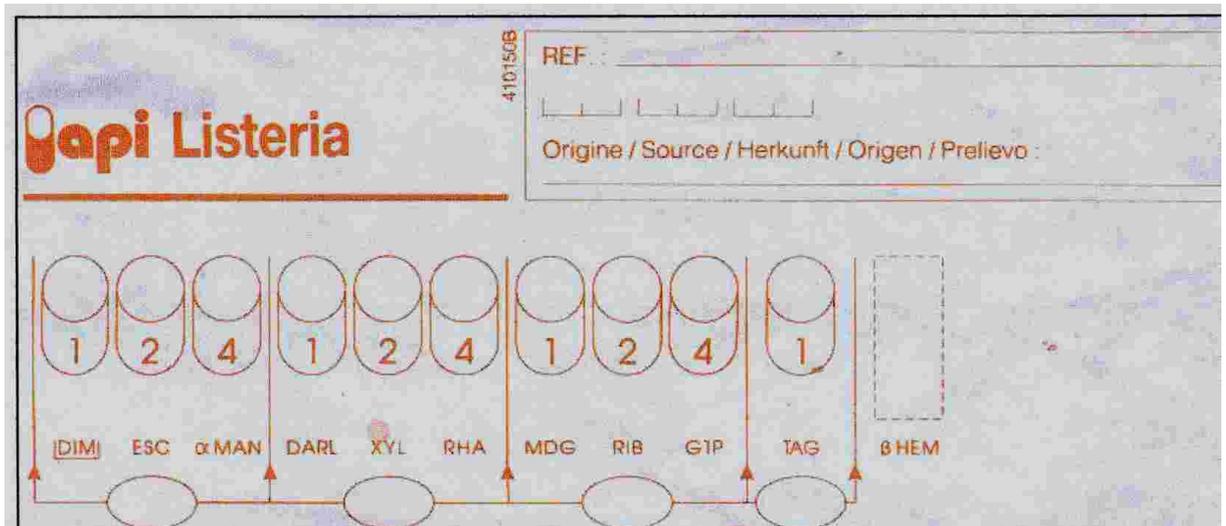


Figure 8 : Galerie api Listeria

La dénomination des substrats contenus dans les cupules, est la suivante :

DIM : Différentiation entre *Listeria innocua* et *Listeria monocytogenes*

ESC: Esculine ; MAN : & Mannosidase ; DARL : D-Arabitol ; XYL : D-Xylose

RHA : Rhamnose ; MDG : & -Méthyl-D-Glucoside ; RIB : Ribose ; G1P :

Glucose - 1 - Phosphate ; TAG : D-Tagatose. β HEM : Hémolyse.

Les réactions produites durant la période d'incubation à savoir l'acidification des sucres et l'hydrolyse de l'esculine, se traduisent par des changements de coloration spontanés ou révélés par l'addition d'un réactif.

Après incubation de 18 à 24 heures à 35 - 37°C, la lecture des réactions est réalisée visuellement et interprétée en fonction du tableau de lecture et d'identification, proposé par Api système.

Tableau 5 : Lecture et Interprétation des caractères portés sur la galerie Api *Listeria*.

ests	gg. T	hh. Réactions	ii. Résultats	
			jj. Né gatifs	kk. Po sitifs
IM	ll. D	mm. Différenciation <i>Listeria innocua</i> / <i>Listeria monocytogenes</i>	nn. Orange pâle oo. Rose beige pp. Gris bleu	qq. Or rr. Or ange ss.
SC	tt. E	uu. Esculine (hydrolyse)	vv. Jau ne pâle	ww. No ir
MAN	xx. &	yy. & MANnosidase	zz. Inc lore	aaa. Jaune
ARL	bbb. D	ccc. D-Arabitol (Acidification)	ddd. eee. fff. Ro gge. Rouge – Orangé	hhh. iii. jjj. Jau ne, Jaune – Orangé
YL	kkk. X	lll. D-XYlose (Acidification)		
HA	mmm. R	nnn. RHAmnose (Acidification)		
DG	ooo. M	ppp. &Méthyl-D-Glucoside (Acidification)		
IB	qqq. R	rrr. RIBose (Acidification)		
1B	sss. G	ttt. Glucose -1- Phosphate (Acidification)		
AG	uuu. T	vvv. D-TAGatose		

Sur cette galerie, la bactérie *Listeria spp* donne les résultats suivants :

- Hydrolyse de l'esculine,
- Présence d'une alpha-mannosidase,
- Acidification du D-arabitol, du L-rhamnose, du méthyl- alpha D- glucopyranoside, mais pas d'acidification du D-xylose, du D-ribose, du glucose-1-phosphate, du D-tagatose.

Le caractère DIM est négatif pour *Listeria monocytogenes*. *Listeria monocytogenes* ne produit pas d'indole, ni d'H₂S et ne possède pas de nitrate réductase, ni d'uréase, ni de gélatinase.



Figure 9 : Aspect de *Listeria monocytogenes* sur Api *Listeria*

II- Etude de la sensibilité aux antibiotiques de *Listeria monocytogenes* et *Salmonella spp* isolés des denrées alimentaires

But:

La réalisation d'un antibiogramme permet de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique.

Principe :

Consiste à placer la culture de bactéries en présence des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. Plusieurs disques d'antibiotiques sont déposés dans une boîte de pétri préalablement ensemencé par une culture bactérienne. Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du diamètre de la zone d'inhibition qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante.

Protocole :

Les étapes de la réalisation d'antibiogramme par la méthode de diffusion sont :

- Préparation de la suspension bactérienne (ensemencement de la souche bactérienne préalablement isolée et purifié sur le milieu PCA dans environ 10 ml d'eau physiologique).
- Ensemencement des boîtes de gélose Muller hinton par inondation
- Séchage des boîtes de 3 à 5 minutes
- Dépôt des disques des antibiotiques à la surface de la gélose Muller hinton
- Incubation 16 h à 18 H à 36±2 °C.
- Calcul du diamètre de la zone d'inhibition qui permet de déterminer la sensibilité ou la résistance aux antibiotiques.

L'interprétation des résultats a été faite selon les règles et les recommandations du Comité d'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM) (<http://www.sfm.asso.fr>) et les recommandations du Comité d'Experts de Standardisation biologique de l'OMS (1979) chargé de déterminer les valeurs critiques qui délimitent les catégories cliniques et de proposer un guide pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES
Département de Biologie



RESULTATS ET DISCUSSIONS

I-Analyse microbiologique des denrées alimentaires

2- Les classes d'aliments analysées au LRDEHM

a- Répartition selon les classes

Sur les 233 types d'aliments analysés au cours de cette étude, 38% (n=88) sont représentés par les plats cuisinés, 26% (n=61) pour la catégorie du laits et ses dérivés, 12% (n=27) pour les pâtisseries et crèmes pâtisseries, 10% (n=24) pour la classe es viandes et produits carnés, 10% pour la classe des végétaux et crudités et enfin la classe des boissons et limonades qui représente 4% (n=9).

Les catégories d'aliments analysées sont représentées dans la figure 10.

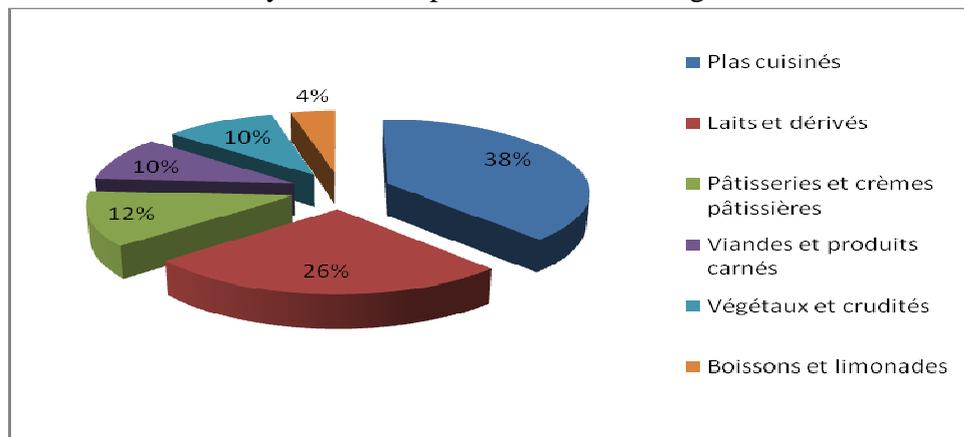


Figure 10: Pourcentage des classes d'aliments analysées au LRDEHM durant la période d'étude. Les résultats des analyses de 233 échantillons ont révélé un pourcentage de non-conformité de 46% pour la classe des laits et dérivés, 21% pour les viandes et les produits carnés, 11% pour les plats cuisinés, 9% pour les pâtisseries et crèmes pâtisseries, 8% pour la classe des boissons et limonades et 5% pour la classe des végétaux et crudités (figure 11).

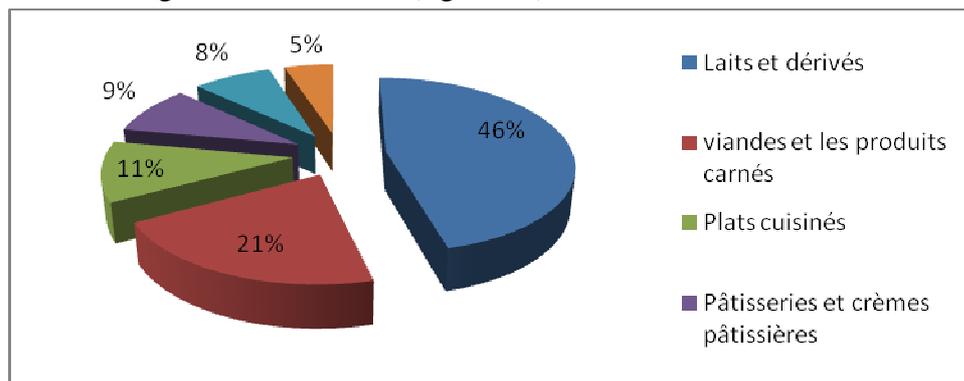


Figure 11 : Pourcentage de la non-conformité par classe d'aliments analysés au LRDEHM

D'après la figure 11, la non-conformité dans la classe des laits et dérivés est la plus dominante suivie par la classe des viandes et produits carnés.

b- Répartition selon les secteurs

D'après la figure 12 et 13, sur les 233 d'échantillons d'aliments 21 % (n=48) ont été prélevé par du secteur Zouagha ; 18% (n=42) par le secteur Mechouar.

Pour le secteur Hospitalier, Aéroports, El Mariniyène, Fès Medina, Saiss, et Jnane El ward, le nombre de prélèvement d'échantillon prélevés sont respectivement de 14% (n= 32), 10% (n=23), 3% (n=8), 18% (n=41), 11% (n=26) et 3% (n=8).

Le secteur Agdal a réalisé le plus faible nombre d'échantillons avec 2% (n=5).

Le pourcentage de la non-conformité de ces échantillons est variable selon les secteurs (figure 13).

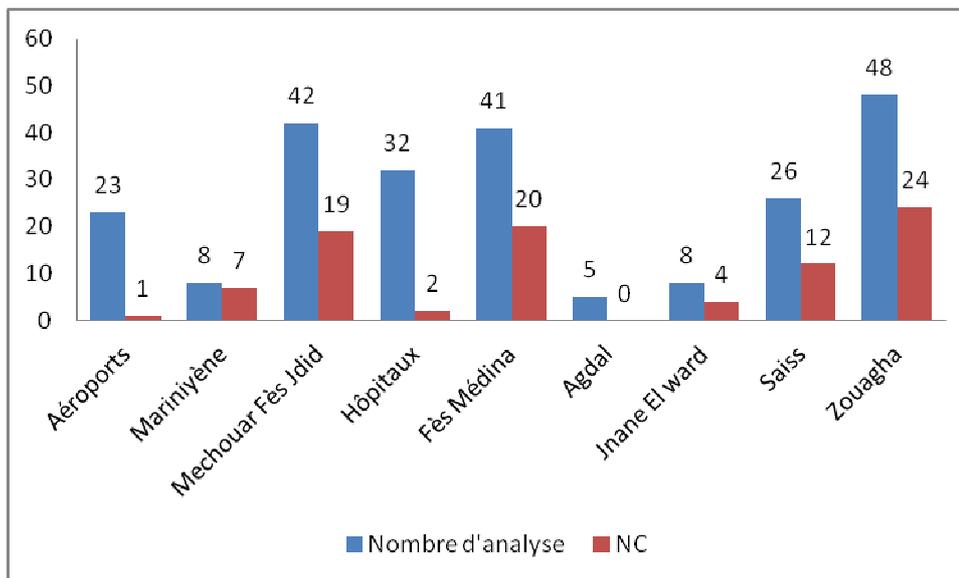


Figure 12 : Répartition des analyses et de la non-conformité en fonction des secteurs

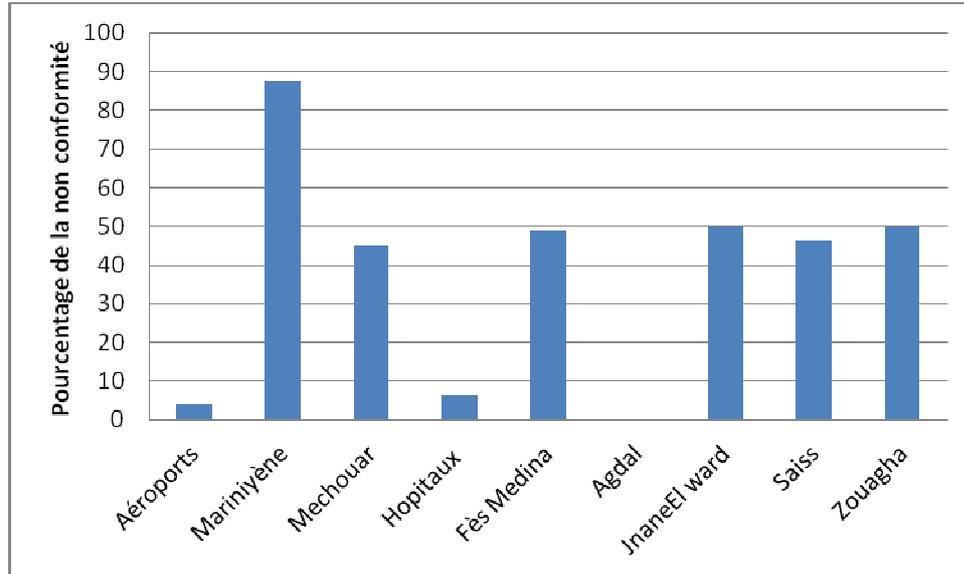


Figure 13 : Pourcentage de la non-conformité des aliments enregistrés au LRDEHM en fonction des secteurs

c- Nombre de cas positifs de *Salmonella* pour chaque secteur

D'après la figure 14, on remarque que le nombre élevé de cas positifs de *Salmonella* (7 souches) ont été isolés au niveau du secteur Mariniyène.

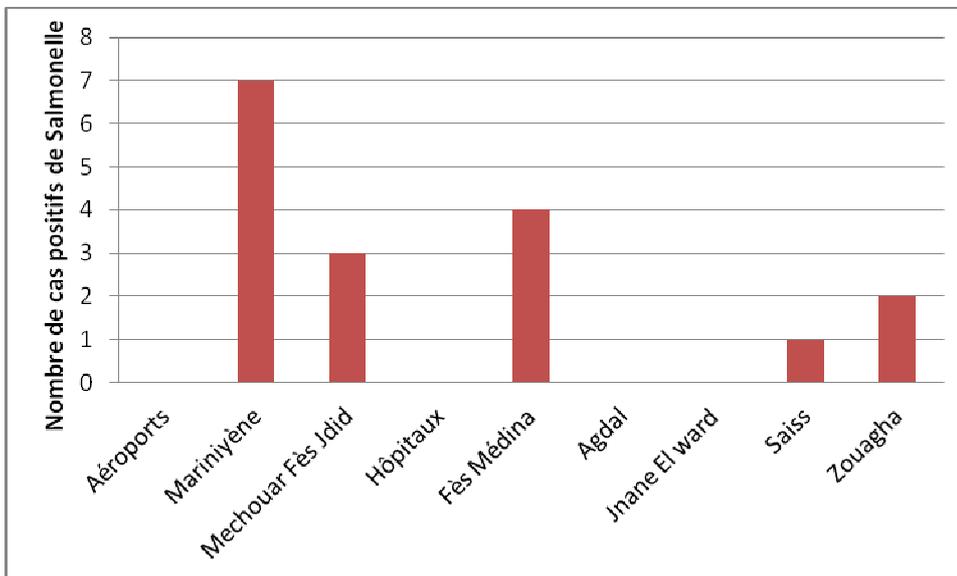


Figure 14 : Nombre de cas positifs de *Salmonella* pour chaque secteur

1-1 Analyses microbiologiques des plats cuisinés

Les résultats des analyses microbiologiques des plats cuisinés à base de viande et à base de volaille sont résumés dans le tableau 6 et le tableau 7.

Tableau 6 : Résultats des analyses microbiologiques des plats cuisinés à base de viande

Germes Plats cuisinés	GT	CT	CF	<i>S.a</i>	ASR	Salmonelle	Conformité
1	$3,2.10^3$	10^3	60	0	0	Absence	C
2	$5,6.10^3$	$1,5.10^3$	51	0	0	Absence	C
3	$2,7.10^2$	40	10	0	0	Absence	C
4	3.10^3	0	0	0	0	Absence	C
5	2.10^4	60	40	0	0	Absence	C
6	$2,5.10^3$	$1,5.10^2$	10^2	0	$2,3.10^3$	Absence	NC
7	7.10^4	3.10^3	2.10^4	0	0	Absence	NC
8	0	0	0	0	0	Absence	C
9	40	20	0	0	0	Absence	C
10	2.10^3	0	0	0	0	Absence	C
11	0	0	0	0	0	Absence	C
12	60	0	0	0	0	Absence	C
13	$3,7.10^5$	$4,1.10^4$	$1,2.10^2$	0	0	Absence	NC
14	10^3	5.10^2	0	0	0	Absence	C
15	6.10^2	0	0	0	0	Absence	C
16	30	0	0	0	0	Absence	C
17	4.10^2	0	0	0	0	Absence	C
18	4.10^6	10^3	50	0	0	Absence	C
19	2.10^4	2.10^2	0	0	0	Absence	C
20	0	0	0	0	0	Absence	C
21	9.10^7	0	0	0	0	Absence	C
22	40	0	0	0	0	Absence	C
23	2.10^3	10^2	0	0	0	Absence	C
24	0	0	0	0	0	Absence	C
25	10	0	0	0	0	Absence	C
26	10^2	0	0	0	0	Absence	C
27	7.10^2	3.10^2	0	0	0	Absence	C
28	$1,8.10^2$	10	0	0	0	Absence	C
29	2.10^4	60	0	0	0	Absence	C
30	10^6	2.10^4	$9,6.10^2$	0	0	Absence	NC
31	10^8	2.10^5	$7,3.10^2$	0	2.10^2	Absence	NC
32	2.10^5	0	0	0	0	Absence	C
33	10^2	0	0	0	0	Absence	C
34	10^2	0	0	0	0	Absence	C
35	10^2	0	0	0	0	Absence	C
36	2.10^2	20	0	0	0	Absence	C



37	10^2	30	0	0	0	Absence	C
38	0	0	0	0	0	Absence	C
39	10	0	0	0	0	Absence	C
40	2.10^4	90	50	0	0	Absence	C
41	20	0	0	0	0	Absence	C
42	0	0	0	0	0	Absence	C
43	0	0	0	0	0	Absence	C
44	6.10^3	20	0	0	0	Absence	C
45	2.10^2	10^2	0	0	0	Absence	C
46	2.10^2	20	0	0	0	Absence	C
47	10	0	0	0	0	Absence	C
48	10^4	60	0	0	0	Absence	C
49	5.10^3	10^2	0	0	0	Absence	C
50	2.10^4	8.10^2	40	0	0	Absence	C
51	2.10^3	$1,6.10^6$	8.10^3	0	0	Absence	NC
52	9.10^6	10^5	$1,4.10^2$	0	0	Absence	NC
53	20	0	0	0	0	Absence	C
54	2.10^5	10^4	0	0	0	Absence	C
55	10^5	10^4	0	0	0	Absence	C
56	3.10^6	10^4	10^2	0	0	Absence	C
57	3.10^2	0	0	0	0	Absence	C
58	0	0	0	0	0	Absence	C
59	10^5	3.10^4	6.10^3	0	0	Absence	NC
60	0	0	0	0	0	Absence	C
61	7.10^3	0	0	0	0	Absence	C
62	0	0	0	0	0	Absence	C
63	0	0	0	0	0	Absence	C
64	$1,7.10^2$	80	0	0	0	Absence	C
65	10	0	0	0	0	Absence	C
66	30	0	0	0	0	Absence	C
67	0	0	0	0	0	Absence	C
68	0	0	0	0	0	Absence	C
69	4.10^3	10^3	50	0	0	Absence	C
70	60	0	0	0	0	Absence	C
71	5.10^3	10^2	0	0	0	Absence	C
72	8.10^6	5.10^2	0	0	0	Absence	NC
73	0	0	0	0	0	Absence	C
Norme*	3.10^5	10^4	10^2	10^2	3.10^2	Absence dans 25g	

xxx. * : selon l'arrêté conjoint n° 624-04 Safar 1425 (8 avril 2004) publié au bulletin officiel N : 5214-30 rabbi 1- 1425 (20-5-2004) relative aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments.

Tableau 7 : Résultats des analyses microbiologiques des plats cuisinés à base de volaille

Germes Plats Cuisinés	GT	CF	<i>S.a</i>	ASR	Salmonelle	Conformité
1	2.10 ³	0	0	0	Absence	C
2	0	0	0	0	Absence	C
3	0	0	0	0	Absence	C
4	5.10 ⁶	4,6.10 ⁶	0	10 ⁴	Absence	NC
5	3.10 ³	0	0	0	Absence	C
6	5.10 ⁶	0	0	0	Absence	C
7	1,6.10 ³	0	0	0	Absence	C
8	50	0	0	0	Absence	C
Norme*	3.10⁶	10²	10³	10²	absence	

yyy. *
 : selon
 l'arrêté
 conjoint n°
 624-04
 Safar 1425
 (8 avril

2004) publié au bulletin officiel N : 5214-30 rabbi 1- 1425 (20-5-2004) relative aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments.

zzz. Les plats cuisinés étudiés présentent un pourcentage de non-conformité de 11% (figure 15) ; cela est dû essentiellement en teneurs élevées en :

- FMAT qui est un indice de la qualité hygiénique
- CT, CF qui sont des témoins de la mauvaise qualité hygiénique des aliments

Nous avons remarqué l'absence des germes pathogènes tel que *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp* et *Listeria monocytogenes* puisque ces produits alimentaires ont déjà subis la cuisson. La présence d'autres germes tel que les CT, CF témoignent d'une contamination après la cuisson.

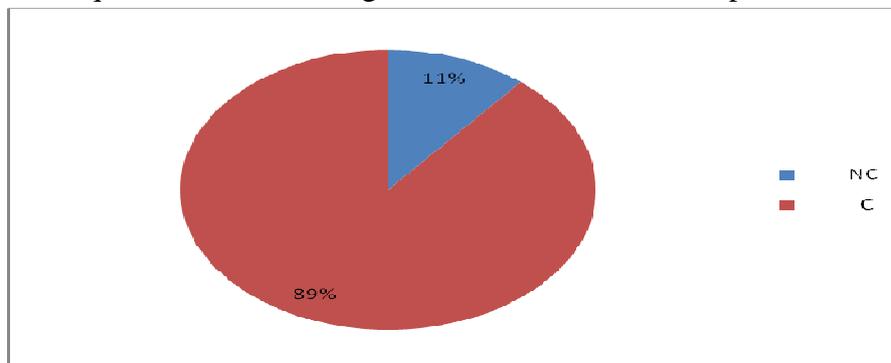


Figure 15: Pourcentage de la non-conformité pour la catégorie des plats cuisinés

La non-conformité de la catégorie des plats cuisinés à base de volailles en fonction des germes trouvés est donnée sur la figure 16. Cette figure montre que les germes totaux et les coliformes fécaux sont les plus dominants.

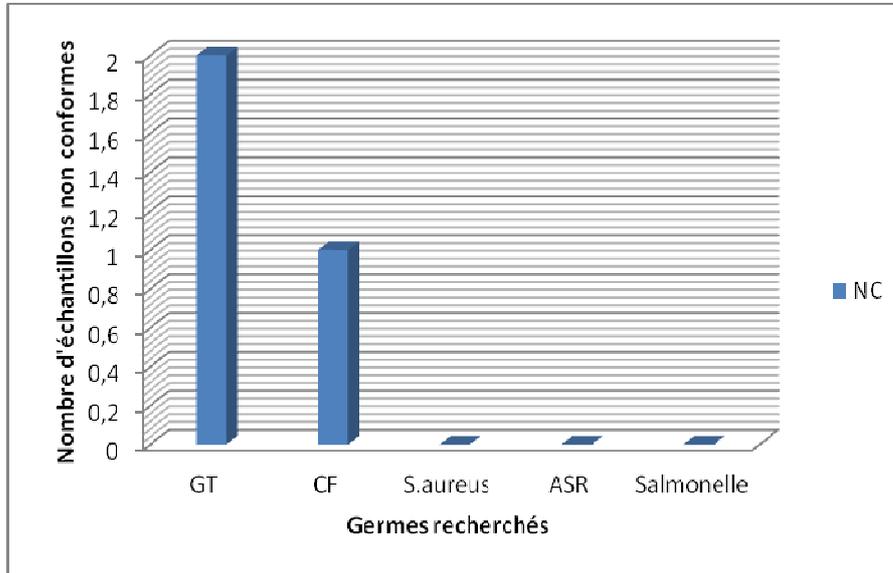


Figure 16 : Germes responsables de la non-conformité pour la catégorie des plats cuisinés à base de volailles

La non-conformité de la catégorie des plats cuisinés à base de viandes en fonction des germes trouvés est donnée sur la figure 17. Cette figure montre que la non-conformité est due essentiellement aux germes totaux ainsi que les coliformes fécaux suivi par les coliformes totaux.

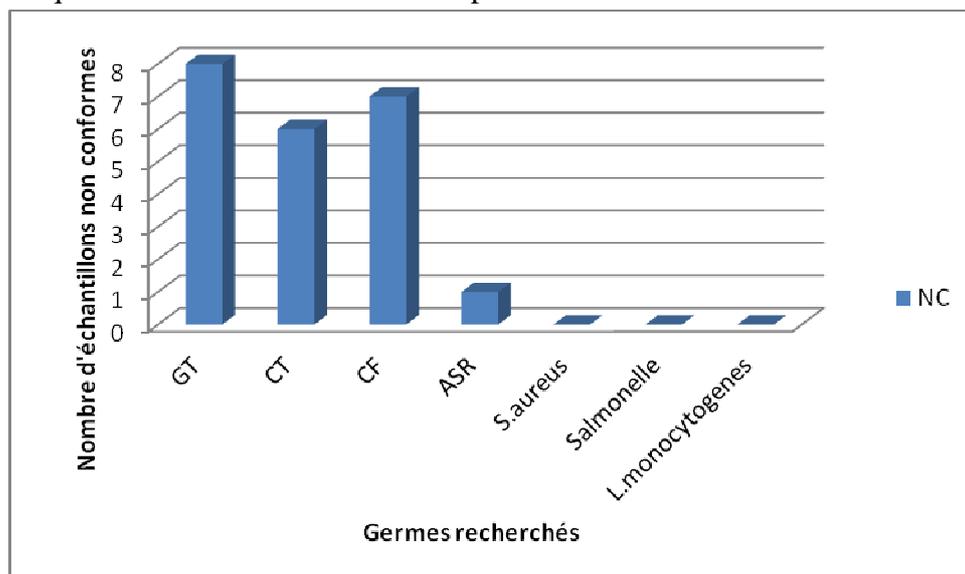


Figure 17 : Germes responsables de la non-conformité pour la catégorie des plats cuisinés à base de viandes

1-2 Analyse microbiologique des laits et dérivés

Les résultats des analyses microbiologiques des laits et dérivés sont résumés dans le tableau 8 (Raib et Lben), tableau 9 (lait cru) et tableau 10 (Jben).

Tableau 8 : Analyses microbiologiques du raib et lben

Raib, Lben	Germes	CT	Salmonelle	Conformité
1		$3,7 \cdot 10^2$	Absence	NC
2		$3,9 \cdot 10^2$	Absence	NC
3		$1,3 \cdot 10^5$	Absence	NC
4		0	Absence	C
5		$7 \cdot 10^2$	Absence	NC
6		$4 \cdot 10^5$	Absence	NC
7		40	Absence	NC
8		$1,6 \cdot 10^2$	Absence	NC
9		$1,6 \cdot 10^2$	Absence	NC
10		$1,8 \cdot 10^5$	Présence	NC
11		0	Absence	C
12		$3,2 \cdot 10^2$	Absence	NC
13		0	Absence	C
14		$2,3 \cdot 10^2$	Absence	NC
15		$3 \cdot 10^7$	Présence	NC
16		0	Absence	C
17		0	Absence	C
18		$5 \cdot 10^3$	Absence	C
19		$4 \cdot 10^6$	Absence	NC
20		$1,2 \cdot 10^3$	Absence	NC
21		0	Absence	C
22		0	Absence	C
23		$1,2 \cdot 10^4$	Absence	NC
24		$3,6 \cdot 10^2$	Absence	NC
25		90	Absence	NC
26		$3,1 \cdot 10^2$	Absence	NC
27		0	Absence	C
28		$1,2 \cdot 10^7$	Absence	NC
29		10	Absence	NC
30		$3,8 \cdot 10^2$	Absence	NC
Norme*		5	Absence dans 25g	

aaaa. * : selon l'arrêté conjoint n° 624-04 Safar 1425 (8 avril 2004) publié au bulletin officiel N : 5214-30 rabbi 1- 1425 (20-5-2004) relative aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments.

Tableau 9: Analyses microbiologiques des laits et dérivés(Jben)

Germes Jben	CF	<i>S.aureus</i>	Salmonelle	Conformité
----------------	----	-----------------	------------	------------

1	8.10^5	0	Absence	NC
2	4.10^3	0	Absence	NC
3	0	0	Absence	C
4	$1,5.10^2$	0	Absence	C
5	8.10^2	0	Absence	C
6	80	0	Absence	C
7	8.10^5	0	Absence	NC
8	4.10^3	0	Absence	C
9	2.10^5	0	Absence	NC
10	0	0	Absence	C
Norme *	10^5	10^4	Absence	

bbb. * : selon l'arrêté conjoint n° 624-04 Safar 1425 (8 avril 2004) publié au bulletin officiel N : 5214-30 rabbi 1- 1425 (20-5-2004) relative aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments.

Tableau 10: Analyses microbiologiques des laits et dérivés(lait cru)

Lait cru	Germes	GT	CF	Salmonelle	Conformité
1		3.10^5	2.10^4	Présence	NC
2		2.10^4	3.10^2	Absence	C
3		2.10^5	$2,4.10^3$	Absence	NC
4		3.10^7	$5,6.10^3$	Absence	NC
5		$1,9.10^5$	$2,3.10^3$	Présence	NC
6		7.10^4	10	Absence	C
8		6.10^8	8.10^3	Absence	NC
9		10^6	$5,2.10^3$	Présence	NC
10		3.10^7	6.10^2	Présence	NC
11		2.10^7	10^2	Présence	NC
12		$4,5.10^4$	$1,7.10^2$	Absence	C
13		$7,1.10^4$	2.10^2	Absence	C
14		$4,2.10^3$	0	Présence	NC
15		$1,8.10^4$	$2,8.10^2$	Présence	NC
16		$2,5.10^2$	10	Présence	NC
17		2.10^8	10^6	Absence	NC
18		2.10^6	4.10^4	Absence	NC
19		$5,2.10^4$	$3,4.10^2$	Absence	C

Norme*	3.10⁶	10³	Absence
---------------	-------------------------	-----------------------	----------------

ccc. * : selon l'arrêté conjoint n° 624-04 Safar 1425 (8 avril 2004) publié au bulletin officiel N : 5214-30 rabbi 1- 1425 (20-5-2004) relative aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments.

La catégorie du lait et ses dérivés présente un pourcentage de non-conformité de 46% (figure 18). L'origine de cette non conformité est dû essentiellement :

- ✚ Aux CT et CF qui sont les témoins de la qualité hygiénique des aliments, ceci pourrait être expliqué par les conditions d'hygiène insuffisantes lors de la préparation de ces aliments.
- ✚ A la FMAT qui peut provenir de la flore initiale du lait, de l'environnement ou bien d'une mauvaise hygiène du personnel.
- ✚ La présence des germes pathogènes: *Salmonella spp* et *Listeria monocytogenes*. Ceci témoigne des mauvaises conditions d'hygiène, de fabrication et/ou de stockage de ces produits.

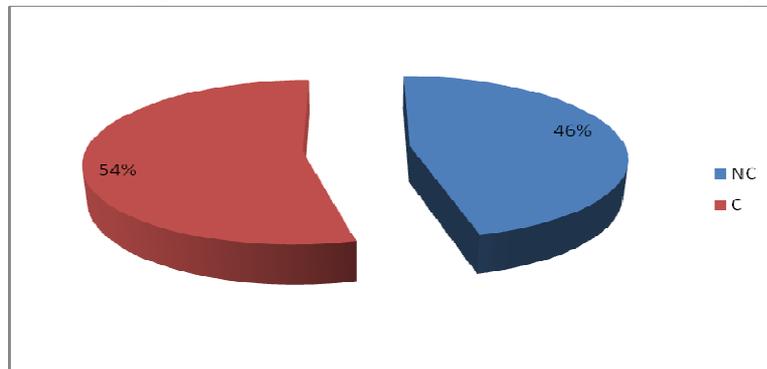


Figure 18: Pourcentage de la non-conformité pour la catégorie des laits et dérivés

La non-conformité de la catégorie des laits et dérivés (Raib,Lben) en fonction des germes trouvés est donnée sur la figure 19. Cette figure montre que les coliformes totaux sont les plus dominants et la présence des germes pathogènes tels que *Salmonella spp* et *Listeria monocytogenes*.

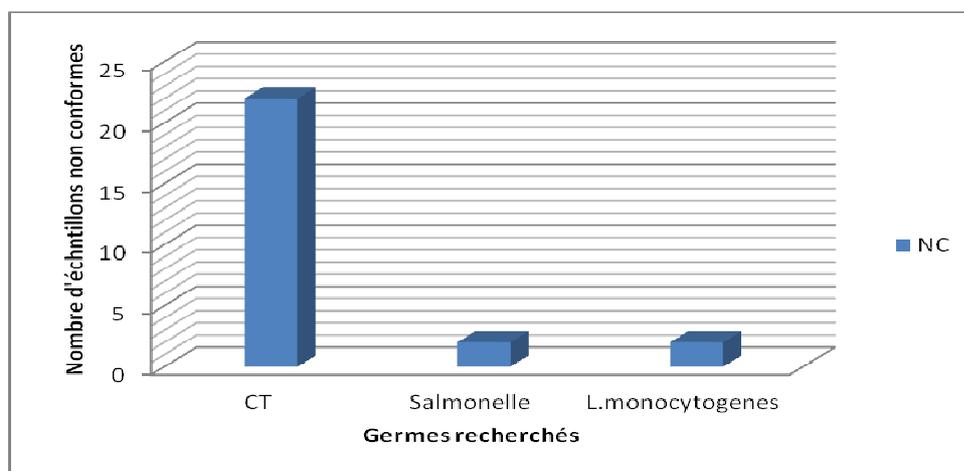


Figure 19: Germes responsables de la non-conformité pour la catégorie des laits et dérivés(Raib,Lben)

La non-conformité de la catégorie des laits et dérivés (Jben) en fonction des germes trouvés est donnée sur la figure 20. Cette figure montre que les coliformes fécaux sont les plus dominants et la présence des germes pathogènes tels que *Salmonella spp* et *Staphylococcus aureus*.

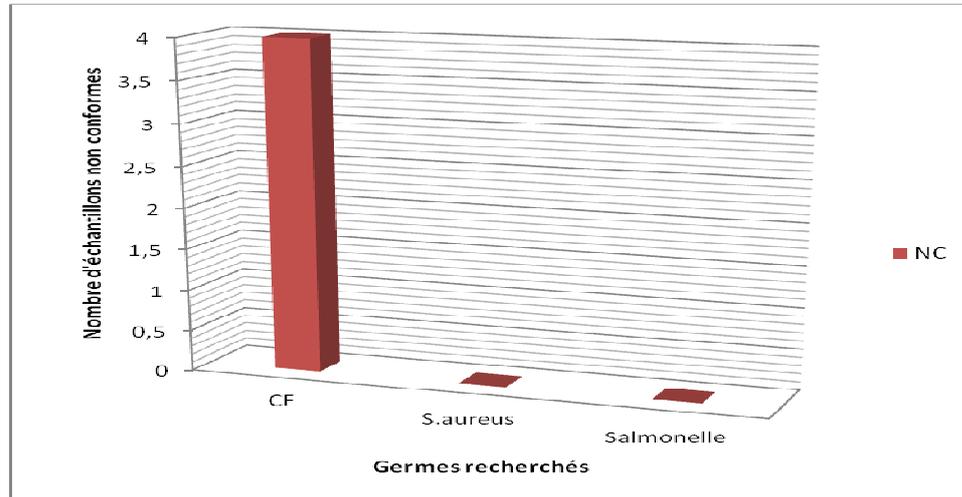


Figure 20: Germes responsables de la non-conformité pour la catégorie des laits et dérivés(Jben)

La non-conformité de la catégorie des laits et dérivés (Lait cru) en fonction des germes trouvés est donnée sur la figure 21. Cette figure montre que les coliformes fécaux et germes totaux sont les plus dominants et la présence des germes pathogènes tels que *Salmonella spp* et *Listeria monocytogenes*

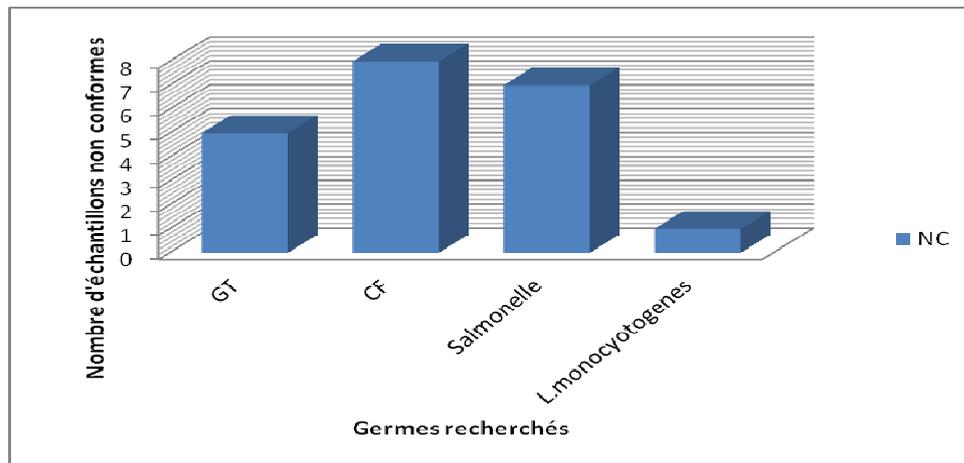


Figure 21: Germes responsables de la non-conformité pour la catégorie des laits et dérivés (Lait cru)

1-3 Analyse microbiologique des pâtisseries et crèmes pâtissières

Les résultats des analyses microbiologiques des pâtisseries et crèmes pâtissières sont résumés dans le tableau 11.

Tableau 11: Analyses microbiologiques des pâtisseries et crèmes pâtissières



Germes P	GT	CT	CF	<i>S.aureus</i>	ASR	Salmonelle	Conformité
1	90	0	0	0	0	Absence	C
2	40	0	0	0	0	Absence	C
3	20	0	0	0	0	Absence	C
4	10	0	0	0	0	Absence	C
5	0	0	0	0	0	Absence	C
6	0	0	0	0	0	Absence	C
7	2.10^4	$5,4.10^2$	10	0	0	Absence	NC
8	3.10^5	20	10	0	0	Absence	C
9	8.10^2	0	0	0	0	Absence	C
10	6.10^4	$4,8.10^3$	$2,1.10^2$	0	0	Absence	NC
11	$1,6.10^5$	8.10^3	$2,1.10^2$	0	0	Absence	NC
12	$5,2.10^4$	$8,3.10^2$	$2,7.10^2$	0	0	Absence	NC
13	$2,5.10^4$	$8,3.10^2$	$2,7.10^2$	0	0	Absence	NC
14	70	0	0	0	0	Absence	C
15	0	0	0	0	0	Absence	C
16	10^5	0	0	0	0	Absence	C
17	0	0	0	0	0	Absence	C
18	30	0	0	0	0	Absence	C
19	$2,1.10^4$	3.10^3	51.0^2	0	0	Absence	NC
20	5.10^4	0	0	0	0	Absence	C
21	0	0	0	0	0	Absence	C
22	0	0	0	0	0	Absence	C
21	10^2	0	0	0	0	Absence	C
22	2.10^4	6.10^2	$1,5.10^2$	0	0	Absence	NC
23	10^6	10^4	$3,4.10^2$	0	0	Absence	NC
24	$4,3.10^2$	20	0	0	0	Absence	C
25	20	0	0	0	0	Absence	C
26	10	0	0	0	0	Absence	C
27	40	0	0	0	0	Absence	C
Norme*	3.10^6	10^4	10	10^3	10^2	Absence dans 25g	

dddd. * : selon l'arrêté conjoint n° 624-04 Safar 1425 (8 avril 2004) publié au bulletin officiel N : 5214-30 rabbi 1- 1425 (20-5-2004) relative aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments.

Les pâtisseries et crèmes pâtissières présentent un pourcentage de non-conformité de 9% (Figure 22), cela est dû aux CF qui témoignent du non-respect des conditions d'hygiène.

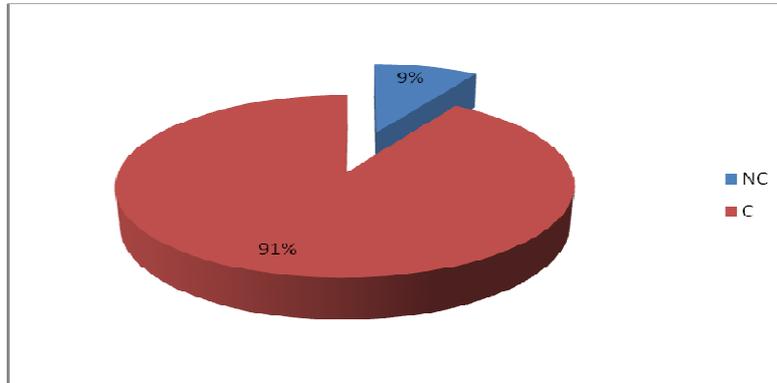


Figure 22: Pourcentage de la non-conformité pour la catégorie des pâtisseries et crèmes pâtisseries

La non-conformité de la catégorie des pâtisseries et crèmes pâtisseries en fonction des germes isolés est donnée sur la figure 23. Cette figure montre que les coliformes fécaux sont les plus dominants.

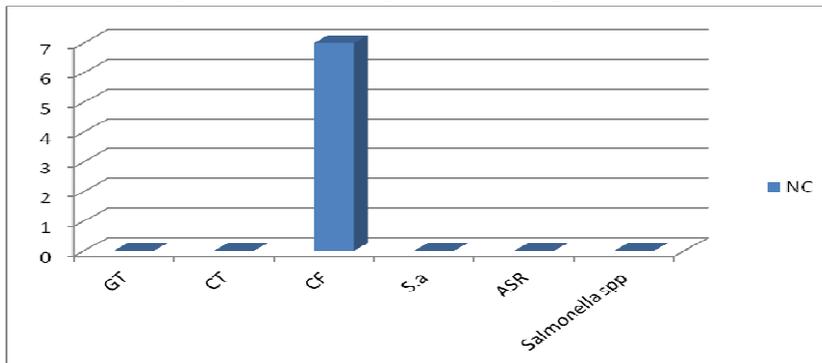


Figure 23 : Germes responsables de la nonconformité pour la catégorie des pâtisseries et crèmes pâtisseries

1-4 Analyse microbiologique des Viandes et produits carnés

Les résultats des analyses microbiologiques des viandes et produits carnés sont résumés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Analyses microbiologiques des viandes et produits carnés

Germes VH	GT	CF	<i>S.aureus</i>	ASR	Salmonelle	Conformité
1	5.10^3	$1,210^2$	0	0	Présence	NC
2	2.10^4	90	0	0	Absence	C
3	2.10^4	$5,8.10^2$	0	0	Présence	NC
4	5.10^4	$6,4.10^3$	0	2.10^2	Présence	NC
5	6.10^4	7.10^2	0	0	Présence	NC
6	10^6	2.10^4	0	0	Présence	NC
7	$3,6.10^3$	0	0	0	Absence	C

8	3.10^2	0	0	0	Absence	C
9	2.10^3	20	0	0	Absence	C
10	2.10^5	$1,5.10^2$	0	30	Absence	C
11	2.10^7	$2,4.10^4$	0	$2,6.10^2$	Absence	NC
12	3.10^7	4.10^2	0	$1,4.10^2$	Absence	NC
13	3.10^9	3.10^7	0	0	Absence	NC
14	2.10^6	3.10^2	0	0	Absence	NC
15	4.10^7	3.10^6	0	50	Absence	NC
16	5.10^7	10^3	0	0	Présence	NC
17	2.10^5	30	0	0	Absence	C
18	7.10^5	8.10^2	0	0	Absence	NC
19	2.10^6	7.10^5	0	0	Absence	NC
20	8.10^5	2.10^5	0	0	Absence	NC
21	2.10^5	8.10^3	0	50	Absence	NC
22	5.10^6	$4,6.10^6$	0	10^4	Absence	NC
23	8.10^6	$5,6.10^5$	0	8.10^4	Présence	NC
24	4.10^8	8.10^3	8.10^2	0	Absence	NC
Norme*	5.10^6	5.10^2	5.10^2	10^2	Absence dans 25g	

eeee. * : selon l'arrêté conjoint n° 624-04 Safar 1425 (8 avril 2004) publié au bulletin officiel N : 5214-30 rabbi 1- 1425 (20-5-2004) relative aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments.

Les viandes et produits carnés présentent un pourcentage de non-conformité de 21% (figure 24). L'origine est attribuée aux :

- ✚ Teneurs élevées en FMAT signe d'une contamination initiale importante ou une conservation défectueuse d'aliments.
- ✚ CT et CF qui sont les témoins de la qualité hygiénique des aliments.
- ✚ Germes pathogènes : *Salmonella spp* (7 souches) soit une prévalence de 29% et 9 souches de *Listeria monocytogenes* soit une prévalence de 37,5%.
- ✚ *Staphylococcus aureus* qui est un indice de recontamination humaine puisque c'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses de l'homme.

Cette contamination pourrait être expliquée par le non respect ou la rupture de la chaîne de froid lors du transport ou du stockage de la viande.

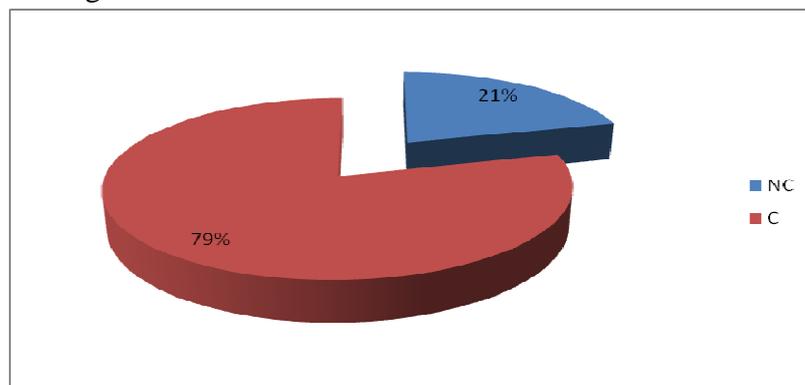


Figure 24 : Pourcentage de la non-conformité des viandes et produits carnés

La non-conformité de la catégorie des viandes et produits carnés en fonction des germes trouvés est donnée sur la figure 25. Cette figure montre que les coliformes fécaux sont les plus dominants suivi de *Listeria monocytogenes*, GT et Salmonelles.

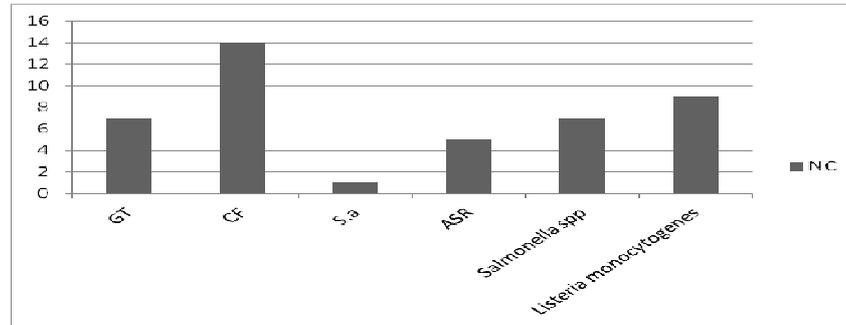


Figure 25 : Bactéries responsables de la non-conformité pour la catégorie des viandes et produits carnés

1-5 Analyse microbiologique des végétaux et crudités

Les résultats des analyses microbiologiques des végétaux et crudités sont résumés dans le tableau 13.

Tableau 13: Analyses microbiologiques des végétaux et crudités

Germes V	GT	CT	CF	<i>S.aureus</i>	ASR	Salmonelle	Conformité
1	2.10^4	30	0	0	0	Absence	C
2	$1,8.10^4$	20	0	0	0	Absence	C
3	10^3	0	0	0	0	Absence	C
4	5.10^2	0	0	0	0	Absence	C
5	2.10^5	5.10^4	8.10^2	0	0	Absence	NC
6	4.10^5	3.10^4	10^2	0	0	Absence	NC
7	2.10^6	$1,2.10^3$	0	0	0	Absence	C
8	2.10^2	0	0	0	0	Absence	C
9	3.10^4	3.10^3	$1,2.10^3$	0	0	Absence	NC
10	3.10^2	$2,510^2$	70	0	0	Absence	C
11	$3,6.10^3$	$2,3.10^2$	10	0	0	Absence	C
12	$4,8.10^3$	2.10^3	10^2	0	0	Absence	C
13	$1,2.10^4$	4.10^3	50	0	0	Absence	C
14	3.10^2	0	0	0	0	Absence	C
15	70	0	0	0	0	Absence	C
16	5.10^4	2.10^3	0	0	0	Absence	C
17	40	20	0	0	0	Absence	C
18	0	0	0	0	0	Absence	C
19	10^2	0	0	0	0	Absence	C
20	20	0	0	0	0	Absence	C
21	8.10^8	$1,5.10^7$	$4,8.10^3$	0	0	Absence	NC

22	$5 \cdot 10^3$	40	60	0	0	Absence	C
23	$6 \cdot 10^3$	20	0	0	0	Absence	C
24	$2 \cdot 10^3$	0	0	0	0	Absence	C
Norme *	$3 \cdot 10^6$	10^4	10^2	10^3	$3 \cdot 10^2$	absence	

ffff. * : selon l'arrêté conjoint n° 624-04 Safar 1425 (8 avril 2004) publié au bulletin officiel N : 5214-30 rabbi 1- 1425 (20-5-2004) relative aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments. La classe des végétaux et crudités présentent un pourcentage de non-conformité de 5% (figure 26). Les produits d'origine végétale sont les plus exposés à la contamination par les microorganismes du sol. Les contaminants peuvent être véhiculés par l'eau d'irrigation, le vent, les insectes et les oiseaux.

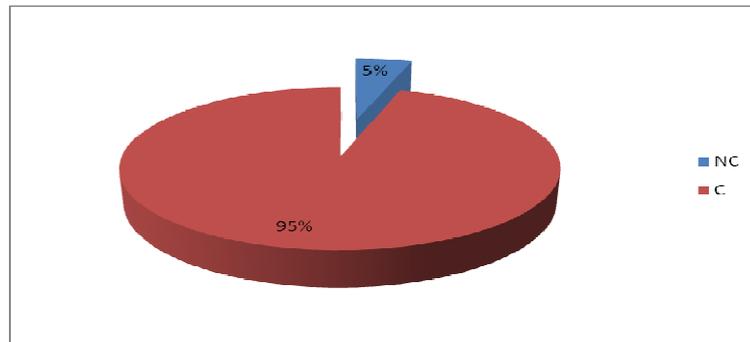


Figure 26: Pourcentage de la non-conformité pour la catégorie des végétaux et crudités
 La non-conformité de la catégorie des végétaux et crudités en fonction des bactéries isolées est donnée sur la figure 27. Cette dernière montre que les coliformes totaux et fécaux sont les plus dominants.

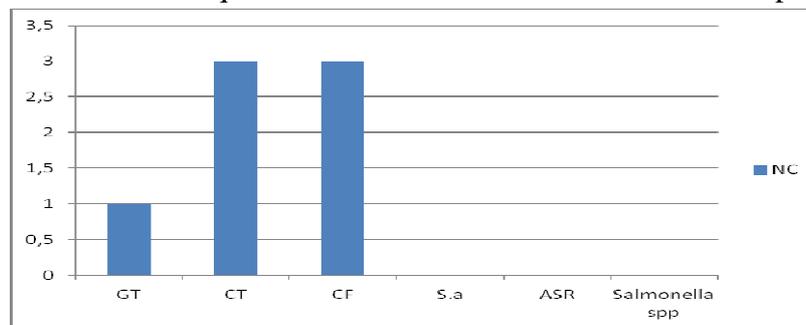


Figure 27 : Microorganismes responsables de la nonconformité pour la catégorie des végétaux et crudités

1-6 Analyse microbiologique des boissons et limonades

Les résultats des analyses microbiologiques des boissons et limonades sont résumés dans le tableau 14.

Tableau 14 : Analyses microbiologiques des boissons et limonades

Germes B et L	GT	CT	CF	S.aureus	L et M	Salmonella	Conformité
1	$2,8 \cdot 10^2$	0	0	0	$1,3 \cdot 10^2$	Absence	NC

2	10^2	0	0	0	0	Absence	C
3	3.10^7	3.10^3	$4,6.10^2$	0	10^2	Absence	NC
4	3.10^6	$1,2.10^4$	10^3	0	0	Absence	NC
5	$1,6.10^4$	4.10^2	0	0	$4,6.10^3$	Absence	NC
6	$8,4.10^4$	7.10^2	0	0	$1,4.10^3$	Absence	NC
7	$5,4.10^5$	$7,8.10^3$	$3,4 .10^3$	$3,4.10^2$	$1,7.10^3$	Absence	NC
8	2.10^8	10^7	2.10^6	10^5	20	Absence	NC
9	3.10^2	0	0	0	0	Absence	C
Norme*	10^5	10^2	0	10^2	10^3	Absence dans 25g	

gggg. * : selon l'arrêté conjoint n° 624-04 Safar 1425 (8 avril 2004) publié au bulletin officiel N° 5214-30 rabbi 1- 1425 (20-5-2004) relative aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments.

hhhh.

iiii. La catégorie des boissons et limonades présente un pourcentage de non-conformité de 8% (figure 28).

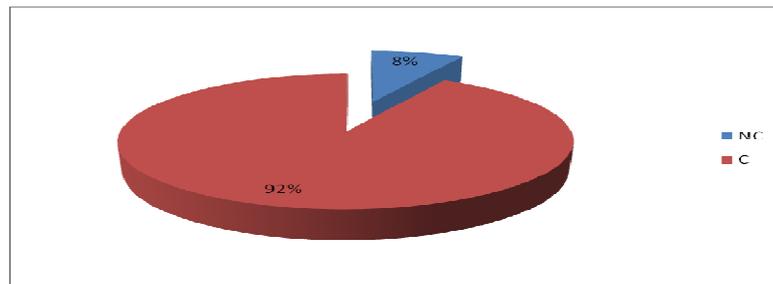


Figure 28: Pourcentage de la non-conformité pour la catégorie des boissons et limonades
 La non-conformité de la catégorie des boissons et limonades en fonction des germes trouvés est donnée sur la figure 29. Celle-ci montre que les coliformes totaux sont les plus dominants suivis des coliformes totaux, GT, CF, levures et moisissures et *S.a*.

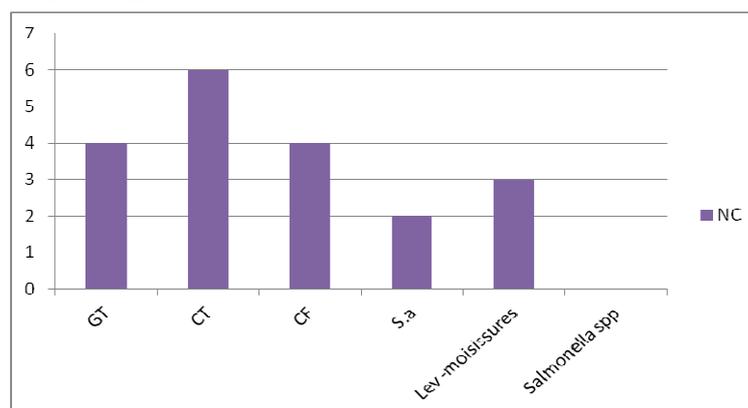


Figure 29: Bactéries responsables de la non conformité pour la catégorie des boissons et limonades

En synthèse des résultats trouvés, la valeur maximale des coliformes totaux est fécaux est détecté dans le laits et ses dérivés et les viandes et produits carnés, ces coliformes totaux et fécaux témoignent de la qualité hygiénique non satisfaisante des aliments et des conditions d'hygiène insuffisantes lors de la préparation de ces aliments...

Les souches de *S.aureus* pathogènes ont été trouvées dans la viande hachée et le jus, cette bactérie est un indice de recontamination humaine puisque c'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses de l'homme, sa présence pourrait être dû également à la rupture de la chaîne de froid lors du transport, stockage ou exposition de la viande.

Le principal portage de *S.aureus* peut être d'origine nasal. En effet, la prévalence du portage nasal permanent est comprise entre 20 et 25 % (Peacocketal., 2001).

16 souches de *Salmonella spp* et 12 souches de *Listeria monocytogenes* ont été isolées à partir des produits laitiers, viandes et produits carnés, ces bactéries sont à l'origine de toxi infections alimentaires graves pouvant être mortelle.

II-Sérotypage des souches de Salmonelles

16 souches de *Salmonella spp* ont été isolées à partir de 233 échantillons d'aliments analysés durant la période de cinq mois à l'unité hygiène alimentaire au LRDEHM.

Après une identification biochimique des souches de *Salmonella spp* par des galeries classiques (kligler, urée indole, ONPG) et des galeries Api, une identification sérologique de ces souches a été réalisé au département de microbiologie alimentaire et d'environnement de l'Institut Pasteur du Maroc à Casa dont l'objectif est la détermination des sérotypes de ces Salmonelles.

Les résultats du sérotypage des souches de Salmonelles isolées sont résumés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Résultats de sérotypage des souches de *Salmonella spp*

Origine	Sérotype	Formule antigénique
Viande hachée crue 1	<i>S.mentson</i>	B:O7:g+, m-/1,6
Viande hachée crue 2	<i>S.westhampton</i>	A:O, 3, 10,15:gm+,g+,m-/s,t
Viande hachée crue 3	<i>S.kentucky</i>	O8, i, Z6
Viande hachée crue 4	<i>S.enteritidis</i>	A:O9:m
Viande hachée crue 5	<i>S.kentucky</i>	O8, i, Z6
Viande hachée crue de dinde 6	<i>S.kentucky</i>	O8, i, Z6
Viande hachée crue de dinde 7	ND*	B:O8: Z 4+
Lait cru 1		A: O3, 10, 15: HMB+: e GE1 H1:e H2 ND
Lait cru 2		A: O3, 10, 15: HMB+: e GE1 H1:e H2 ND
Lait cru 3		A:O3,10,15:HMB+:e GE1 H1:e H2 ND
Lait cru 4		A: O3, 10, 15: HMB+:S+ GE1 H1:S H2: ND
Lait cru 5	<i>S.altona</i>	B:O8:R Z6
Lait cru 6		A: O3, 10, 15, HMB+: e GE1 H1:e H2: ND
Lait crue 7	<i>S.kentucky</i>	B:O8:i
Raib traditionnel 1	<i>S.rissen</i>	B:O7:HMB+:g+m-
Raib traditionnel 2	<i>S.kentucky</i>	B:O8:HMA+ : i +

*Non Déterminé par manque de quelques anti-sérums

D'après le tableau 15, nous remarquons que le sérotype prédominant est celui de *S.kentucky* qui a été isolée de la viande hachée, du lait cru et aussi de Raib traditionnel.

Les sérotypes *S. menston*, *S. westhampton* et *S. enteritidis* ont été trouvés dans les viandes hachées crues et les sérotypes *S. altona*, et *S. rissen* ont été identifiés dans le lait cru et raib traditionnel. Ces résultats reflètent la mauvaise qualité hygiénique des matières premières et/ou des produits finis à base de lait et de la viande hachée crue, la présence des salmonelles témoigne du risque de TIAC.

Au Maroc à Casablanca Karraouan et al, 2010 ont mené une étude sur 192 échantillons de viande hachée crue de dinde et sur les sérotypes circulant et la prévalence des gènes d'invasion et de virulence. En effet, sur les 192 échantillons examinés, *Salmonella spp* a été isolée dans 39 (31%) des échantillons. Sur les 39 souches de *Salmonella* isolées, 15 sérotypes différents ont été identifiés, parmi lesquels *S. kentucky* (20,5 %) était le plus fréquent, suivi par *S. Corvallis* (15,3%), *S. muenster* (12,8%), *S. Newport* (12,8%), *S. typhimurium* (5,1%) et 1 % pour les autres sérovars .

Par contre en Australie, dans une étude étalée sur 262 échantillons de viande de dinde, 0,4 % (1/262) est positif pour *Salmonella* sérovar Heidelberg (Sigrid M et al, 2004).

Dans le cadre de la surveillance contre la contamination des produits carnés par les salmonelles dans les pays membres de l'Union Européen (2004), beaucoup d'études ont été réalisées pour la recherche de *Salmonella* dans la viande bovine. La prévalence était variable en fonction des pays : 0,8% en Grèce (n=516), 2 % en Irlande (n=2176), 3% en Espagne (n=233), 3,86 % en Hongrie (n=1558) et 0,3% en Italie (n=153) (EFSA, 2006).

III- Etude de la sensibilité des souches pathogènes isolées des denrées alimentaires aux antibiotiques

1-Etude de la sensibilité des souches de *Salmonella spp* aux antibiotiques



Photo n° 2 : Diamètres d'inhibition des souches de *Salmonella spp* vis-à-vis des antibiotiques

Tableau 16: Sensibilité de *Salmonella spp* aux antibiotiques

Souche \ ATB	IPM	CT	TE	SXT	NA	AMP	GN	CTX	CIP	C
1	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
2	S	S	I	S	S	S	R	S	S	S
3 <i>S.kentucky</i>	S	S	R	S	R	R	R	S	R	S
4 <i>S.menston</i>	S	S	S	I	S	S	R	S	S	S

5 <i>S.menston</i>	S	S	I	S	S	S	R	S	S	S
6 <i>S.kentucky</i>	S	R	R	S	R	R	R	S	R	S
7	S	R	I	S	S	S	R	S	S	S
8	S	R	I	S	I	S	R	S	R	S
9 <i>S.altona</i>	S	R	S	S	I	S	R	S	S	S
10 <i>S.entertidis</i>	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S
11 <i>S.rissen</i>	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
12	S	R	I	S	I	R	R	S	S	S
13 <i>S.kentucky</i>	S	S	R	S	R	S	R	S	R	S
14 <i>S.kentucky</i>	S	S	S	S	R	S	R	S	R	S
15	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
16 <i>S.kentucky</i>	S	R	R	S	R	S	R	S	R	S

Le test de sensibilité aux antibiotiques montre que toutes les souches de *Salmonella spp* sont sensibles à l'Imipénème (IPM), au Chloramphénicol (C), Cefotaxime (CTX), au Triméthoprime + Sulfaméthoxazol (SXT) et sont résistantes au Gentamycine (GN).

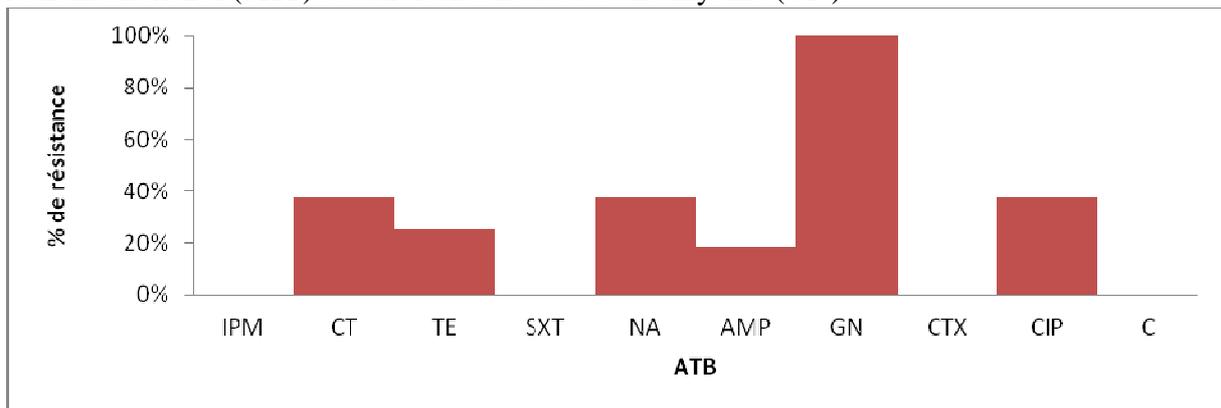


Figure 30 : Pourcentage de résistance de salmonella spp vis-à-vis des antibiotiques utilisés

Les souches de salmonelles sont naturellement sensibles à toutes les β lactamines (AMP, IPM), mais dans notre étude 3 souches de salmonelles ont été trouvées résistantes à l'antibiotique AMP avec un pourcentage de 18% dont deux de sérotype *S.kentucky*. Nous pouvons déduire que ces souches ont acquis une résistance vis-à-vis de l'antibiotique d'Ampicilline (AMP).

Du même les Salmonelles sont naturellement sensibles aux quinolones (acide nalidixique NA) et fluoroquinolones (Ciprofloxacine CIP), mais d'après les résultats que nous avons trouvés 6 souches ont été identifiées résistantes au NA (37%) dont 5 de sérotype *S.kentucky* et une de sérotype *S.entertidis*.

6 souches de salmonella ont été trouvées également résistantes au CIP (soit 37%) dont 5 de sérotype de *S.kentucky*.

D'après ces résultats nous remarquons aussi que les souches de *Salmonella kentucky* présentent une résistance vis-à-vis des quinolones et fluor quinolones.

16 souches de salmonelles sont résistantes au GN (soit 100%), nous pouvons avancer que ces souches ont acquis une résistance puisque les salmonelles sont naturellement sensibles aux aminosides auxquelles appartient l'antibiotique GN.

L'étude de sensibilité menée par le CNR-Salm en 2002 sur un échantillon de 1 140 souches appartenant aux 15 principaux sérotypes n'avait mis en évidence que quatre souches résistantes (0,35 %). Il s'agissait d'un Typhimurium producteur de la β -lactamase à spectre étendu (BLSE) TEM-

52(Weill F.X., 2004) et de trois souches (une Newport et deux Agona) productrices de la céphalosporinase plasmidique CMY-2.

2) Etude de la sensibilité des souches de *Listeria monocytogenes* aux antibiotiques

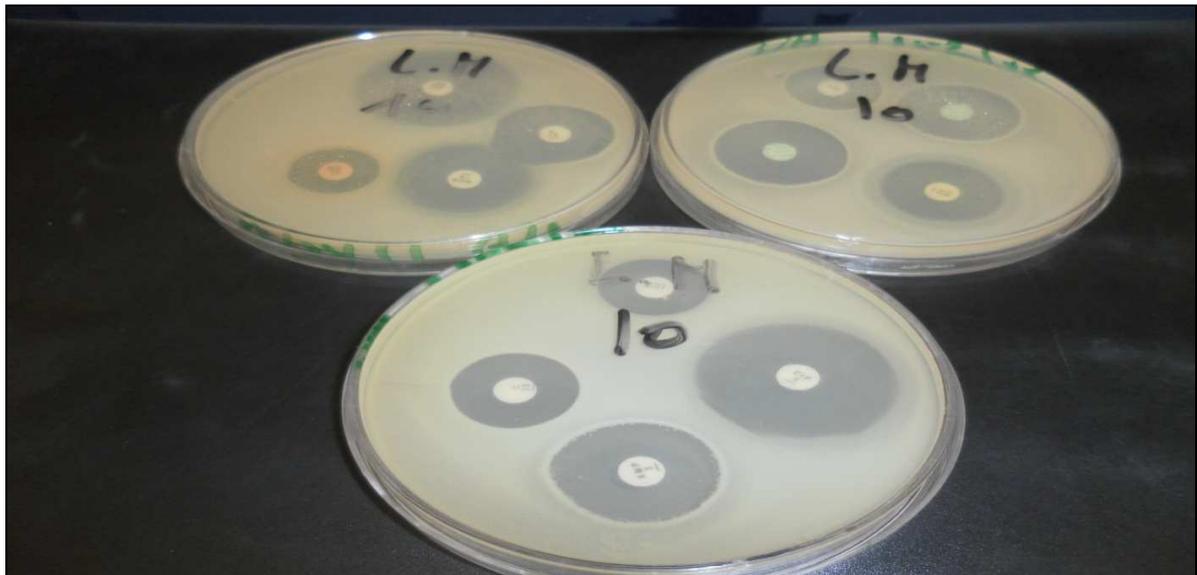


Photo n° 3 : Diamètres d'inhibition de *Listeria monocytogenes* vis à vis des antibiotiques

Tableau 17 : Sensibilité de *Listeria monocytogenes* aux antibiotiques

ATB \ L.m	3	4	5	6	7	10	11	12	14	16	17	18	19	21	24	27	29
Rifampicine (RA) 30 µg	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Pénicilline G (P) 10 UI	R	R	R	I	R	I	I	I	R	R	R	R	I	R	R	R	R
Gentamycine (GN) 10 UI	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Amoxicilline (AMX) 25 µg	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	R	I	S	R	R	I	R
Chloramphéni col (C) 30 µg	I	R	S	R	I	I	I	I	I	S	I	I	I	S	I	I	I

Ciprofloxacine (CIP) 5 µg	R	R	S	S	R	S	R	S	R	S	I	I	S	S	S	I	S
Erythromycine (E) 15 UI	I	R		I	R	I	I	I	I	I	I	S	I	S	I	I	I
Tétracycline(T E) 30 UI	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Vancomycine(VA) 30 µg	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
Ampicilline 10 µg (AMP)	I	S	S	I	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Oxaciline	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Norfloxacine 5 µg (NOR)	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S

S : sensible

I : intermédiaire

R : résistant

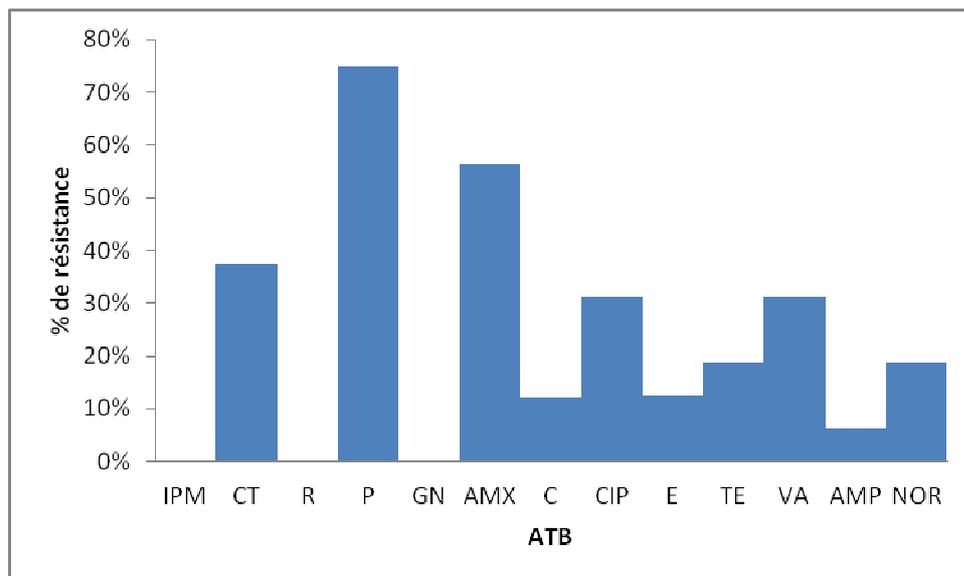


Figure 31 : Pourcentage de résistance de *Listeria monocytogenes* vis-à-vis des antibiotiques utilisés

Listeria monocytogenes est naturellement sensible à l'Amoxicilline et au Rifampicine dont l'activité est bactériostatique.

Mais d'après nos résultats nous remarquons que dix souches *Listeria monocytogenes* ne sont pas sensibles à l'Amoxicilline, elles ont donc acquis une résistance (soit 62,5%) vis-à-vis de cet antibiotique alors qu'elles se sont montrées sensibles à la Rifampicine.

La souche de *Listeria monocytogenes* est naturellement résistante à l'oxacilline, c'est ce que nous avons trouvé également.



Conclusion

Notre étude s'est fixé comme principaux objectifs, le contrôle de la qualité hygiénique des aliments de la ville de Fès, l'identification biochimique de *Salmonella* et de *Listeria monocytogenes*, l'identification sérologique des salmonelles. Ainsi que l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de salmonelles et de *Listeria monocytogenes* isolées à partir des denrées alimentaires.

Durant cette étude prospective, 233 échantillons d'aliments ont subi des analyses microbiologiques. Les résultats obtenus ont révélé un pourcentage de non-conformité de 46% pour la classe des laits et dérivés, suivie par 21% pour les viandes et les produits carnés, 11% pour les plats cuisinés, 9% pour les pâtisseries et crèmes pâtisseries, 8% pour la classe des boissons et limonades et 5% pour la classe des végétaux et crudités. Cette non-conformité est due principalement aux germes totaux, aux coliformes totaux et fécaux, aux Staphylocoques, aux levures et moisissures, aux ASR, aux Salmonelles et *Listeria*.

En effet, *S.aureus* pathogènes ont été trouvés dans la viande hachée et les boissons et limonades, 12 souches de *Listeria monocytogenes* ont été identifiées à partir des viandes, produits carnés et produits laitiers et 16 souches de *salmonelles spp.* pathogènes ont été également isolées du lait et produits laitiers et viandes hachées. Le sérotypage de ces souches de salmonelles a permis d'identifier 6 sérotypes différents tels que *S. menston*, *S. westhampton*, *S. enteritidis*, *S. altona*, *S. rissen* et *S. kentucky* isolés à partir des produits carnés et des produits laitiers.

Les résultats de l'étude de la sensibilité des salmonelles aux antibiotiques, ont mis en évidence la résistance de la souche *Salmonella kentucky* aux quinolones et fluoroquinolones et la sensibilité vis-à-vis de l'Imipénème (IPM), Chloramphénicol (C), Cefotaxime (CTX), Triméthoprime + Sulfaméthoxazol (SXT) de toutes les souches.

Les résultats de l'étude de la sensibilité de *Listeria monocytogenes* aux antibiotiques, ont montré que ces souches ne sont pas toujours sensibles à l'Oxaïcilline, mais sont sensibles à la rifampicine.



Recommandations et perspectives

La contamination des denrées alimentaires par des germes pathogènes telle que les *Staphylococcus aureus*, les Salmonelles et la *Listeria monocytogenes* pourrait engendrer pour les personnes surtout immunodéprimés des intoxications mortelles et des risques sanitaires graves. Cette situation impose et nécessite d'utiliser tous les moyens nécessaires pour combattre la contamination par ce type de bactéries telles que :

- ✚ Maitriser l'hygiène de la chaîne alimentaire depuis la matière première jusqu'aux produits finis et durant toutes les étapes de sa transformation.
- ✚ Exiger une carte sanitaire pour le personnel responsable de la restauration collective afin de minimiser les risques de contamination de ces aliments par les manipulateurs.
- ✚ Séparer les secteurs propres des secteurs souillés pour limiter la contamination croisée.
- ✚ Sensibiliser, éduquer et informer le personnels responsables de la restauration collective sur les bonnes pratiques d'hygiène.
- ✚ Désinfecter régulièrement les mains et l'environnement du travail (locaux, surfaces, matériels, etc.) pour éviter tout développement de microbes, d'insectes ou de rongeurs.
- ✚ Faire des analyses microbiologiques de contrôle et de surveillance tout au long de la chaîne alimentaire.
- ✚ Eviter une antibiothérapie abusive pour l'Homme et/ou pour les animaux afin de limiter la résistance des bactéries pathogènes aux antibiotiques.

En perspective, il serait intéressant de traiter :

- Identification moléculaire des souches de Salmonelles et de *Listeria monocytogenes*.
- Identification moléculaire des souches d'*E.coli* pathogène.
- Étude de la sensibilité aux antibiotiques d'*E.coli*.



Références Bibliographiques

Archibald F., 2000. The presence of coliform bacteria in candian pulp and paper mill water systems cause dor concern? Water Qual Res J.Canada, 35p.

Benkaddour, 2002, Situation épidémiologique des toxi-infections alimentaires collectives au Maroc, 1992-2001. Séminaire national sur l'application du système HACCP dans le domaine de l'hygiène alimentaire. Ministère de la santé. Rabat.

Berche P., 1999. Physiopathologie et diagnostic bactériologique des infections materno-infantiles à listeria monocytogène infections néonatales II VoI2 N°1 p33-39.

jjjj. Berrada S., 2006. Examen cyto bactériologique des urines : Techniques et Résultats. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Pp : 29-39.

kkkk.

Bornert G., Le poulet sans salmonelles : Mythe ou réalité ?. Revue Méd Vét 151(12),p 1083-1094.

Bouix et Leveau, 1980. Les levures in BOURGEOIS C. M., LEVEAU J. Y., et al, Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Volume 3 : Le contrôle microbiologique, Collection Sciences et techniques agro-alimentaires, 331 p.

Brouard C. et al : 2006. Epidémie de salmonellose à salmonella enterica sérotype Agona liée à la consommation de poudre de lait infantile, France. Janvier 2005. BEH n°33/2006 :248-250.

Cardinal, P., 2003. Lignes directrices pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire, Comité provincial sur l'uniformisation et l'interprétation des critères microbiologiques des aliments, Québec (Canada), version électronique, 44 p.

Dumas J., 1958. Tribut des Salmonella. Bactériologie Médicale. Flammarion .p399-433.

Edberg, Sscew. Rice, RJKarlin et MJ Allen (2000). Escherichia coli: the best biological drinking w

Dumas J., 1958. Tribut des Salmonella. Bactériologie Médicale. Flammarion .p399-433.

EFSA (2006) Trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistance in the european union in 2004 ; journal EFSA (European food safty Authority), fevrier 2006,310,23-41 ; 128-132 ; 201-203 ; 205 pour E coli.

EFSA. (2007): The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2006. The EFSA journal. 130, 24-31. 151-155.



- Gledel J. Corbion B., 1991.** Le genre salmonella dans le contrôle microbiologique 2^{ème} édition .p480ater indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88: 106S-116S.
- Grimont P., Weil F.X, 2007.** Rapport d'activité .2006.Centre nationale de référence des Salmonella Institut Pasteur .Paris.2007. p1-51.
- Haeghebaert S. et Al ., 2002 .** Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001. BEH n°50/2002 . p249-252.
- Humbert. F., Sautra ., L. Federighi . M., Jouve J.L, 1998.** Manuel de Bactériologie alimentaire , p27-52.
- Korsak, N., Clinquart, A., Daube, G., 2004,** *Salmonella spp* dans les denrées alimentaires d'origine animale: un réel problème de santé publique? Ann.Med.Vet. 148, 174-193.
- Lebres el Hadj Ahmed., 2006.**étude de prévalence et analyse du risque de *listeria monocytogenes* dans les laits crus dans la région centre. Thèse doctorale en sciences vétérinaires option : microbiologie .Alger.
- LE Minor et Popoff.** Formules antigéniques des sérovars de salmonella 7^{ème} révision institut Pasteur, Paris, France 1997.
- LE Minor L. et Popoff M.Y., 1987.** Request for an opinion. Désignation of *Salmonella enterica* sp.nov.nom. rev ., as the type and only species of the genus salmonella .Int. J. Syst . Bacteriol. P465-468.
- Mohamed Belomaria, Ahmed Omar Touhami Ahami, Youssef Aboussaleh Bachir Elbouhali, Yahya Cherrah, Abdelmajid Soulaymani, 2006.** Origine environnementale des intoxications alimentaires collectives au Maroc: Cas de la région du Gharb Chrarda Bni Hssen.
- Monica, 2000 :** Aperçu sur le Staphylocoques sont de germes du genre *Staphylococcus* appartenant à la famille des micrococcaeases, leurs diamètres varient entre 0,5 à 1,5µm.
- Moreau, C., 1980.** Les moisissures in BOURGEOIS, C., M., LEVEAU J., Y., et al, Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Volume 3 : Le contrôle microbiologique, Collection Sciences et techniques agro-alimentaires, 331p.
- Peacock SJ., de Silva I., Lowy FD., 2001.** What determines nasal carriage of *Staphylococcus aureus* ? *Trends Microbiol*, 9,605-610.



Poumeyrol M., Popoff M. Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments : *Clostridium perfringens*. Afssa, 2006.

III. Raffaello P., 1996. A modified Mac Conkey medium which allows the recognition of Enterobacteriaceae from other Gram-negative bacteria on primary culture plates. *Journal of Microbiological Methods*, 25, 271-278.

Reeves M.W., Evins G.M., Heiba A.A., Plikaytis B.D., Farmer J.J. Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other salmonella as shown by multilocus enzyme electrophoresis and proposal of *salmonella bongori* comb. J. Clin. Microbiol. p31.

Shelobolina, E.S., Sullivan, S.A., O'neill, K.R., Nevin, K.P., Lovley, D.R., Nov 2004. Isolation, characterization, and U (VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate- and U (VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. . Appl. Environ. Microbiol. 70., 2959-2965

Sigrid M., Paulsen P., Smulders J.S.M., Hilbert F., 2004. Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. *Int J Food Microbiol*, 97, 23-29.

mmmm. Tarr P I., 1995 .*Escherichia coli* O157:H7: clinical, diagnostic, and epidemiological aspects of human infection. *clin. Infect. Dis*, 20, 1-8.

Varnam, A.H., Evans, M.G., 1991, Foodborne Pathogens. Wolfe Publishing Ltd.

Varnam, A.H., Evans, M.G. 1996. *Salmonella*, édition, n., ed. (London, Manson publishing), pp. 51-86.

Weill F.X., Demartin M., Fabre L., Grimont P.A.D., Extendedspectrum- beta lactamase (TEM-52)-producing strains of *Salmonella enterica* of various serotypes isolated in France, J. Clin. Microbiol. 42(2004) 3359-3362.

Weill F.X., Guesnier F., Guibert V., Timinouni M., Demartin M., Polomack L., Grimont P.A.D., Multidrug Resistance in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium from humans in France (1993 to 2003), J. Clin. Microbiol. 44 (2006) 700-708.

Yala D, Merad A, MohamedI S, Ouarkorich M.N, 2001. Classification et mode d'action des antibiotiques.