



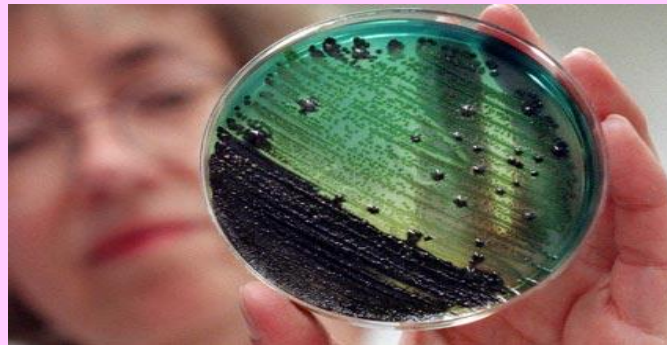
UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES –FES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA VIE



PROJET DE FIN D'ETUDES

Licence en Sciences & Techniques :
Sciences Biologiques appliquées et Santé

Evaluation de la qualité hygiénique des aliments desservis en milieu universitaire



Présenté par :

MAHMOUH KAWTAR

Encadré par :

Dr. ZBADI Latifa (LRDEHM, Fès)

Pr. FIKRI BENBRAHIM Kawtar (FST, Fès)

Soutenu devant le jury composé de :

Pr. EL GHACHTOULI Naima

Dr. ZBADI Latifa

Pr. FIKRI BENBRAHIM Kawtar

Année Universitaire : 2014-2015

Sommaire

Remerciements

Liste des figures et tableaux

Liste d'abréviations

Résumé

Présentation de l'unité de stage

Introduction générale.....1

Chapitre I : Revue bibliographique

I. Hygiène et sécurité alimentaires en collectivité.....3

II. Maladies causées par les aliments contaminés.....5

1. Maladies d'origine toxique (intoxication aliments).....5

2. Maladies d'origine infectieuse.....6

2.1. Définitions.....6

2.2. Evolution des TIAC.....6

2.3. Aliments incriminés dans les TIAC au Maroc.....8

III. Germes recherchés lors du contrôle de la qualité microbiologique des aliments.....8

1. Flore mésophile aérobique totale.....9

2. *Staphylococcus aureus*9

3. Anaérobies Sulfito-réducteurs.....10

4. *Enterobacteriaceae*.....11

5. Levures et moisissures.....13

Chapitre II : Matériels et méthodes

I. Lieu et période de stage.....15

II. Echantillonnage.....15

III. Analyses microbiologiques des denrées alimentaires.....15

1. Préparation de la suspension mère.....15

2. Dénombrement de la flore mésophile aérobique totale FMAT.....15

3. Dénombrement des coliformes totaux.....16

4. Dénombrement des coliformes fécaux.....17

5. Dénombrement et confirmation des *Staphylococcus aureus*.....17

6. Dénombrement des anaérobies sulfitoréducteurs.....18

7. Dénombrement des levures et moisissures.....18

8. Recherche des Salmonelles.....18

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Evaluation de la conformité des échantillons analysés.....	21
1. Répartition des aliments analysés au LRDEHM selon leurs catégories.....	21
2. Evaluation de la non-conformité globale des aliments.....	21
3. Pourcentage de la non-conformité par catégorie d'aliments.....	22
4. Variation de la non-conformité des aliments en fonction des germes suspects.....	22
Conclusion.....	24
Références bibliographiques.....	25
Annexe.....	29

Remerciements

*Au terme de ce travail, je remercie en premier **Dieu** le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.*

Je tiens à remercier tout particulièrement et à témoigner toute ma reconnaissance à Docteur ZBADI Latifa, responsable de l'Unité Hygiène au Laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu à la Direction Régionale de la Santé Fès Boulemane pour l'expérience enrichissante et pleine d'intérêt qu'elle m'a fait vivre durant ce mois et demi de stage; pour son précieux aide, sa confiance, ses conseils pertinents, sa bienveillance, ces orientations et les efforts qu'elle a consentis pour permettre la réalisation de ce travail. Sans oublier sa disponibilité tout au long du stage, sa sympathie et ses qualités humaines qui m'ont facilité l'intégration au laboratoire et l'accomplissement de ce rapport.

Parallèlement, toute ma gratitude et reconnaissance à mon honorable encadrante interne de la faculté des Sciences et Techniques de Fès, Professeur Fikri Benbrahim Kawtar pour son orientation, ses conseils avisés et le temps qu'elle m'a accordé pour mon encadrement. Mes vifs remerciements pour son soutien et son encouragement, sa clairvoyance et ses compétences professionnelles qui m'ont été d'une aide inestimable à l'acheminement de ce travail.

Qu'elles puissent trouver dans ce travail l'expression de mon profond respect, ma sincère gratitude et mes plus hautes considérations.

Mes sincères remerciements vont également à Professeur GHACHTOULI Naïma qui m'a fait l'honneur en siégeant dans ce jury. Ses jugements seront d'une grande valeur dans l'appréciation de ce travail.

Je remercie ensuite Mr CHADLI Abd El Aziz, responsable du bureau provincial d'hygiène du milieu à la Délégation de la Santé à Fès pour toutes ses efforts incessants à nous prodiguer les prélèvements d'aliments nécessaires pour la réalisation de cette étude.

Un très grand merci à l'ensemble du personnel du Laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu de Fès pour leurs aides, leurs conseils et pour leurs complicités.

Ainsi, je tiens à exprimer ma gratitude à la direction et à mes professeurs à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès.

Enfin mes remerciements les plus chaleureux vont à toute ma famille et mes amies pour leur soutien et à mes collègues au LRDEHM pour leurs encouragements et pour leur ambiance agréable tout au long de ce stage.

Liste des figures et tableaux

Figure 1 : Les composantes de la sécurité alimentaire

Figure 2 : Gélose PCA après incubation

Figure 3 : Milieu VRBL après incubation

Figure 4 : Formation de colonies de *S. aureus* sur Gélose BP après incubation

Figure 5 : Pourcentage des aliments analysés au LRDEHM selon leurs catégories

Figure 6 : Effectif de contamination des aliments par les micro-organismes

Tableau 1 : Résumé des méthodes d'analyse bactériologique utilisées

Tableau 2 : Pourcentage de la non-conformité globale

Tableau 3 : Pourcentage de la non-conformité par catégorie d'aliments

Tableau 4 : Non-conformité des échantillons alimentaires par rapport aux germes suspects

Liste d'abréviations

ASR : Anaérobies sulfito-réducteurs

BP : Baird Parker

CAC : Food and Agriculture Organization

CAPM : Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc

CDC: Centers for Disease Control and prevention

CF : Coliformes Fécaux

CT : Coliformes Totaux

EPT : Eau Peptonée Tamponnée

FAO : Food and Agriculture Organisation

FMAT : Flore mésophile aérobie totale

HACCP : Hasard Analysis Critical Control Point (Analyse des dangers et points critiques pour leur maîtrise).

Invs : Institut de veille sanitaire

Ind : Indole

LRDEHM : Laboratoire Régional De Diagnostic Epidémiologique et Hygiène du Milieu.

MAO : Maladies d'origine alimentaire

NM : Norme Marocaine

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCA : Plate Count Agar

Salmonella spp : *Salmonella* sans propriété

SM : Suspension mère

SPS : Sulfadiazine-polymyxine- sulfite

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

TIAC : Toxi-infection alimentaire collective

UFC : Unité formant colonies

VP : Voges-Proskauer

VRBL : Violet Red Bile Agar (Milieu lactosé bilié au cristal violet et au rouge neutre)

ONPG: Orthonitrophényl -D-Galactopyranoside

Résumé

Dans la restauration universitaire en particulier, l'application des règles d'hygiène reste un problème très délicat. En effet, les grandes quantités de denrées préparées quotidiennement font que les règles d'hygiène sont souvent négligées.

La présente étude réalisée au laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu de Fès (LRDEHM) a permis d'analyser la qualité bactériologique des denrées alimentaires dans les cantines universitaires, ainsi que d'identifier les germes en causes de toxi-infections alimentaires collectives (flore mésophile aérobie totale, coliformes totaux et fécaux, anaérobies sulfitoréducteurs, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella*).

Les résultats ont été interprétés selon les normes microbiologiques marocaines en vigueur.

Sur 15 échantillons prélevés de différents sites de restauration universitaires, les aliments les plus analysés ont été : les plats cuisinés à base de végétaux, les végétaux et crudités, les viandes et produits carnés, les sauces d'assaisonnement et les pâtisseries.

Les résultats des analyses bactériologiques effectuées ont montré un taux de non-conformité élevé pour les plats cuisinés à base de végétaux (50%) et moyennement considérable à nul pour les autres aliments. Les germes mis en évidence sont les coliformes fécaux (75%) et les coliformes totaux (25%).

Présentation du lieu du stage

Le laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu créé en 1977 est rattaché au SIAAP et à la Direction Régionale de la Santé et implanté à l'hôpital Al Ghassani. Actuellement, il existe 42 LDEHM, le laboratoire de Fès fait partie des 11 laboratoires régionaux qui ont vu le jour à partir des années 90.

Le laboratoire prend en charge des problèmes d'hygiène et d'épidémiologie au Maroc et permet la prévention et la lutte contre les maladies transmissibles et infectieuses. Ainsi, il constitue un support technique aux différents programmes sanitaires du Ministère de la Santé tels que le paludisme, la bilharziose, les leishmanioses...

Le laboratoire est composé de quatre unités qui sont :

- Unité d'hygiène : d'analyse microbiologique des eaux et des aliments, ainsi l'analyse microbiologique de l'environnement hospitalier.
- Unité des maladies parasitaires: de microscopie du paludisme, de leishmaniose cutanée et de bilharziose, ainsi du diagnostic immunologique du paludisme.
- Unité d'entomologie : de l'identification de moustique et le suivi de la sensibilité OMS des insectes aux pesticides.
- Unité de toxicologie: des analyses physico-chimiques des eaux et toxicologie des aliments (recherches aflatoxines par CCM).

Introduction générale

Les maladies d'origine alimentaire sont aujourd'hui parmi les problèmes les plus communs et permanents (Tomohide, 2010). Ces épidémies affectent non seulement la santé et le bien-être de la population, mais comportent des répercussions économiques pour les individus, les familles, les communautés, les entreprises et les pays. Elles imposent un lourd fardeau au système de santé et réduisent notablement la productivité économique (FAO et OMS, 2003).

Elles peuvent se manifester sous forme d'épidémies difficiles à contrôler et figurer au rang des maladies émergentes. Les actuelles endémies et flambées épidémiques d'origine alimentaire sont un exemple de l'évolution des technologies. On peut citer les épidémies de diarrhées hémorragiques dues au colibacille bovin 0157:H7, les listérioses et les salmonelloses qui proviennent toutes d'un réservoir animal (Appetite, 1999).

Le contrôle des infections alimentaires reste un objectif prioritaire en termes de sécurité alimentaire. Pour cela, des stratégies sont élaborées pour assurer la sécurité sanitaire des aliments, et ce, par la maîtrise de l'hygiène au cours de la chaîne de production (UMVF, 2010).

Cependant, malgré la mise en application de ces stratégies et de nouvelles mesures d'hygiène qui tendent à combattre leur origine, notre mode de vie multiplie les facteurs qui provoquent ou favorisent l'expansion de tels accidents (Bouza, 2009).

Dans la restauration collective universitaire en particulier, les grandes quantités de denrées préparées quotidiennement font que les règles élémentaires d'hygiène sont souvent négligées. Ceci est particulièrement vrai dans nos pays à climat chaud et où la main d'œuvre a souvent un faible niveau de formation (Alassane, 1998).

La contamination microbiologique des aliments due à des matières premières contaminées, des températures de cuisson insuffisantes, une conservation inadaptée, un équipement contaminé et un manque d'hygiène du personnel manipulateurs de ces aliments peuvent être les causes des toxi-infections alimentaires collectives, faisant ainsi apparaître leur importance tant pour la santé publique que du point de vue social (Custovic and Ibrahimagic, 2005).

Les manipulateurs d'aliments peuvent également être porteurs asymptomatiques des micro-organismes responsables d'intoxication alimentaire. Cela se traduit généralement par des mains mal lavées, des techniques de préparation de nourriture impropre, ainsi qu'une mauvaise procédure de nettoyage des surfaces de préparation des aliments tels que les tables et les planches à découper. Les bactéries sont signalées à survivre sur les planches à découper pendant plus de trois heures, surtout quand ces planches ne sont pas bien nettoyées (Zhao et al., 1998 ; Salo et al., 2000) et leur présence peut également conduire au développement de bio films.

Il est généralement admis que bon niveau général de connaissances de la sécurité alimentaire parmi les manipulateurs d'aliments et l'application efficace de ces connaissances dans les pratiques de manipulation des aliments sont essentiels pour assurer la production régulière d'aliments sains dans les opérations de restauration (Bolton et al., 2008).

C'est dans ce cadre précis que se situe ce travail qui a pour objectifs de déterminer l'évolution du taux de contamination des plats alimentaires servis aux étudiants dans différents sites universitaires, ainsi que des différents germes mis en cause (FMAT, Coliformes totaux et fécaux, ASR, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella*).

Ce travail est réparti en deux volets, dont le premier est consacré à une synthèse bibliographique relative aux toxi-infections alimentaires collectives, tandis que le second est réservé à la partie expérimentale qui englobe le matériel utilisé et les méthodes suivies pour les analyses microbiologiques des aliments, ainsi qu'une discussion des résultats obtenus.

Revue
Bibliographique

I. Hygiène et sécurité alimentaires en collectivité

L'application des règles d'hygiène tient une place essentielle dans la prévention des maladies transmissibles en collectivité pour lutter contre les sources de contamination et réduire la transmission.

Les mesures d'hygiène portent sur l'hygiène des mains, l'hygiène alimentaire, l'hygiène des locaux, du matériel, du linge et l'hygiène individuelle. Une application rigoureuse de ces mesures permet de prévenir la propagation des agents infectieux (Billette de Villemeur et al., 2012). D'où la nécessité de faire un rappel régulier des bonnes pratiques d'hygiène.

Hygiène alimentaire : c'est l'ensemble des conditions et des mesures nécessaires pour maîtriser les dangers biologiques, chimiques et physiques et garantir la sécurité et la salubrité des aliments à toutes les étapes de la chaîne alimentaire ; de la réception à la distribution (CHU Vaudois, 2010). Ceci englobe plusieurs domaines tous aussi importants les uns que les autres : l'hygiène du personnel, l'hygiène des locaux (nettoyage, désinfection, matériaux, agencement...), les conditions de stockage, de manipulation, de transport et les matières premières (Alli, 2004).

En matière d'hygiène alimentaire, Cinq catégories d'éléments sont identifiées comme ayant une influence sur la salubrité du produit fini, il s'agit des "**5 M**" :

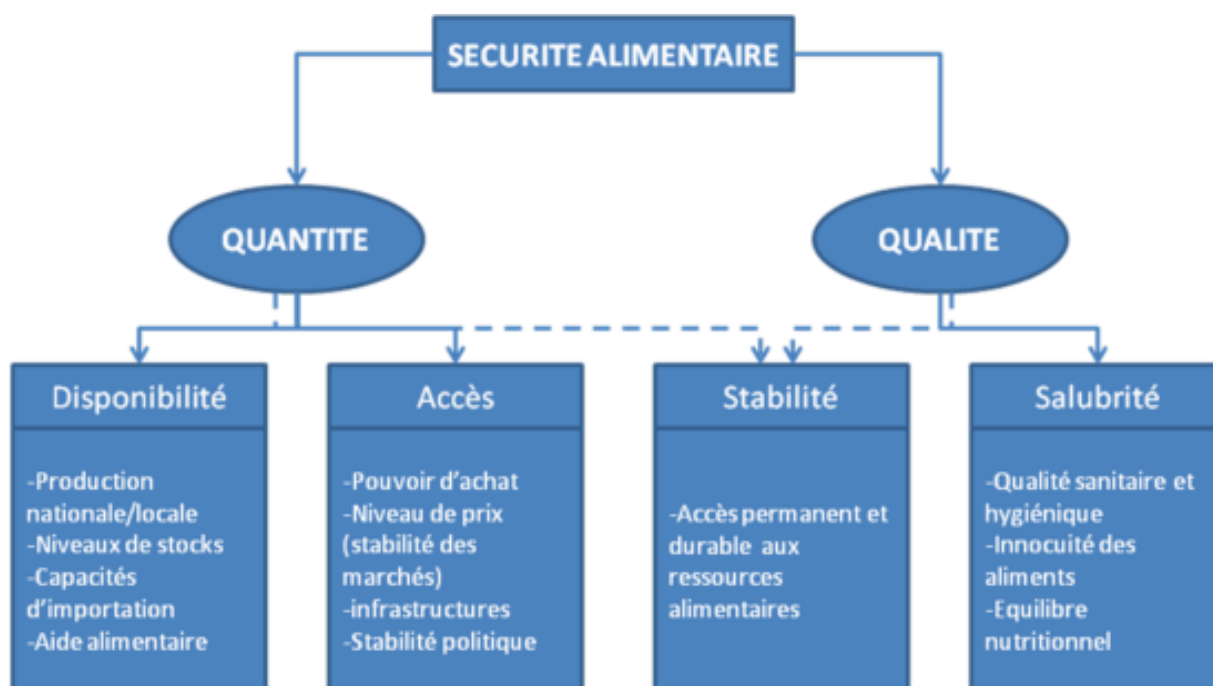
- Le **milieu**,
- Le **matériel**,
- La **main d'œuvre**,
- La **matière première**,
- Les **méthodes**.

Sécurité alimentaire : c'est une situation caractérisée par le fait que toute la population a, en tout temps, un accès matériel et socioéconomique garanti à des aliments sans danger et nutritifs en quantité suffisante pour couvrir ses besoins alimentaires, répondant à ses préférences alimentaires, et lui permettant de mener une vie active et d'être en bonne santé (FAO, 2015).

Elle fait pleinement droit à l'aspect multidimensionnel de la sécurité alimentaire qui se décline aussi bien quantitativement que qualitativement selon quatre aspects : la disponibilité alimentaire, l'accès à la nourriture, la stabilité de ces derniers et la salubrité (Momagri, 2015).

Le schéma ci-dessous illustre les différentes composantes de la sécurité alimentaire telle qu'elle est entendue aujourd'hui, ainsi que les variables qui l'affectent.

Figure 1 : les composantes de la sécurité alimentaire



HACCP : Le système d'Analyse des risques aux points critiques (HACCP) adopté par le Codex s'est imposé dans le monde entier comme l'outil le plus efficace pour assurer la sécurité sanitaire des aliments d'un bout à l'autre de la chaîne alimentaire, depuis la production primaire jusqu'à la consommation finale, en particulier lorsqu'il est associé aux programmes préalables requis (Cac, 2003).

La démarche HACCP repose sur des bases scientifiques et cohérentes pour définir les dangers spécifiques et indiquer les mesures à prendre en vue de les maîtriser et de garantir la salubrité de l'aliment. C'est un outil qui permet d'évaluer les dangers et de mettre en place des systèmes de maîtrise axés davantage sur la prévention que sur l'analyse du produit fini (Pip, 2011).

Selon le centre de sécurité alimentaire, (2006), le système HACCP repose sur sept principes qui sont :

Principe 1 : Procéder à une analyse des risques en identifiant et en évaluant le ou les dangers éventuels associés à la production alimentaire, à tous ses stades, depuis la culture ou l'élevage jusqu'à la consommation finale, en passant par le traitement, la transformation et la distribution. Evaluer la probabilité d'apparition du ou des dangers et identifier les mesures nécessaires à leur maîtrise.

Principe 2 : Déterminer les points critiques pour la maîtrise des dangers.

Principe 3 : Etablir la (les) limite(s) critique(s) à respecter pour s'assurer que le CCP est maîtrisé.

Principe 4 : Etablir un système de surveillance permettant de s'assurer de la maîtrise du CCP grâce à des tests ou à des observations programmées.

Principe 5 : Etablir les actions correctives à mettre en œuvre lorsque la surveillance révèle qu'un CCP donné n'est pas maîtrisé.

Principe 6 : Etablir des procédures pour la vérification, incluant des tests et des procédures complémentaires, afin de confirmer que le système HACCP fonctionne efficacement.

Principe 7 : Etablir un système documentaire concernant toutes les procédures et les enregistrements appropriés à ces principes et à leur application.

Marche en avant : Imbriqué dans le standard HACCP en restauration collective, le concept de « marche en avant » est une pratique d'hygiène alimentaire qui consiste à ne pas souiller les aliments frais destinés à la consommation. Elle régit donc le transit des denrées alimentaires depuis le début de l'acheminement en cuisine jusqu'à la fin de leur transformation, sans oublier leur conservation avant et après cette transformation (Erm project, 2015).

II. Maladies causées par les aliments contaminés

Une maladie d'origine alimentaire (MOA) communément appelée toxi-infection alimentaire (TIA) est définie comme étant une affection, en général de nature infectieuse ou toxique, provoquée par des agents qui pénètrent dans l'organisme par le biais des aliments ingérés. Le développement et l'augmentation du nombre de produits alimentaires commercialisés font que les maladies d'origine alimentaire (MOA) sont des pathologies de plus en plus fréquentes dans tous les pays (Aoued et al., 2010).

La définition internationale des maladies d'origine alimentaire (Bourlioux, 2000) permet de les classer en maladies d'origine infectieuse et maladies d'origine toxique (intoxication alimentaire).

1. Maladies d'origine toxique (intoxication alimentaire)

On parle d'intoxication alimentaire seulement pour les maladies d'origine alimentaire provoquées par l'ingestion de produits non comestibles (médicaments vétérinaires, métaux lourds, champignons vénéneux, produits chimiques) ou toxiques (Bourlioux, 2000).

2. Maladies d'origine infectieuse

2.1. Définitions

✓ **Une toxi-infection alimentaire (TIA)** est une infection causée par des bactéries, des virus ou des parasites, due à la consommation d'un aliment contaminé par des agents pathogènes qu'il s'agisse de bactéries, de virus, de parasites ou de prions (Bourlioux, 2000).

✓ **Une toxi-infection alimentaire collective (TIAC)** est définie par la survenance d'« au moins deux cas groupés, d'une symptomatologie similaire, en général digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire » (Delmas et al., 2010).

Elle est incluse parmi les maladies transmissibles à déclaration obligatoire. Elle répond à un nombre limité d'étiologies et représente une cause importante de mortalité dans les pays en voie de développement, de morbidité dans les pays industrialisés et responsable d'absentéisme au travail et à l'école (Cah. Nutr. Diét., 2001).

La surveillance, le contrôle et la prévention des TIAC nécessitent une collaboration étroite entre les médecins, les vétérinaires, les épidémiologistes et les professionnels de la restauration collective et du secteur agro-alimentaire. Ainsi, un traitement symptomatique s'impose dans tous les cas, qu'il soit associé ou non à un traitement anti-infectieux (UMVF, 2010).

2.2. Evolution des TIAC

✓ **La situation épidémiologique dans certains pays**

Les toxi-infections alimentaires collectives ont fait l'objet de nombreuses études, de suivis épidémiologiques et de recherche des causes (aliments incriminés) et des agents responsables (microorganismes et/ou leurs toxines) (Ziane, 2013).

Ces TIAC sont très fréquentes, y compris dans les pays à haut niveau de vie économique et sont en rapport avec la consommation d'aliments contaminés par certaines bactéries ou leurs toxines (UMVF, 2010).

En France, 1255 foyers de TIAC ont été déclarés en 2010, affectant 13 905 personnes, dont neuf sont décédées. Les agents responsables les plus fréquemment incriminés étaient l'entérotoxine staphylococcique (32% des foyers pour lesquels un agent a été identifié ou suspecté) et les salmonelles (25% des foyers). Aucun agent n'a pu être mis en évidence ni suspecté dans 40% des foyers déclarés. Le facteur contributif le plus fréquemment identifié en restauration collective est l'utilisation d'équipement mal entretenu ou inadéquat et le non respect des règles d'hygiène (Invs, 2011).

En 2011, 1153 foyers de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) ont été déclarés affectant 9674 personnes, dont 7 ont été décédées (Invs, 2011).

L'agent responsable le plus fréquemment incriminé ou suspecté était l'entérotoxine staphylococcique (33% des foyers), les salmonelles (17% des foyers), *Bacillus cereus* (17%) et *Clostridium perfringens* (11%) (Invs, 2011).

En 2013, 1346 foyers de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) ont été déclarés, affectant 10 602 personnes, dont 643 (6%) ont été hospitalisées et deux décédées.

Les trois agents pathogènes les plus fréquemment confirmés ou suspectés étaient *Staphylococcus aureus* (31%), *Bacillus cereus* (23%) et *Salmonella spp.* (11%). Aucun agent n'a pu être mis en évidence ni suspecté dans 19 % des foyers déclarés (Invs, 2013).

En Algérie, le nombre total de foyers déclarés durant l'année 2011 est supérieur à 82 foyers avec 2807 personnes touchées dont cinq décédées (Mouffok, 2011).

Aux États-Unis, selon les estimations du Centers for Disease Control and Prevention (CDC), l'alimentation est à l'origine de 48 millions de toxi-infections chez les américains tous les ans conduisant à 128 000 hospitalisations et 3000 décès. Le taux de toxi-infections alimentaires dues aux salmonelles aurait augmenté de 10% entre 2006 et 2010. Au cours de l'été 2011, une toxi-infection due à une contamination de melons cantaloups par *Listeria monocytogenes* avait été à l'origine de 30 décès et 146 hospitalisations dans 28 états. Cette infection serait la plus meurtrière aux USA depuis un siècle (Amgar, 2012).

✓ La situation épidémiologique au Maroc

Au cours de l'année 2011, le centre antipoison du Maroc CAPM a enregistré 178 épisodes de toxi-infections collectives faisant état de 1234 cas. La taille moyenne par épisode était de 7 personnes. Le foyer le plus important comportait 140 cas. La majorité des TIAC a été observée en été (34.2%) suivi du printemps (25.2%) puis de l'automne (21.5%) et enfin de l'hiver (19.1%). La tranche d'âge la plus touchée était celle de l'adulte (44%) suivie des enfants (41.7%) et les adolescents (10.5%) (Zerrou, 2012).

En 2013, le même centre a publié son rapport faisant état à une nette augmentation des cas d'intoxications au Maroc, soit un total de 11000 cas (H24info, 2014).

Selon une étude réalisée dans la région du Gharb Chrarda Bni Hssen (région occidentale du Maroc), ce sont les fruits et légumes ainsi que le lait et ses produits dérivés qui étaient les principales causes de toxi-infections collectives. En effet, cette région d'étude est située sur le bassin de Sebou et reconnu par la répercussion de sa pollution en amont sur l'agriculture en aval ce qui explique la prédominance d'une contamination d'origine hydrique chez les fruits et légumes (Belomaria et al., 2007).

✓ La situation épidémiologique à Fès

Durant la période allant du 1^{er} Janvier 2007 à Décembre 2011, le CAPM avait collecté 1508 cas d'intoxication dans la région de Fès-Boulemane. Le nombre annuel moyen de déclarations était de 301 cas. La fréquence d'apparition de cas avait connu une augmentation progressive jusqu'à l'année 2010, allant de 156 cas en 2007 pour atteindre son maximum en 2010 avec 837 cas (Bencheikh et al., 2013).

La répartition provinciale a montré que le taux de déclarations était plus élevé dans la province de Fès (57,6%) des cas, suivie par la province de Boulemane, avec (23,1%) des cas et la province de Séfrou, avec (17,8%) des cas puis finalement, par la province de Zouagha Moulay Yacoub avec (1,5%) des cas. Les intoxications étaient d'origine urbaine dans 81% des cas (Bencheikh et al., 2013).

Les interprétations sont fixées en fonction du risque et de la situation hors contrôle sur le plan des bonnes pratiques de fabrication. C'est pourquoi elles sont inférieures à la dose infectante, qui est de l'ordre de 105 UFC/g (Benkaddour, 2002).

2.3. Aliments incriminés dans les TIAC au Maroc

Les aliments incriminés dans les TIAC au Maroc en (2010-2011) ont été selon Barkia :

- ☞ Viandes et produits carnés (39,3%).
- ☞ Gâteaux et crèmes glacées (18,2%).
- ☞ Poissons et fruits de mer (14,7%).
- ☞ Lait et dérivés (7,4%).
- ☞ Œufs et ovo produits (2,5%).
- ☞ Escargots (0,5%).
- ☞ Plats cuisinés et sandwichs (0,2%).
- ☞ Autres (17,3%).

III. Germes recherchés lors du contrôle de la qualité microbiologique des aliments :

Le nombre d'agents pathogènes pouvant être responsables de maladies transmises par les aliments importés est considérable. Il s'agit surtout de bactéries capables de résister à d'importantes variations de température et de pH ou à l'action de certains antibiotiques, mais aussi de virus et de parasites (Buisson et al., 2009).

Parmi ces agents, on trouve :

1. Flore mésophile aérobie totale

Généralités

La flore aérobie mésophile (aussi appelée flore totale) représente l'ensemble des microorganismes se développant en présence d'oxygène à une température optimale de 30°C (multiplication active de 10°C à 45°C). Cette appellation peut donc regrouper aussi bien des microorganismes pathogènes que d'altération.

Maladie humaine

Une flore aérobie mésophile importante traduit en général :

- Une mauvaise qualité microbiologique générale :
- ◆ Contamination importante : pratiques ou manipulations peu hygiéniques, fabrication dans un environnement non satisfaisant,
- ◆ Une altération microbienne du produit fortement engagée,
 - Une rupture de la chaîne du froid : développement microbien du fait de conditions de stockage (température notamment) inadaptées (étant mésophile, cette flore ne doit pas se développer au cours de la commercialisation). Un nombre élevé de flore aérobie mésophile représente un risque de présence de germes pathogènes, à des niveaux pouvant être dangereux.

2. *Staphylococcus aureus*

Généralités

Staphylococcus aureus est une cocci à Gram positive, de 0,5 à 1µm de diamètre, ne sporule pas, immobile, aéro-anaérobie facultatif et possède une catalase et une coagulase.

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires présentes sur la peau, les muqueuses et la sphère rhinopharyngée chez les animaux à sang chaud (mammifères, oiseaux) et en particulier chez l'Homme. Ces bactéries sont également isolées de l'environnement naturel (sol, eau douce et eau de mer, poussière, air), de l'environnement domestique de l'Homme (cuisine, réfrigérateur), de l'environnement hospitalier et des ateliers de préparation alimentaire ainsi qu'à partir de denrées alimentaires (De Buyser et Hennekinne, 2009).

La durée d'incubation et la sévérité des symptômes dépendent de la quantité d'entérotoxines ingérées et de la sensibilité de chaque individu.

Maladie humaine

Les manifestations intestinales provoquées par les staphylocoques se présentent sous deux formes : les TIA et l'entérocolite aiguë.

Les toxi-infections alimentaires sont les plus fréquentes : il s'agit de troubles digestifs provoqués par l'ingestion d'aliments contenant l'entérotoxine préformée, d'incubation très courte (une heure à six heures après le repas) et évoluant sans fièvre.

L'entérocolite aiguë pseudomembraneuse, plus rare, survenant chez des sujets ayant reçu une antibiothérapie qui a sélectionné une souche intestinale de *S. aureus* résistante au traitement et sécrétrice d'entérotoxine (Decoster et al., 2008).

Staphylococcus aureus produit dans la nourriture une toxine qui provoque la plupart des symptômes. Ses facteurs de risque comprennent :

- ✓ Consommation de nourriture préparée par une personne ayant une infection dermique (ces infections contiennent couramment la bactérie *Staphylococcus aureus*).
- ✓ Consommation d'aliments conservés à température ambiante.
- ✓ Consommation d'aliments mal préparés.
- ✓ Consommation des mêmes aliments que quelqu'un qui a des symptômes.

3. Anaérobies Sulfito-réducteurs

Les anaérobies sulfito-réducteurs sont des microorganismes qui se multiplient, en absence d'air, au cœur des produits, leur résistance à la cuisson étant alors remarquable. Elles deviennent pathogènes quand elles pénètrent accidentellement dans l'organisme par voie cutanée ou intestinale et y produisent leur toxine qui va ensuite altérer les fonctions de défense de l'organisme. *Clostridium perfringens* est l'exemple typique de microorganismes anaérobies sulfito-réducteurs.

❖ *Clostridium Perfringens*

Généralités

C'est un germe sporulé, bacille à Gram positif, anaérobie strict, mobile et qui est présent dans la flore intestinale de l'homme. Il est tellement résistant à la chaleur sous la forme de spores qu'il peut se développer rapidement lorsque les aliments sont maintenus trop longtemps à température ambiante (Zuliani et Garry, 2004).

Maladie humaine

Les symptômes apparaissent généralement 10 à 12 heures, après l'ingestion du repas contaminé. Ils se traduisent surtout par de la diarrhée et de violents maux de ventre, parfois de nausées (Poumeryol et Popoff, 2006).

Les aliments à risque sont les viandes/produits carnés et volailles qui sont les plus vulnérables. Les préparations à forte teneur en amidon, comme haricots, notamment haricots en sauce, sont également à risque. Les matières premières sont faiblement contaminées.

La cuisson détruit la plupart des formes végétatives, mais pas ou peu les spores. L'ébullition favorise les conditions d'anaérobiose suffisante pour la croissance de *C. perfringens* (déga-zage) (Poumeyrol et Popoff, 2006).

4. Enterobacteriaceae

Les *Entérobactéries* sont des bacilles Gram négatif facultatifs, retrouvés partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles comprennent un nombre très élevé de genres et d'espèces. Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier (Elsevier, 2004).

4.1. Coliformes totaux

Généralités

Les coliformes totaux sont des entérobactéries qui incluent des espèces bactériennes qui vivent dans l'intestin des animaux homéothermes, mais aussi dans l'environnement en général (sols, végétation et eau). Ce sont des bactéries Gram négatif, en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives, possédant l'enzyme β -galactosidase qui permet de libérer un agent chromogène utilisé dans des milieux de culture servant à les identifier (CEAEQ, 2009).

Maladie humaine

Ces types de bactéries, en soi, ne sont généralement pas dangereux pour la santé. Toutefois, leur présence peut dissimuler celle de bactéries telles que des coliformes fécaux, des *Escherichia coli* ou des entérocoques (ASSSC, 2011).

4.2. Salmonella spp

Généralités

Bacille Gram négatif, aéro-anaérobie, appartenant à la famille des Enterobacteriaceae.

Le réservoir principal de *Salmonella* est le tractus gastro-intestinal des mammifères et des oiseaux. Les salmonelles présentes dans les matières fécales des animaux, peuvent contaminer les pâturages, les sols et l'eau.

Les salmonelles les plus couramment rencontrées dans les intoxications alimentaires sont dans l'ordre : *Salmonella enteritidis* et *Salmonella typhimurium*. Les salmonelles sont sensibles à la chaleur et leur présence résulte donc d'une contamination après cuisson (Varnam et Evans, 1996).

Maladie humaine : la salmonellose

La salmonellose est l'une des maladies d'origine alimentaire les plus courantes et les plus répandues. On estime à plusieurs dizaines de millions le nombre de cas recensés chez l'homme dans le monde chaque année, et la maladie entraîne plus de 100 000 décès par an.

Elle se caractérise habituellement par une apparition brutale de fièvre, des douleurs abdominales, de la diarrhée, des nausées et parfois des vomissements (Colin, 2009).

La transmission des infections à salmonelles se fait principalement par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. La consommation de viande et de poulet contaminés constitue la principale source d'infection pour l'humain.

4.3. Coliformes fécaux

Les coliformes fécaux ou "coliformes thermotolérants" renferme toutes les espèces bactériennes faisant partie de la famille des Enterobacteriaceae qui sont aérobies ou anaérobies facultatives, à Gram négatif, asporulées, en forme de bâtonnet et produisant des colonies bleues en moins de 24 heures à 44°C. L'espèce caractéristique et principale des coliformes fécaux est *Escherichia coli*, mais d'autres souches de coliformes, telles *Citrobacter spp*, *Enterobacter spp* et *Klebsiella spp*, peuvent aussi se reproduire dans un milieu lactosé à 44°C. Les coliformes fécaux sont des micro-organismes indicateurs d'une pollution d'origine fécale humaine ou animale. Ils sont généralement en nombre inférieur aux coliformes totaux et indiquent qu'il y a contamination récente ou constante.

❖ *Escherichia coli*

Généralités

E. coli est une bactérie intestinale des mammifères très commune chez l'homme. Découverte en 1885 par Théodore Escherichia, c'est un coliforme fécal généralement commensal, non pathogène. Plus de 95% des souches d'*E. coli* ne sont pas dangereuses et nous en avons besoin pour vivre.

Le sérotype 0175:H7 d'*E. coli* est une forme mutante qui a acquis une toxine extrêmement puissante d'une autre bactérie : *Shigella dysenteriae*.

Dans la plupart des cas, la transmission s'effectue par ingestion d'aliments souillés. Les autres modes de transmission sont notamment des mains souillées portées à la bouche ou une eau de baignade contaminée par les égouts (ex : lac, rivière) (Hordé, 2014).

Maladie humaine

E. coli possède cinq pathovars responsables de diarrhées qui sont (**Nataro et Kaper, 1998**):

✓ Les *E. coli* entérotoxigènes (ECET) : Elles sont une cause majeure de diarrhées infantiles dans les pays en voie de développement et sont la principale cause de diarrhées dites du « voyageur ». Les ECET colonisent la surface de l'intestin grêle et produisent des entérotoxines qui sont à l'origine de diarrhées aqueuses, cholériformes pour les formes les plus sévères.

✓ Les *E. coli* entéro-invasifs (ECEI) : sont responsables de diarrhées aqueuses qui, dans de rares cas, vont évoluer vers une dysenterie. La présence de leucocytes dans les selles est le témoignage du processus invasif.

✓ Les *E. coli* entéro-hémorragiques (ECEH) : sont responsables de diarrhées sanglantes. Elles peuvent provoquer, en présence d'une vérotoxine, des complications telles que le syndrome hémolytique et urémique (SHU) et la colite hémorragique.

✓ Les *E. coli* entéro-pathogènes (ECEP) : sont impliquées dans des diarrhées aqueuses chez les nourrissons et le jeune enfant (< deux ans).

✓ Les *E. coli* entéro-agrégatifs (EA_ggEC) : sont des souches pathogènes associées à des diarrhées aqueuses pouvant évoluer vers des formes persistantes.

Les aliments à risque sont plus particulièrement le bœuf crû, ou insuffisamment cuit, dans le cas d'une viande contaminée par contact avec des matières fécales, les fruits et légumes frais lors du lavage avec de l'eau contaminée, les jus de fruits non pasteurisés, ainsi que le lait cru (Hordé, 2014).

5. Levures et moisissures

Généralités

Les levures et moisissures sont des agents importants de détérioration des aliments acides ou à faible activité d'eau. Les mycotoxines qu'ils excrètent et présentes dans les aliments inspirent des préoccupations croissantes. Ces microorganismes sont souvent isolés et dénombrés sur des milieux acidifiés (gélose glucosée à la pomme de terre, gélose à l'extrait de malt). Le pH

bas de ces milieux n'inhibe pas toutes les bactéries et il peut même inhiber certaines levures ou moisissures.

Certains milieux contiennent des antibiotiques ou autres agents antibactériens (gélose glucosée à l'oxytétracycline et extrait de levure (OGA) et gélose à la chlortétracycline et au rose de bengale (RBC).

L'interprétation du comptage des levures dans les aliments est simple. Par contre la signification des dénombrements des moisissures est considérablement influencée par les traitements d'homogénéisation et la forme principale sous laquelle se présente la moisissure : développement mycélien ou au contraire sporulation vigoureuse (Cuq J.L., 2008).

Maladie humaine

Ils peuvent agir sur la santé de diverses façons; une forte concentration dans l'air peut déclencher des maladies des voies respiratoires. Les toxines des moisissures provenant des aliments sont une cause fréquente d'intoxications alimentaires.

Matériels et méthodes

I. Lieu et période de stage

Ce travail a été effectué, sur une période d'un mois et demi, au sein de l'unité d'hygiène du Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu (LRDEHM) de Fès qui est situé à l'hôpital Al Ghassani et attaché à la Direction Régionale de la Santé (DRS). L'unité est chargée de prévenir toutes les formes de toxi-infections et des épidémies liées aux eaux et aux aliments.

II. Echantillonnage

Les échantillons d'aliments ont été prélevés de différentes cuisines universitaires de Fès par des techniciens d'hygiène du milieu en respectant les techniques de prélèvement et ont été acheminés rapidement au laboratoire dans des glacières à 4°C afin d'éviter la prolifération bactérienne, puis analysés immédiatement ou à défaut après 6 heures du prélèvement.

Les données relatives aux échantillons ont été recueillies à partir du registre des analyses bactériologiques de l'aliment de l'année 2015. Elles concernaient : le service expéditeur, le code de l'échantillon, l'origine, l'agent préleveur, la nature de l'échantillon, le code de laboratoire, la date de réception.

La manipulation des échantillons a été réalisée avec des précautions strictes à savoir le port des gants et de la blouse.

III. Analyses microbiologiques

Les méthodes d'analyse des denrées alimentaires débutent par la préparation de la solution mère. Le tableau 1 résume les méthodes d'analyses utilisées ainsi que leur interprétation.

1. Préparation de la solution mère (SM)

25g d'aliments solides ou semi solides ont été homogénéisés dans 225ml d'eau peptonnée stérile dans un sachet Stomacher.

Pour les échantillons d'aliments liquides, 25ml ont été homogénéisés avec 225ml d'eau peptonnée (NM 08.0.100, 2001).

2. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale

En conditions aseptiques, 1ml de la SM (et des dilutions décimales) a été transféré dans des boîtes de pétrie stériles à l'aide d'une pipette stérile et 10 ml de PCA régénérée ont été ajoutés. L'inoculum a été soigneusement homogénéisé avec le milieu de culture, solidifié puis incubé à 30°C pendant 24h.

Les colonies blanchâtres qui ont poussées ont été comptés et les résultats du dénombrement ont été exprimés en UFC/ml ou en UFC/g (Figure 2), (NM 08.0.121, 2004).

Tableau 1 : Résumé des méthodes d'analyse bactériologique utilisées

Paramètres micro-biologiques	Volume d'inoculum	Milieu d'ensemencement	Conditions d'incubation	Norme et année
FMAT	1 ml	PCA	30±1°C/ 24h	NM 08.0.121, 2004
CT	1 ml	VRBL	30±1°C/ 24h	NM 08.0.124, 2004
CF	1 ml	VRBL	44±0,5°C/24h	NM 08.0.124, 2004
<i>S. aureus</i>	0,1 ml	Baird Parker	37±1°C/24h	NM 08.0.104, 2004
ASR	1 ml	SPS	37±1°C/24h	NM 08.0.125, 2004
Salmonelles	25g d'aliment + 225ml d'eau peptonée	Pré-enrichissement : Eau peptonée	37±1°C/24h	NM 08.0.116, 2004
		Enrichissement : Rappaport	44±0,5°C/24h	
		Isolement : Hektoen	37±1°C/24h	



Figure 2 : Gélose PCA après incubation

3. Dénombrement des coliformes totaux (CT)

1ml de la SM (et des dilutions décimales) a été transféré dans une boîte de pétri à l'aide de pipette stérile, puis le milieu VRBL liquéfié et maintenu à 50°C a été versé dans la boîte.

L'inoculum a été soigneusement homogénéisé avec le milieu de culture, puis incubé à 30°C pendant 24h après solidification (NM 08.0.124, 2004).

La présence de coliformes totaux a été indiquée par l'apparition de colonies rouges brique (Figure 3).

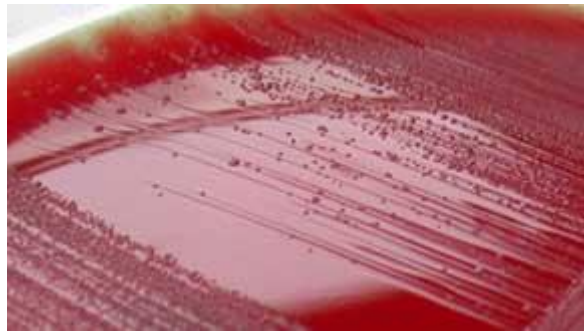


Figure 3 : Milieu VRBL après incubation

4. Dénombrement des coliformes fécaux (CF)

La même méthode pour le dénombrement des CT a été appliquée pour les CF, mais l'incubation a été faite à 45°C pendant 24h après solidification puisque les coliformes fécaux sont des bactéries thermo tolérantes (Figure 4), (NM 08.0.124, 2004).



Figure 4 : Aspect des coliformes fécaux après dénombrement

5. Dénombrement de *Staphylococcus aureus*

✓ **Isolement** : Toujours en conditions aseptiques, 0,1 ml de la suspension mère (et des dilutions décimales) a été transféré à l'aide d'une pipette stérile à la surface de boîte de milieu sélectif gélosé Baird Parker (BP), puis étalé à la surface du milieu et incubé à 37°C durant 24h.

L'apparition du germe a été marquée par la présence des colonies noires, brillantes et convexes et entourées d'une zone claire qui peut être partiellement opaque.

✓ **Enrichissement** : A partir des boîtes de BP, cinq colonies de *S. aureus* ont été prélevées et ensemencées dans un tube contenant du bouillon cœur cerveau (BHI), puis incubées à 37°C pendant 24h.

✓ Confirmation de la pathogénicité : Un test de la coagulase libre a été effectué dans cette étape, dont un but d'identification de *Staphylococcus aureus*.

La *coagulase libre* est une enzyme qui permet de catalyser la transformation du fibrinogène soluble en fibrine insoluble.

Sa recherche a été faite dans un tube à hémolyse, où 0,5 ml d'une culture enrichie sur bouillon (BHI) a été additionné à 0,5 ml du plasma de lapin, les tubes ont été ensuite incubés à 37°C pendant 24 heures. Un test coagulase positive témoigne de la présence de *S. aureus* (NM 08.0.104, 2004).

6. Dénombrement des Anaérobies sulfitoréducteurs

A partir de la SM, 1 ml a été transféré aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile dans un tube contenant 10 ml de milieu sulfite polymixine sulfadiazine (SPS), et l'inoculum a été doucement mélangé au milieu de culture. Après solidification du tube, l'incubation a été faite à 37°C pendant 24h. Les colonies noires ont été comptées (NM 08.0.125, 2004).

7. Dénombrement des levures et moisissures

1 ml de la solution mère a été ensemencé par étalement d'une gélose de Sabouraud en boîte de Pétrie puis incubé à 37°C pendant 24h (NM 08.0.123, 2004).

8. Recherche des Salmonelles

La méthodologie employée est subdivisée en quatre étapes : le pré-enrichissement, l'enrichissement, l'isolement et l'identification (NM 08.0.116, 2004).

☞ Pré-enrichissement en milieu non-sélectif

La solution mère qui a été préparé à partir de 25g de l'échantillon et 225 g de L'EPT a été incubée à 37°C, pendant 24h.

☞ Enrichissement en milieu sélectif

Les cultures de pré-enrichissement sont ensemencées dans un milieu nutritif contenant des agents inhibiteurs actifs sur les germes qui font concurrence avec *Salmonella*.

Pour cela ; à l'aide d'une pipette stérile ; 0,1 ml de la culture de pré-enrichissement a été transféré dans 10 ml de bouillon Rappaport puis incubé à 44°C pendant 24h.

☞ Isolement

Un ensemencement par épuisement a été effectué à l'aide d'une anse flambée du bouillon sélectif sur une gélose Hektoen de façon à obtenir les colonies bien isolées. La gélose a été ainsi ensemencée est incubée à 37°C. Après 24h, les colonies typiques de *Salmonella* ont été caractérisées par une coloration bleu-vert avec ou sans centre noir. Celui-ci peut s'élargir et rendre la colonie complètement noire.

☞ **Identification**

Cinq colonies caractéristiques de *Salmonella* ont été ensemencées sur le milieu gélosé Kligler, du haut vers le bas par des stries serrées, puis une piqûre a été réalisée au fond du tube, ensuite elles ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.

La lecture des résultats a permis d'avoir quatre renseignements sur le métabolisme des bactéries ensemencées :

Le culot renseigne sur la fermentation du glucose, s'il vire au jaune alors il y a fermentation, s'il garde sa coloration initiale (rouge) alors il n'y a pas de fermentation.

La pente renseigne sur la fermentation du lactose. De même que pour le culot, une coloration rouge indique l'absence de fermentation tandis que le virement de couleur vers le jaune indique sa présence.

Pour la production de gaz, elle est détectée par l'apparition de bulles d'air dans le culot.

Une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre indique la formation d'hydrogène sulfureux (H₂S).

Les colonies présentant ces quatre caractéristiques ont été repiquées sur milieu solide PCA (Plate Count Agar) afin de les conserver avant de procéder à l'identification par API.

☞ **Tests de confirmation d'identification des *Salmonelles***

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

- **Test d'Urée-Indole** : Après incubation pendant 24h à 37°C de la suspension bactérienne dans le milieu Urée-Indole, quelques gouttes de réactif de Kovacs ont été ajoutées. L'apparition d'une couleur rouge dans la partie supérieure du milieu témoigne de la production d'indole.

- **Galerie Api 20 E** : Elle est composée de 20 micro-tubes prêts à l'emploi permettant de réaliser 23 tests biochimiques afin d'identifier des bacilles Gram négatifs appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*.

× Préparation de la galerie API : 5ml d'eau physiologique ont été répartis dans les alvéoles du fond d'une boîte d'incubation pour créer une atmosphère humide puis la galerie a y été déposée.

× Préparation de l'inoculum : une à quatre colonies bien isolées ont été introduites dans 5 ml d'eau physiologique stérile.

× Ensemencement de la galerie : Les tubes et /ou les cupules ont été remplis par la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles.

× Lecture de la galerie : La lecture a été faite après 24 heures d'incubation à 37°C. Trois réactifs adéquats ont été ajoutés avant la lecture de la galerie (TDA, IND, VP). La lecture a été faite par l'interprétation des couleurs (virage ou non) et l'attribution d'un chiffre correspondant à cette couleur. On a obtenu alors un code qui nous permet de se référer au catalogue pour identifier la souche.

Résultats et discussion

I. Evaluation de la conformité des échantillons analysés

1. Répartition des aliments analysés au LRDEHM selon leurs catégories

La répartition des échantillons d'aliments analysés au laboratoire par catégorie a montré que sur 15 échantillons reçus au laboratoire, les aliments les plus analysés ont été les plats cuisinés à base de (n=7 ; 40%), les végétaux et crudités (n=4 ; 27%), les viandes et produits carnés (n=2 ; 13%), par contre les aliments les moins analysés ont été les sauces et les pâtisseries avec (n=1 ; 7%) chacune (Figure 5).

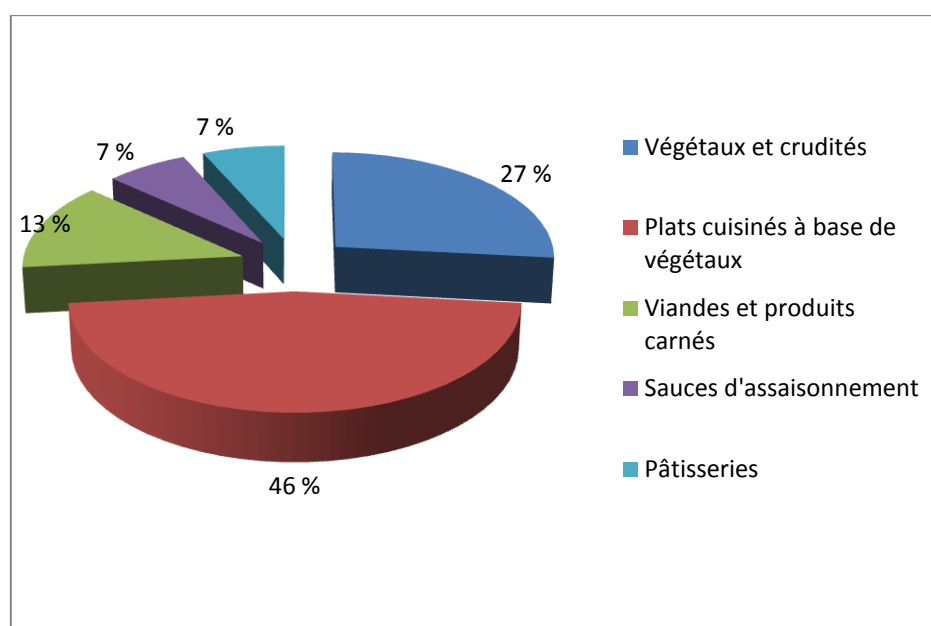


Figure 5 : Pourcentage des aliments analysés au LRDEHM selon leurs catégories

2. Evaluation de la non-conformité globale des aliments

Sur les 15 échantillons d'aliments analysés, quatre ont été non conformes, soit un pourcentage de non-conformité de l'ordre de 27% (Tableau 2). Ce résultat concorde bien avec celui de Belomaria et al, (2010) qui est de 29%. Cependant, il a été supérieur au résultat obtenu en Macédoine (2,85%) par Ljupco et al. (2010) et inférieur à celui obtenu en 2007 par Ahoyo et al. qui ont révélé une fréquence élevée de contamination des aliments vendus sur le campus de l'université d'Abomey Calavi au Bénin (74%).

Tableau 2 : Pourcentage de la non-conformité globale

	Nombre total	Conformité	NC	%C	%NC
Aliments	15	11	4	73 %	27 %

3. Pourcentage de la non-conformité par catégorie d'aliments

Les plats cuisinés à base de végétaux ont été les plus souvent non conformes (n=7 ; 50%). Ceci indique que les conditions de cuisson des aliments n'ont pas été respectées. Les végétaux et crudités et les pâtisseries ont eu une non-conformité de 25% (n=4) chacun. Par contre, aucun échantillon n'a été révélé non-conforme dans les catégories suivantes: les sauces et les viandes et produits carnés (Tableau 3).

Cette distribution ne concorde pas avec celle trouvée en 2012 par El Marnissi et al., qui ont rapporté, dans 1577 échantillons analysés à Fès, que 60% des aliments appartenait à la classe des viandes et produits carnés ; 15,10% appartenait à la classe des pâtisseries et 32,70% à la classe des produits végétaux.

Tableau 3: Pourcentage de la non-conformité par catégorie d'aliments

Catégories d'aliments	Nombre total	% NC
Végétaux et crudités	4	25%
Plats cuisinés à base de végétaux	7	50 %
Viandes et produits carnés	2	0 %
Sauces d'assaisonnement	1	0 %
Pâtisseries	1	25 %

4. Variation de la non-conformité des aliments en fonction des germes suspects

Les germes responsables de la N.C des échantillons sont représentés dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Non-conformité des échantillons alimentaires par rapport aux germes suspectés

Catégorie d'aliment	Germes suspectés						
	GT	CT	CF	<i>S. aureus</i>	ASR	Levures/ moisissures	Salmonelles
Végétaux et crudités	0	0	1	0	0	0	0
Plats cuisinés à base de végétaux	0	1	2	0	0	0	0
Viandes et produits carnés	0	0	0	0	0	0	0
Sauces d'assaisonnement	0	0	0	0	0	0	0
Pâtisseries	0	0	1	0	0	0	0

La contamination des aliments par les coliformes totaux est de 25% (Figure 6). Ce résultat ne concorde pas à celui de Bautista et al (2013) qui avaient rapporté une charge de 4,1% de bactéries coliformes dans 220 échantillons de salades cuites prêtes à consommer dans la ville de Pachuca (Mexique).

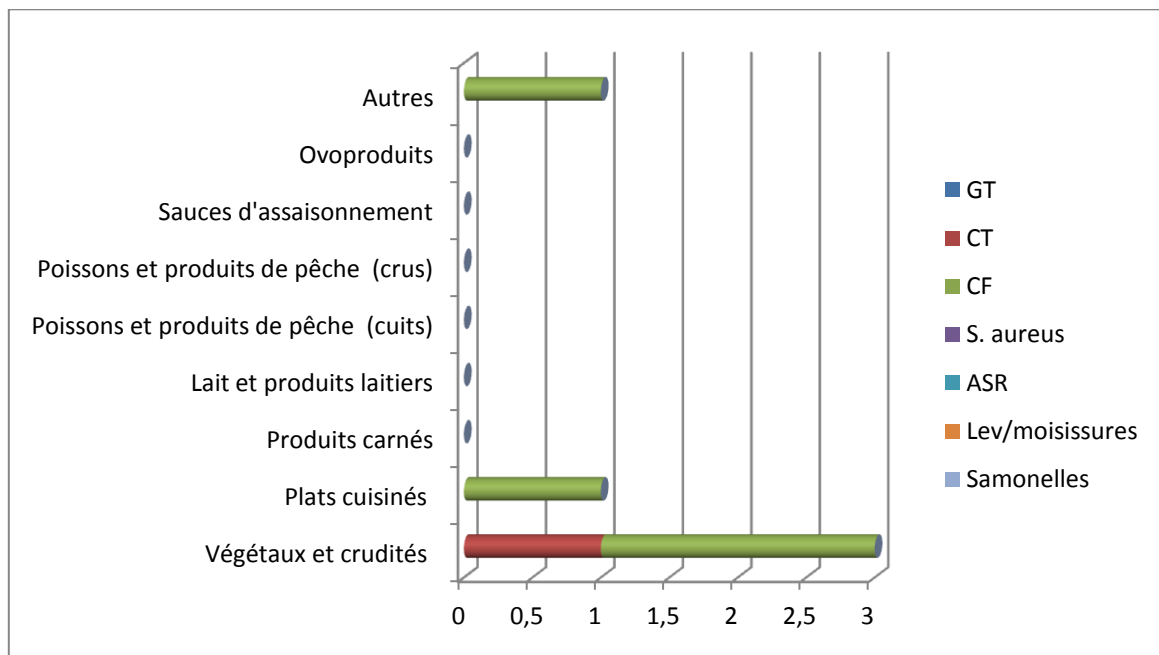


Figure 6 : Effectif de contamination des aliments par les micro-organismes

La contamination par les coliformes fécaux (CF) est la plus dominante (75%). Ce résultat est similaire à celui obtenu par Diouf (1992) qui a montré que les CF étaient responsables de la non-conformité de 64% des aliments sur la voie publique.

Ce taux élevé pourrait indiquer des mauvaises manipulations et des conditions d'hygiène défectueuses.

Aucun cas de *Staphylococcus aureus* ni de salmonelle ni de levure n'a été détecté, ce qui concorde en partie avec l'étude menée en 2012 sur 24 échantillons de salades par Karim et al qui n'avaient détecté aucune souche de *S. aureus*.

Aucun cas de non-conformité lié aux anaérobies sulfito-réducteurs ni aux germes totaux n'a été enregistré dans les 15 échantillons analysés.

Ce qui diffère des résultats de Rodriguez et Rebello (1974), qui avaient noté une présence germes aérobie totaux, de coliformes et d'ASR dans les légumes et les fruits.

Conclusion

La préparation des repas de bonne qualité microbiologique exige le respect de règles d'hygiène à plusieurs niveaux : matières premières mises en jeu, environnement de préparation (matériel, conservation, locaux, personnel...) et savoir faire afin de prévenir la survenue de toxi-infections alimentaires collectives en milieu universitaire.

Dans cette étude prospective, 15 échantillons d'aliments ont subi des analyses microbiologiques au LRDEHM de Fès selon les normes marocaines en vigueur.

Les plats cuisinés à base de végétaux ont été les aliments les plus contaminés avec un pourcentage de 50%, puis les pâtisseries et les végétaux et crudités avec 25% de non-conformité chacun. Tandis que, certains aliments ont été de bonne qualité hygiénique, notamment les viandes et produits carnés et les sauces d'assaisonnement.

Les résultats obtenus ont révélé un pourcentage de non-conformité de 26,7% : 25% a été due aux coliformes totaux qui ont été identifiés dans les plats cuisinés à base de végétaux, tandis que les 75% restantes ont été dues à la contamination par les coliformes fécaux, identifiés aussi dans les plats cuisinés à base de végétaux, dans les végétaux et crudités et dans les pâtisseries.

La présence de ces germes a témoigné d'une contamination fécale des denrées alimentaires suite à leur manipulation. Ainsi, l'hygiène de ces aliments peut être améliorée grâce à des programmes de sensibilisation des manipulateurs et des distributeurs aux règles d'hygiène, au respect de la chaîne de froid et aux problèmes des toxi-infections alimentaires.

Références bibliographiques

- Alli, 2004.** Food quality assurance, Principles and practices. Florida 33431: CRC PRESS.
- Agence de la santé et des services sociaux de Chaudière-Appalaches, 2011.** Quoi faire si la quantité de coliformes totaux ou de bactéries atypiques dans l'eau de votre puits dépasse la norme?
- Ahoyo T.A., Ahissou H., Kounon F., Aminou T. et Dramane K., 2007.** Etude de la qualité bactériologique des aliments vendus sur le campus de l'Université d'Abomey Calavi au Bénin.
- Aoued L., Benlarabi S., Soulaymani-Bencheikh R., 2010.** Maladies d'origine alimentaire Définitions, Terminologie, Classifications Toxicologie Maroc - N° 6 - 3ème trimestre 2010-3.
- Barka, M. S., 2011.** Recherche et caractérisation d'Escherichia coli entéro-hémorragique O157 : H7 dans les viandes bovines importés en Algérie. Thèse. Université d'Oran.
- Barro N., Ouattara CAT., Nikiema P., Ouattara AS. et Traore AS., 2002.** Evaluation de la qualité microbiologique de quelques aliments de rue dans la ville de Ouagadougou au Burkina Faso. *Cahiers santé*. 12(4), p(369-374)).
- Bautista et al, 2013.** Frequency of indicator bacteria, Salmonella and diarrheagenic Escherichia coli pathotypes on ready-to-eat cooked vegetable salads from Mexican restaurants.
- Belomaria M., Ahami AOT., Aboussaleh Y., Elbouhali B., Cherrah Y. et Soulaymani A. 2007.** Origine environnementale des intoxications alimentaires collectives au Maroc : Cas de la région du Gharb Chrarda Bni Hssen. *Antropo*.14, p(83-88).
- 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.
- Benlarabi et al., 2006.** Les toxi-infections alimentaires collectives: données du centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Ma
- Billette de Villemeur et al., 2012.** Guide des conduites à tenir en cas de maladies infectieuses en collectivité/, Rapport du groupe de travail 28 septembre 2012.
- Bouhi S., Talbi M., Belarabi S., Soulaymani R., Mokhtari A. et Soulaymani A., 2006** L'étude des toxi-infections au Maroc.
- Bourlioux P., 2000.** Toxi-infections alimentaires. *Objectif nutrition*;49 p(2-8).
- Bouza A., 2009.** Mémoire de stage. Les toxi-infections alimentaires collectives dans l'Est Algerien; p4.
- Buisson Y., Marié J.-L., Davoust B., 2009.** Ces maladies infectieuses importées par les aliments. Manuscrit n° 3210. Santé publique.

CAC, 2003. Commission du Codex Alimentarius – Code d’usages international recommandé – Principes généraux en matière d’hygiène alimentaire, notamment l’Annexe sur l’Analyse des risques aux points critiques (HACCP) et Lignes directrices pour sa mise en œuvre. CAC/RCP 1-1969 Rev 4.

Cah. Nutr. Diét. (cahiers de nutrition et de diététique), 2001. Les toxi-infections alimentaires. Risques liés à l’alimentation (73), p(26).

CEAEQ, 2009. Recherche et dénombrement simultané des coliformes fécaux et d’*Escherichia coli* dans l’eau potable avec le milieu de culture MI; méthode par filtration sur membrane. Centre d’expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 20 p.

Cohen N., Ennaji H., Bouchrif B., Hassar M., and Karib H., 2007. Comparative Study of Microbiological Quality of Raw Poultry Meat at Various Seasons and for Different Slaughtering Processes in Casablanca (Morocco). *J. Appl. Poult. Res.* 16, p (502–508).

Colin P., 2009. Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments : Salmonella. Afssa.

Custovic A., Ibrahimagic O., 2005. Prevention of food poisoning in hospitals. *Medicinski arhiv*, 9 (5), p(303–305).

De Buyser L., Hennekinne A., 2009. Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments: *Staphylococcus aureus* et enterotoxines staphylococciques. Afssa.

Decoster A., Lemahiou J-C., 2008. Les staphylocoques. Cours de bactériologie.

Delmas G et al., 2010: Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 2006 et 2008. p (344-348). **EDES, 2011.** Manuel de formation N°3 du PIP – Analyse des risques et autocontrôle en production. (COLEACP/PIP, Bruxelles 2011).

Diouf F., 1992: Contribution à l’étude de la qualité hygiénique des aliments vendus sur la voie publique (avp) dans la région de Dakar. Thèse de Doctorat. Université Cheikh Anta Diop – Dakar. Ecole Inter Etats Des Sciences et Médecine Vétérinaires. Sénégal.

Dr Hordé P., 2014. *Escherichia coli* (*E. coli*) - Symptômes et traitement. Santé-Médecine (p2).

El Marnissi B., Bennani L., El oulali lalami A., Aabouch M., Belkhou R., 2012. Contribution à l’étude de la qualité microbiologique des denrées alimentaires commercialisées à Fès-Boulemane. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* Vol 6, N°1, p (98-117).

Elsevier, 2004. Infectious Diseases 2e – www.idreference.com

Erm project, 2015. Les normes HACCP et le concept de "marche en avant" en cuisine de collectivité.

FAO/OMS, 2005. L’impact sur la santé humaine des systèmes de sécurité sanitaire des aliments établis au Proche Orient. Réunion régionale pour le Proche-Orient sur la sécurité sanitaire des aliments. Amman, Jordanie. (NEM 05/3).

FAO, 2015. Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture : Statistiques de sécurité alimentaire.

H24info, 2014. Alarmant : 11000 cas d'intoxications enregistrées au Maroc.

Invs, 2013. Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives. Données de la déclaration obligatoire, p(1).

Invs, 2011. Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives Données de la déclaration obligatoire, p (1-6).

LJUPCO Angelovski., Sekulovski Pavle., Jankuloski Dean., Ratkova Marija., Kostova Sandra., Prodanov Mirko., 2010. Qualité microbiologique des gateaux et pâtisseries vendu dans SKOPJE, MACEDONIA. *Mac. Vet. Rew.* Vol 33, No. 1, 9 – 12.

Le centre de sécurité alimentaire, 2006. Center for food safety: http://www.cfs.gov.hk/english/programme/programme_haccp/programme_haccp_7requirement.html

Momagri, 2015. Mouvement pour une organisation mondiale de l'agriculture. La sécurité alimentaire : un enjeu politique d'actualité.

Manuel terrestre de l'OIE, 2005. Chapitre (2.10.8).

Guillermo I., Perez-Perez, Blaser M-J., 1996. *Campylobacter* and *Helicobacter*. Medical Microbiology, 4th edition; chap 23.

Nataro J.P., Kaper J.B., 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*, Clin. Microbial. Rev.11 p(142-201).

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

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

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

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

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

NM 08.0.116, 2004. Recherche des *Salmonella*.

NM 08.0.123, 2004. Recherche des levures et moisissures.

Nugon-Baudon L., Mollier P., 2002. La sécurité des aliments à l'INRA (p 5).

Pip, 2011 : Principes d'hygiène et de management de la qualité sanitaire et phytosanitaire, chapitre5 : la méthode Haccp; p (163).

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

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

Rebgui H., Soulaymani-Bencheikh R., Hami H., Ouammi L., Hadrya F., Soulaymani A., Mokhtari A., 2013. Aspects épidémiologiques des intoxications survenues dans la région de Fès-Boulemane, Maroc. ScienceLib Editions Mersenne : Volume 5, N° 130903.

Rodriguez M., Valero A., Carrasco E., Pérez-Rodríguez F., Posada G.D., Zurera G., 2011. Hygienic conditions and microbiological status of chilled Ready-To-Eat products served in Southern Spanish hospitals. Food Control, 22 (6), 874-882.

UMVF (Université Médicale Virtuelle Francophone), 2010. Les toxi-infections alimentaires collectives : aspects cliniques et épidémiologiques. Collège des Enseignants de Nutrition.

Vandamme P., Dewhirst, Floyd E., Paster, Bruce J., Stephen L.W. 2006. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 2: The Proteobacteria (Part C) (2nd ed.). Springer Science & Business Media, p (1147–1160).

Varnam L.R. et Evans M.G, 1996. Food had borne Pathogens, Manson Publishing Ltd, London.

Zerrou, 2012. Intoxications alimentaires : Plus de 500 cas enregistrés durant les trois derniers mois. Aujourd'hui le Maroc.

Zuliani V., Garry P., 2004. Les germes pathogènes dans l'industrie agro-alimentaire. Rev Salle propres p (12-16).

Annexe : Composition des milieux de culture

Pour 1 litre d'eau distillée

Milieu VRBL

- Peptone pepsique de viande	7,0g
- Extrait auto lytique de levure.....	3,0g
- Lactose	10,0g
- Sels biliaries.....	1,5 g
- Chlorure de sodium.....	5,0g
- Rouge neutre.....	0,03g
- Cristal violet	2,0 mg
- Agar agar bactériologique.....	12 ,0 g

Milieu PCA

- Peptone de caséine.....	5,0g
- Extrait de levure.....	2,5g
- Glucose.....	1,0g
- Agar.....	15,0g

Milieu Baird-Parker

Pour 1 litre de milieu complet :

- Tryptone	10,0 g
- Extrait de viande	5,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	1,0g
- Pyruvate de sodium	10,0 g
- Glycine	12,0 g
- Chlorure de lithium	5,0 g
- Agar-agar bactériologique	15,0 g
- Emulsion de jaune d'œuf	47,0 ml
- Tellurite de potassium à 3,5%.....	3,0 ml

Bouillon Rappaport Vassiliadis

- Peptone papainique de soja.....	4,50 g
- Chlorure de sodium	7,20 g
- Phosphate monopotassique	1,26 g
- Phosphate dipotassique	0,18 g
- Chlorure de magnésium anhydre	13,40 g
- Vert malachite (oxalate).....	36,0 mg

Gélose Hektoen

- Peptone pepsique de viande.....	12,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
- Lactose.....	12,0 g
- Saccharose	12,0 g
- Salicine.....	2,0 g
- Sels biliaires	9,0 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Thiosulfate de sodium	5,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
- Bleu de bromothymol	65 mg
- Fuchsine acide	40 mg
- Agar-agar bactériologique	13,5 g

Hajna Kligler

- Tryptone.....	20,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
- Extrait de viande	3,0 g
- Glucose.....	1,0 g
- Lactose	10,0 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Thiosulfate de sodium.....	0,5 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	0,5 g
- Rouge de phénol.....	25,0 mg
- Agar-agar bactériologique.....	15,0 g

Milieu SPS

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