



**UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES**



Projet de Fin d'Etudes

**Licence Sciences & Techniques
«BioProcédés, Hygiène & sécurité alimentaires»**

**Evaluation microbiologique des surfaces en contact
des aliments dans un restaurant**

Présenté par : Mejrhirou Amina

Encadré par :

- ✓ Pr Bahia Bennani (FMP, Fès)
- ✓ Pr Abdellatif Haggoud (FST, Fès)

Soutenu le 07/06/2016 devant le jury :

- ✓ Pr Sanae Guissi (FST, Fès)
- ✓ Pr Abdellatif Haggoud (FST, Fès)
- ✓ Pr Bahia Bennani (FMP, Fès)

***Stage réalisé au sein du laboratoire de microbiologie et Biologie
moléculaire :***

FMPF



Année universitaire : 2016-2017



**UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES**



Projet de Fin d'Etudes

**Licence Sciences & Techniques
«BioProcédés, Hygiène & sécurité alimentaires»**

**Evaluation microbiologique des surfaces en contact
des aliments dans un restaurant**

Présenté par : Mejrhirou Amina

Encadré par :

- ✓ Pr Bahia Bennani (FMP, Fès)
- ✓ Pr Abdellatif Haggoud (FST, Fès)

Soutenu le 07/06/2016 devant le jury :

- ✓ Pr Sanae Guissi (FST, Fès)
- ✓ Pr Abdellatif Haggoud (FST, Fès)
- ✓ Pr Bahia Bennani (FMP, Fès)

***Stage réalisé au sein du laboratoire de microbiologie et Biologie
moléculaire :***

FMPF



Année universitaire : 2016-2017

Remerciement

Avant tout, nous rendons grâce à dieu de nous avoir accordé la vie, la santé, le courage et la force de réaliser ce travail.

A l'issue de ce travail, je tiens à remercier la direction et l'ensemble du personnel de la faculté de médecine et de pharmacie de m'avoir accueilli parmi eux pour effectuer un stage au sein du laboratoire de la microbiologie et biologie moléculaire dans les meilleures conditions.

*J'adresse ma reconnaissance à **Pr. Bennani** pour avoir accepté de diriger ce travail, je lui adresse tous mes remerciements pour sa compréhension, son respect et son humanité.*

*Je tiens à exprimer mes profondes gratitude et mes sincères remerciements à mon encadrant **Pr. Abdellatif Haggoud** qui a accepté favorablement de m'encadrer pendant ce stage et qui m'a guidé avec ses précieux conseils.*

*JE remercier également **Pr. Guissi** d'avoir accepté de juger et d'évaluer mon travail, je lui manifeste ma profonde gratitude.*

*Et finalement je n'oublie pas de remercier **Mlle Ghita Benjelloun** pour ces efforts, ces encouragements, son savoir scientifique et sa gentillesse.*

Que tous ceux et celles qui ont contribué de près ou loin à l'accomplissement de ce travail. Qu'ils trouvent l'expression de mes remerciements les plus chaleureux.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A la mémoire de mon cher père, qu'Allah ait son âme.
A La personne la plus chère à mon cœur : Maman qui m'a supportée vaillamment pas à pas tout au long de ma vie ..., Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi ; je te dois ma réussite, mon éducation, ma fierté. Tu m'as aimé très profondément et tu as été toujours une mère idéale. Tu es la seule qui comprend ma vie : Je te demande pardon et encore une fois Merci.*

A mes adorables sœurs

A qui je tiens énormément pour vos grands cœurs et vos générosités.

Que le grand dieu vous offre un avenir plein de réussite et de bonheur.

A mes chères amies

En souvenir des moments agréables passés ensemble, Merci pour les bons moments qu'on a passé ensemble, de votre soutien et de votre serviabilité.



Résumé :

Les surfaces inertes constituent le mode de transmission principale des microorganismes aux aliments. L'hygiène des surfaces dans la restauration collective est considérée comme la mesure la plus efficace, des précautions générales, pour prévenir les toxi-infections alimentaires.

Durant cette étude nous avons effectué des analyses microbiologiques sur des échantillons prélevés à partir des surfaces utilisées en contact des aliments (Planche à découper, Appareil de broyage, Evier, balance, spatule, couteau, mixeur).

Les résultats obtenus révèlent la présence des entérobactéries en particulier *Escherichia coli* et des staphylocoques (*Staphylococcus aureus*, staphylocoques à coagulase négative) et de *Pseudomonas aeruginosa*

Ces contaminations sont essentiellement dues au non respect des procédures de nettoyage et désinfection

Mots clés : Restauration collective, TIAC, HACCP, Hygiène des surfaces, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

Liste des Abréviations

HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point

CCP : Point critique pour la maîtrise

TIAC : Toxi-infections Alimentaire Collective

FMAT : Flore mésophile aérobie totale

UFC : Unité formant colonie

E. coli : *Escherichia coli*

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

SCN : Staphylococcus à coagulase négative

Gélose EMB : Eosin Methylene Blue Agar (gélose éosine bleu de méthylène)

Gélose VRBL : Violet Red Bile Lactose Agar

RM : Rouge de méthyle

VP : Voges Proskauer

BHI : Brain Heart Infusion

TDA : Tryptophane désaminase

IND : Indole

GELL : Gélatine

CIT : Citrate

Liste des tableaux et figures

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Répartition des points de prélèvements.....	8
Tableau 2 : Pourcentage de contamination selon les points de prélèvements.....	8
Tableau 2 : Aspect des colonies et test coagulase des <i>Staphylococcus</i> identifiés	16
Tableau 3 : Profil biochimique des entérobactéries identifiées.....	16
Tableau 4 : Distribution des germes selon les points de prélèvement.....	17

Liste des figures :

Figure 1 : Pourcentage de contamination.....	15
Figure 2 : Distribution globale des germes isolés.....	15
Figure 3 : Répartition des <i>Staphylococcus</i>	16
Figure 4 : Répartition des entérobactéries.....	17

Introduction :

Au Maroc le secteur de la restauration est en plein développement, il comprend aussi bien la restauration commerciale que la restauration collective. Cette dernière recouvre toutes les activités consistant à préparer et à fournir des repas aux personnes travaillant et/ou vivant dans une collectivité déterminée.

En restauration, les surfaces susceptibles d'entrer en contact avec les denrées alimentaires soit directement, soit indirectement peuvent constituer des réservoirs microbiens. L'hygiène en restauration correspond à l'ensemble des mesures et précautions qui doivent être prises pour éviter la contamination des repas [1].

L'hygiène des surfaces dans la restauration collective est considérée comme l'une des mesures les plus efficaces pour prévenir la contamination des aliments, et à réduire ou à limiter le risque des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) d'une manière très importante [1].

La surveillance microbiologique des surfaces alimentaires dans la restauration collective est un sujet qui s'intègre dans l'actualité de la prévention des toxi-infections alimentaires. La maîtrise des locaux et des équipements qui sont en contact des aliments devrait être basée sur des actions bien ciblées ayant démontré leur pertinence et leur impact sur la diminution des TIAC. Les contrôles microbiologiques des surfaces est l'un des outils de mesure qui permettent d'évaluer une situation de départ et qui permet d'instaurer des mesures correctives [2].

Dans ce contexte, l'objectif de notre étude est l'appréciation de la qualité microbiologique de certaines surfaces d'une cuisine lors de la préparation des aliments.

Chapitre I :

Revue bibliographique

I- Restauration collective

I-1) Définition

La restauration collective fait partie d'un ensemble appelé, la restauration hors Domicile (RHD), regroupant aussi la restauration commerciale (restaurant, cafétéria, snacks...).

La restauration collective se distingue par son caractère social qui vise à produire un repas aux convives d'une collectivité déterminée (jeune, patient, salarié...) à un prix moindre que celui pratiqué par des restaurants commerciaux [3].

La restauration collective comprend quatre grands secteurs de restauration :

- ❖ La restauration scolaire : crèches, écoles maternelles et primaires, collèges, lycées, universités
- ❖ La restauration médico-sociale : hôpitaux, cliniques, maisons de retraite
- ❖ La restauration d'entreprise : restaurants administratifs et d'entreprise
- ❖ Autres : centres de vacances, armées, prisons... [3].

I-2) Hygiène en restauration collective

L'hygiène en restauration consiste à recevoir des denrées alimentaires brutes, à les transformer et à les distribuer (en libre-service, sur la table du consommateur ou à domicile), tout en empêchant la multiplication des microbes qu'elles renferment (moisissures, levures, bactéries, virus) et en essayant d'en ajouter le moins possible. En effet, ceux-ci sont responsables de l'altération des denrées (acidification, putréfaction, fermentation) et des Toxi-infections Alimentaires Collectives [4].

1-3) Les toxi-infections Alimentaires collectives

Les TIAC correspondent à l'apparition d'au moins deux cas similaires d'une symptomatologie, en général gastro-intestinale, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire. Les TIAC sont des maladies à déclaration obligatoire ; leur signalement permet de prendre des mesures rapides dans le cas de restauration collective [4].

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

Les principaux microorganismes responsables des TIAC sont *Staphylocoques aureus*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium perfringens* et *Bacillus cereus*, en plus des virus entériques [4].

Le non respect de la chaîne du froid, les erreurs dans le processus de préparation des aliments et un délai trop important entre la préparation et la consommation représentent les principaux facteurs favorisant la survenue d'une TIAC et des maladies graves chez les consommateurs de restauration collective. Ce qui souligne la nécessité d'améliorer le système de sécurité alimentaire dans le service alimentaire, en particulier dans la restauration collective et donc la mise en place d'un système pour la pratique d'hygiène dans la restauration est nécessaire [4].

II- Démarche HACCP en restauration collective

II-1) Définition

Créée dans les années 60 par la société Pillsbury et la NASA afin de garantir la sécurité et la salubrité des aliments [5], la méthode HACCP permet :

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

II-2) Les principes du système HACCP

Le système HACCP est basé sur 7 principes [6] :

Principe 1 : Procéder à une analyse des risques :

Le système HACCP identifié tout danger qu'il y a lieu de prévenir, d'éliminer ou de ramener à un niveau acceptable

Les groupes de dangers à considérer sont les suivants :

- _ **Chimiques** : sont les produits chimiques risquant d'entrer en contact avec le produit (résidus de nettoyage, antibiotiques, allergènes...)
- _ **Physiques** : sont l'ensemble des corps étrangers susceptibles de contaminer le produit (os, métal, bois, carton, verre, plastique...)
- _ **Biologiques** : Présence de micro-organismes pathogènes : virus, moisissures, parasites, bactéries, toxines)

Les dangers peuvent être classés selon 5 origines : personnel, équipement, environnement, matières premières, processus. Pour trouver cette origine on peut utiliser la méthode des **5 M** (**M**atières premières, **M**ilieu, **M**ain d'œuvre, **M**éthode, **M**atériel)

Principe 2 : Détermination des CCP

Points critiques pour la détermination des risques préalablement identifiés.

Principe 3 : Etablissement des limites critiques

Les limites critiques fixent les frontières de l'acceptabilité. Elles peuvent être des valeurs chiffrées, des paramètres sensoriels ou des réalisations.

Principe 4 : Etablissement des procédures de surveillance

Etablissement d'un système de surveillance permettant de s'assurer la maîtrise effective et efficace des CCP.

Principe 5 : Etablissement des mesures correctives

Etablissement des actions correctives à mettre en œuvre lorsque la surveillance révèle qu'un CCP donné n'est pas ou plus maîtrisé.

Principe 6 : Instauration des procédures de vérification

Etablissement des procédures spécifiques pour la vérification destinées à confirmer que le système HACCP fonctionne effectivement et efficacement.

Principe 7 : Etablissement du système documentaire

Le système documentaire doit comporter deux types de document :

Le manuel HACCP qui comprend l'ensemble des documents définis lors de l'énumération des différentes étapes : diagramme de fabrication, liste des dangers, définitions des responsabilités...et les enregistrements.

III- Hygiène des surfaces en restauration collective

Les surfaces utilisées au contact de l'aliment présentent un risque potentiel de contamination. Ils peuvent être une source passive de contamination lorsque la nature, la conception et le manque d'entretien de ces surfaces permettent aux germes de se réfugier et de se multiplier [7].

III. 1) Définition d'Hygiène des surfaces

Tous les matériels et équipements avec lesquels les denrées alimentaires entrent en contact, notamment les surfaces de découpes, les tables et les ustensiles, doivent être maintenus en permanence propres et :

a) Construits et entretenus de manière à éviter les risques de contamination des denrées alimentaires ;

b) Construits et entretenus de manière à permettre un nettoyage efficace et, lorsque cela s'avère nécessaire pour éviter la contamination des aliments, une désinfection adéquate ;

c) Installés de manière à permettre le nettoyage de la zone environnante [7].

III. 2) Les germes recherchés sur les surfaces

a) Flore mésophile aérobique totale

La FMAT est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier à l'air aux températures moyennes, plus précisément ceux dont la température optimale de croissance est située entre 25 et 40°C. Ils peuvent être des microorganismes pathogènes ou d'altération.

La flore mésophile aérobique totale est un indicateur d'hygiène important qui permet d'évaluer le nombre d'UFC présente dans un produit ou sur une surface.

Elle renseigne sur la « charge bactérienne globale » de l'aliment. Un excès de FMAT est la conséquence soit d'une pollution (malpropreté générale) soit d'une mauvaise conservation (température de conservation trop élevée et/ou durée de conservation trop longue) [8].

b) Les coliformes fécaux : *Escherichia coli*

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5 °C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli*. La présence des coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale [9].

➤ *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille gram négatif de la famille des Enterobacteriaceae. Sa taille varie en fonction des conditions de croissance (entre 0,5 à 3 µm). C'est une bactérie que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain et des animaux à sang chaud. La plupart des souches sont inoffensives. Certaines en revanche, peuvent provoquer des graves maladies d'origine alimentaire. La température optimale de croissance est de 37 °C. Certaines souches se développent dans des aliments acides, jusqu'à un pH de 4,4.

E. coli fermente le glucose par la voie des acides mixtes (RM+, VP-), ne produit pas d'H₂S, Uréase-, Indole +, devient vert métallique sur gélose EMB.

La transmission à l'homme passe principalement par la consommation d'aliments contaminés, comme la viande hachée crue ou mal cuite, du lait cru, des légumes crus et des graines germées contaminées [10].

c) *Staphylococcus aureus* :

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques (coques) aérobie-anaérobie facultative à Gram positif, très résistantes dans le milieu extérieur et peu exigeantes en culture. *S. aureus*, communément appelé staphylocoque doré, est un staphylocoque à coagulase positive [11]. C'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses. La colonisation est définie comme le portage asymptomatique de la bactérie et concerne environ 30% à 50% de la population générale au niveau nasale. D'autres sites peuvent également être colonisés par *S. aureus* tels que le pharynx, l'intestin, le périnée, la peau et les aisselles. Si l'homme est le principal réservoir, ces bactéries sont également retrouvées dans l'environnement (eau, air, surfaces, aliments) et chez l'animal, notamment d'élevage [12].

S. aureus est une bactérie qui se cultive facilement en 24 heures sous une température de 37°C sur milieu ordinaire ou sélectif (Chapman) en formant, sur milieux solides, des colonies lisses, luisantes et bombées, plus ou moins pigmentées en jaune doré. En bouillon, la culture est rapide, en quelques heures un trouble homogène puis un dépôt sont observés [13].

S. aureus est capable de fermenter le glucose sans production de gaz et de fermenter le mannitol mise en évidence sur le milieu Chapman. Elle est caractérisée par la présence d'une coagulase libre, d'une coagulase liée, de la protéine A et d'une DNase thermostable [13].

d) *Pseudomonas aeruginosa* :

P. aeruginosa est une espèce bactérienne ubiquitaire, comme toutes les espèces du genre *Pseudomonas* ou apparenté. Ces bactéries ont des exigences nutritives peu importantes et sont capables de survivre dans l'environnement (eaux, surface, air, aliments) et particulièrement en milieu humide [14].

P. aeruginosa est un bacille à Gram négatif, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée. Bien que ce pathogène, ayant un métabolisme oxydatif, non fermentaire, aérobie stricte, plusieurs isolats ont montré une capacité à croître en milieu anaérobie. *P. aeruginosa*

est une bactérie mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire. Cette bactérie est catalase positive et oxydase positive. Elle possède une versatilité nutritionnelle remarquable pouvant utiliser une variété de sucres simples et complexes, d'alcools et d'acides aminés comme seule source de carbone. La température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C. La morphologie de *P.aeruginosa*, de même que pour tout le genre *Pseudomonas*, est facilement distinctive grâce à la production de la pyocyanine, un pigment bleu-vert diffusible dans le milieu extracellulaire, d'où le nom de bacille pyocyanique [15].

Chapitre II :

Matériel et méthodes

I- Type d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée sur une durée de 2 mois allant du 03 avril au 25 mai 2017.

II- Lieu et points de prélèvements et d'étude

Les prélèvements analysés ont été réalisés auparavant par un technicien d'hygiène dans un restaurant et stockées à -80°C.

Le nombre de prélèvements réalisés était de 20 ; la répartition ainsi que le type des points de prélèvements sont montrés dans le tableau suivant 1

Tableau 1 : Répartition des points de prélèvements

Point de prélèvement	Nombre de points prélevés
Planche à découper	8
Appareil de broyage	2
Couteau	2
Balance	2
Evier	4
Mixeur	1
Spatule	1

L'analyse a été réalisée au laboratoire de microbiologie et biologie moléculaire au sein de la faculté de médecine et de pharmacie de Fès

III- Mode de prélèvement

Les prélèvements de surface ont été réalisés par la technique d'écouvillonnage qui consiste à frotter chaque point de prélèvement avec un écouvillon stérile préalablement humidifié dans l'eau peptonée tamponnée contenu dans son étui, en effectuant des stries parallèles rapprochées, et en le faisant tourner légèrement dans le même point en stries perpendiculaires aux premiers et sur une surface de 25 cm². La même opération est répétée quatre fois sur d'autres surfaces du même point de prélèvement, en ayant soin de rincer l'écouvillon dans son étui entre chaque prélèvement

IV- Analyse bactériologique

IV.1 Culture des prélèvements de surface

Les écouvillons ont été immergés dans un bouillon nutritif liquide (l'eau peptonée salé), puis incubé à 37°C Pendant 24h. Ce bouillon a été utilisé pour ensemencer, par épuisement, 3 milieux : gélose VRBL, Baird Parker et Cétrimide. Ces différentes cultures ont incubées respectivement à 44°C, à 37°C et à 37° pendant 24h.

IV.2 Identification bactériologique

IV.2.a) Coloration de Gram

❖ Principe

C'est la coloration de base en bactériologie, elle permet une classification des bactéries selon leur structure, leur forme et leur Gram

❖ Technique

A partir de la culture purifiée, on réalise un étalement sur une lame à l'aide d'une anse, puis on fixe à la chaleur, ensuite on couvre par la solution de violet de gentiane pendant 30 s, puis on élimine le violet de gentiane en rinçant avec le lugol, 2 fois pendant 15 secondes. Ensuite on décolore à l'alcool-acétone par un mouvement de bascule, jusqu'à ce que l'alcool acétone n'entraîne plus de violet et soit bien incolore, On lave après à l'eau courante et on recolore avec la fuchsine diluée pendant 15 secondes. Ensuite, on rince bien et on sèche, et enfin, on observe à l'huile d'immersion au fort grossissement.

Les germes à Gram positif apparaissent violets, et ceux à Gram négatif apparaissent roses

IV.2.b) Identification de *Pseudomonas aeruginosa*

➤ Milieu Cétrimide

La gélose au Cétrimide est un milieu sélectif, qui permet l'isolement des *Pseudomonas* et notamment de *P.aeruginosa*. Ce milieu gélosé est relativement pauvre, et contient un antiseptique : le Cétrimide (bromure de N-cétyl-N, N, N-triméthylammonium).

❖ Principe

Le Cétrimide agit comme inhibiteur d'une grande variété de germes, y compris les espèces de *Pseudomonas* autres que *Pseudomonas aeruginosa*. La production de pyocyanine (pigment bleu) est stimulée en présence de chlorure de magnésium et de sulfate de potassium. Le milieu favorise également la production de pigments fluorescents (pyoverdines) par certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

❖ Technique

A partir d'une culture purifiée de bacille Gram négatif oxydase positive, la surface du milieu estensemencée, puis incubé pendant 24 heures à 37°C, voire même de préférence à 42°C (l'incubation à 42°C permet un isolement spécifique de *P.aeruginosa*).

❖ **Lecture**

Les colonies de *P.aeruginosa* développent une coloration bleue, jaune-vert.

IV.2.c) Isolement et identification des *Staphylococcus aureus*

i) Isolement

➤ **Milieu Baird Parker**

La Baird-Parker Agar (gélose Baird-Parker) est un milieu différentiel modérément sélectif servant à l'isolement et à l'énumération des *Staphylococcus aureus*.

❖ **Principe**

La gélose Baird Parker est un milieu qui exploite la capacité des staphylocoques à réduire la tellurite en tellure et à détecter la présence de lécithinase à partir de la lécithine de l'œuf. Il contient les sources de carbone et d'azote nécessaires à la croissance. La glycine, le chlorure de lithium et le tellurite de potassium jouent le rôle d'agents sélectifs. Le jaune d'œuf est le substrat qui permet de mettre en évidence la production de lécithinase. Les staphylocoques produisent des colonies de couleur gris foncé à noire, en raison de la réduction de la tellurite contenue dans le milieu.

❖ **Technique**

A partir d'une culture bactérienne, la surface du milieu Baird Parker estensemencée en stries serrées, puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

❖ **Lecture**

Les staphylocoques produisent des colonies convexes brillantes de couleur gris foncé à noire présentant un contour complet et des zones transparentes.

ii) Identification de *Staphylococcus aureus*

✓ **Test coagulase**

❖ **Principe**

Le plasma de lapin est un milieu idéal pour la recherche de la coagulase libre de *Staphylococcus aureus*. La production de la coagulase permet de différencier les souches de *Staphylococcus aureus* des autres souches.

Les souches de *Staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma le plus souvent au cours des 3 premières heures.

❖ **Technique**

Après une étape d'enrichissement sur milieu BHI de l'inoculum de *Staphylococcus* préalablement identifié, 0,5 ml de ce dernier est prélevés, ensuite 0,5 ml du plasma de lapin est ajouté, puis incubé à $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 24 h.

❖ **Lecture**

Si la coagulation se produit dans les 24 h, la souche de *Staphylococcus* est coagulase positive.

IV.2.d) Isolement et identification des coliformes et des entérobactéries

i) Isolement des coliformes fécaux

➤ **Milieu gélose VRBL :**

❖ **Principe**

La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) est un milieu sélectif utilisé pour la recherche et dénombrement des coliformes. La présence simultanée de cristal violet et de sels biliés assure l'inhibition des bactéries à Gram positif. La fermentation du lactose se traduit par une acidification, révélée par le virage au rouge de l'indicateur pH (rouge neutre), et par la précipitation d'acides biliés autour des colonies.

❖ **Technique**

A partir d'une culture bactérienne, la surface du milieu VRBL estensemencée en stries serrées, puis incubé à 44°C pendant 24 heures.

❖ **Lecture**

Seules les colonies rondes, de couleur rouge-pourpre, de 0,5 à 2 mm de diamètre sont dénombrées (**Voir annexe 3**).

ii) Identification d'*Escherichia coli*

E. coli se caractérise sur la gélose VRBL par des colonies roses à pourpre avec halo. La confirmation se fait après la réalisation des tests suivants :

✓ **Test Indole**

❖ **Principe :**

Les bactéries dégradent le tryptophane en indole grâce à une tryptophanase.

❖ **Technique :**

Le milieu d'Urée-indole estensemencé avec la culture du germe à étudier, puis incubé à 37°C pendant 24h à 48heures.

Après addition du réactif de Kovacs, le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans ce

dernier réagit avec l'indole, produit de l'activité de la tryptophanase, et forme un composé coloré en rouge.

❖ **Lecture :**

- Formation d'un anneau rouge : indole positif, donc il s'agit d'*E. coli*
- Absence d'un anneau rouge : indole négatif, il ne s'agit pas d'*E. coli*

✓ **Milieu EMB**

❖ **Principe :**

La gélose EMB ou milieu de Lévine, est utilisée pour isoler et identifier *Escherichia coli* et *Enterobacter*, ainsi que les bactéries intestinales à Gram négatif.

L'éosine et le bleu de méthylène sont deux colorants inhibiteurs et des agents faiblement sélectifs. Ils n'inhibent que partiellement le développement des microorganismes à Gram positif tels que les entérocoques. Ces colorants assurent la différenciation entre les germes lactose-positif et les germes lactose négatif.

❖ **Technique :**

A partir d'une culture bactérienne, la surface du milieu EMB estensemencée en stries serrées, puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

❖ **Lecture :**

Dans ce milieu *E. coli* donne des colonies violet foncé ; bombées faiblement confluentes, de 2 à 3 mm de diamètre, à centre noir étendu à plus des 3/4 du diamètre et qui présentent un éclat métallique verdâtre en lumière réfléchi

✓ **Milieu Citrate Simmons**

❖ **Principe :**

Dans le milieu Citrate de Simmons, le citrate est l'unique source de carbone. Son utilisation se traduit par une alcalinisation du milieu qui est révélée par le virage de l'indicateur de pH (bleu de bromothymol) au bleu et donc la souche est citrate de Simmons positive

❖ **Technique :**

A partir d'une culture bactérienne, la gélose citrate de Simmons qui est dans des tubes inclinés estensemencée en stries serrées, puis incubés à 37°C pendant 24 heures.

❖ **Lecture :**

- Virage vers le bleu (citrate+) : les souches d'*E. coli* utilisant le citrate comme source de carbone aboutissent à une coloration bleu du milieu.
- Pas de virage (citrate-) : les bactéries n'utilisant pas le citrate donc ne se cultivent pas, ne sont pas des *E. coli*.

✓ **Milieu lactose-glucose-H₂S (Hajna-Kligler)**

Ce milieu est un milieu complexe, qui permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques. Il est très utilisé dans l'identification des Enterobacteriaceae.

❖ Principe

Le milieu Kligler-Hajna est un milieu différentiel de couleur rouge qui permet de confirmer la fermentation du glucose et du lactose, la production des gaz, et aussi la réduction des composés soufrés qui se traduit par la production de H₂S. Comme les milieux contiennent des sels de fer, la production de H₂S est révélée par la formation du sulfure métallique de couleur noire.

❖ Technique

A partir d'une culture purifiée de bacille Gram négatif oxydase négative, la pente du milieu Kligler est ensemencée en stries serrées et parallèles, et le culot par piqûre centrale, puis incubé à 37±1°C pendant 18 à 24 h.

❖ Lecture

- Si la souche fermente le lactose, la surface inclinée vire au jaune ; Sinon, sa couleur reste inchangée.
- Si la souche fermente le glucose, le culot vire au jaune. Sinon ; sa couleur reste inchangée.
- Si la souche produit H₂S, il se produit un noircissement de la zone joignant le culot à la pente.

Si la souche produit du gaz, cela se traduit par la présence de bulles de gaz au niveau du culot.

Les souches d'*E. coli* fermentent le glucose et lactose contenu dans le milieu ce qui aboutit à une coloration jaune du culot et de la pente.

iii) Identification des entérobactéries par Galerie Api 20E

❖ Principe :

L'Api 20E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteraceae et autres bacilles Gram-négatifs non fastidieux, elle comporte 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

Son principe est basé sur une fermentation et une oxydation de 10 sources de carbone et l'utilisation de 10 tests enzymatiques par les Enterobacteraceae gram négatifs ; L'Api 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs. La lecture des réactions se fait à l'aide

du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

❖ **Technique**

a- Préparation de la Galerie :

La référence de la souche est inscrite d'abord dans la languette latérale de la boîte fermée. Ensuite une atmosphère humide est créée en répartissant 5ml d'eau distillée dans les alvéoles du fond de la Galerie qui est placée dans la boîte d'incubation.

b- Préparation de l'inoculum :

Réaliser une suspension bactérienne bien homogène par ensemencement d'une colonie provenant d'une culture jeune (18 à 24h) dans un tube stérile contenant 5ml d'eau physiologique stérile.

c- Inoculation de la Galerie :

Introduire la suspension dans la galerie : on crée l'anaérobiose en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine ; pour les tests CIT, VP, GEL, on remplit les tubes et les cupules et enfin pour les autres tests non soulignés on remplit uniquement les tubes. Ensuite, on met la boîte d'incubation dans l'étuve à $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, pendant 18 à 24h.

d- Lecture de la Galerie

Elle doit se faire en se référant au tableau de lecture. Les tests : TDA, IND et VP sont révélés après addition des réactifs : on ajoute une goutte du réactif JAMES pour le TDA et on ajoute une goutte des réactifs VP1 et VP2 pour les tests IND et VP.

e- Interprétation

La détermination du profil numérique se réalise sur une fiche de résultat, dont les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie Api 20E comporte 20 tests ; on réalise aussi la réaction de l'oxydase qui constituera le 21ème test, celle-ci est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive. On additionne à l'intérieur de chaque groupe, (chaque groupe correspond à 3 tests, ce qui fait un total de 7 groupes si on leur ajoute le test de l'oxydase), la somme de valeurs correspondantes aux réactions positives et on obtient 7 chiffres.

f- Identification

Elle est réalisée à partir de la base des données à l'aide du catalogue analytique, on recherche le profil numérique dans la liste des profils.

V- Outil d'analyse

La saisie et le traitement des données ont été faits à l'aide du programme Excel

Chapitre 3 :

Résultats et discussion

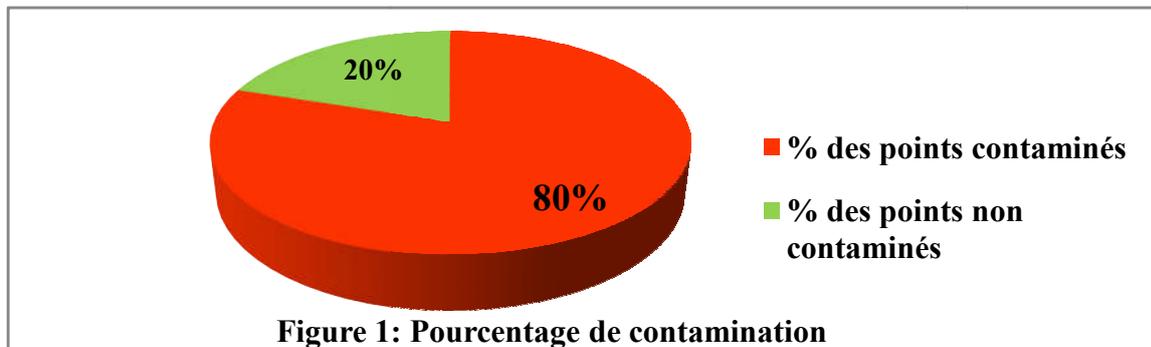
I- Résultats

Sur une période de deux mois, 20 prélèvements ont été réalisés sur les surfaces d'une cuisine d'un restaurant, au cours de cette étude un total de 54 souches a été isolé et identifié.

Ces prélèvements ont concerné des échantillons à partir de différents points des surfaces, 8 prélèvements à partir d'une planche de découpage, 2 prélèvements à partir d'un appareil de broyage, d'un couteau, d'une balance, 1 prélèvement à partir d'un mixeur et d'une spatule et 4 prélèvements à partir d'un évier.

1- Niveau de contamination des surfaces :

Sur les 20 prélèvements réalisés, 16 points ont été contaminés alors que 4 points étaient exempt de contamination bactérienne. Le résultat de cette étude est présenté dans la figure 1.



Le niveau de contamination microbiologique des surfaces de cuisine a montré que le pourcentage de contamination des surfaces est de 80%.

Ces résultats peuvent être dû essentiellement au non respect des procédures de nettoyage et désinfection de ces surfaces

❖ Niveau de contamination selon les points de prélèvements :

Tableau 2 : Pourcentage de contamination selon les points de prélèvement

points de prélèvements	nombre de points analysés	Nombre de points contaminés	% de contamination
Planche à découper	8	7	33,33%
Appareil de broyage	2	2	14,07%
Balance	2	1	7,13%
Evier	4	3	17,22%
Mixeur	1	1	7,13%
Couteau	2	2	14,07%

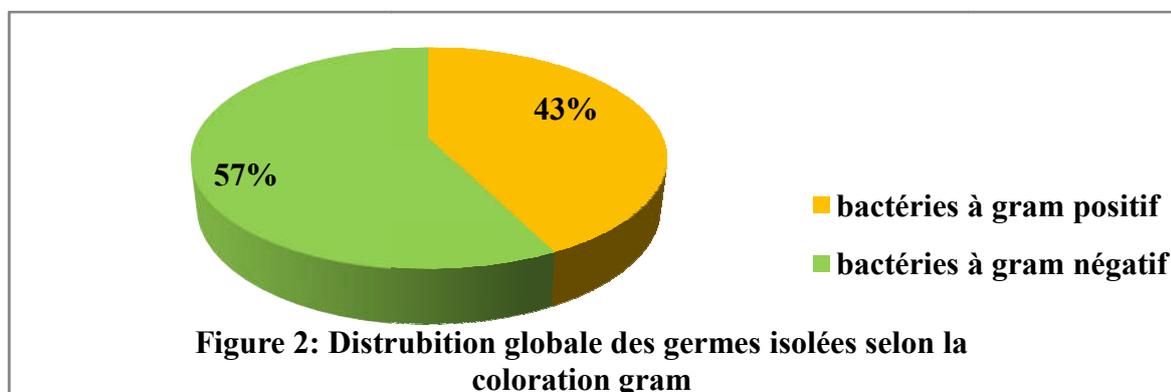
Spatule	1	1	7,13%
---------	---	---	-------

D'après les résultats obtenus, la surface planche à découper représente le degré de contamination la plus élevée avec un pourcentage de 33,33%, suivi par l'évier qui a été contaminé avec un pourcentage de 17,22%, l'appareil de broyage et le couteau (14,07%) et finalement une balance, mixeur, spatule qui sont représenté par 7,13%

La planche à découper est en plastique donc il peut garder des microorganismes qui reste accrochés sur sa surface ce qui favorise la multiplication et la survie des microorganismes.

2- Répartition des germes selon le Gram

Dans cette étude, 54 isolats ont été obtenus avec une prédominance des bactéries Gram négatif (57%), contre 43% pour les bactéries Gram positif (Figure 2).



3- Identification des bactéries à Gram positif

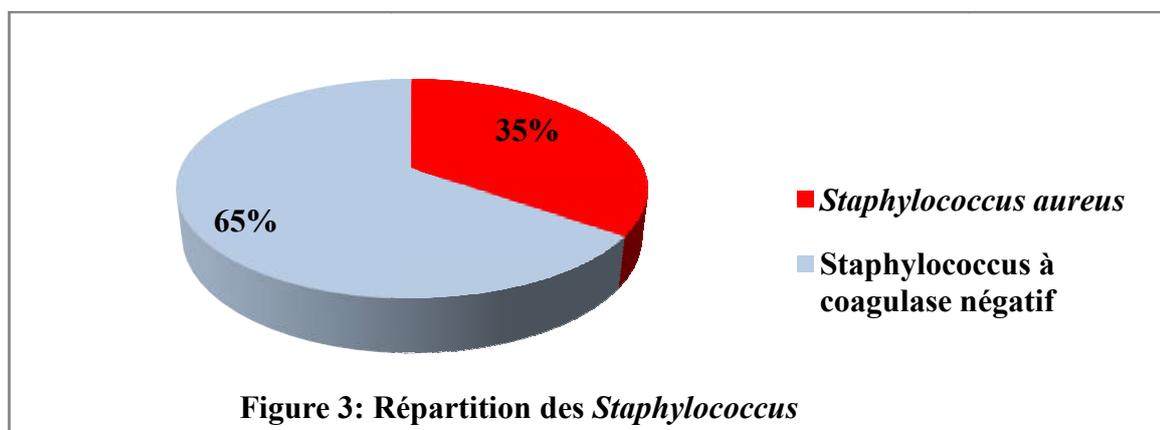
Un total de 23 isolats de cocci à gram positif a été obtenu. L'identification biochimique de ces isolats a permis de distinguer deux profils :

- Des isolats à coagulase positive : *Staphylococcus aureus*
- Des isolats à coagulase négative : *Staphylococcus* à coagulase négatif

Tableau 3 : Aspect des colonies et test coagulase des *Staphylococcus* identifiés

Souches identifiées	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Staphylococcus</i> à coagulase négative
Profil Biochimique		
Aspect sur milieu Baird Parker	colonies grises noirs, brillantes, bombées, entourées d'une zone claire	colonies grises noirs entourées des halos opaques
Coagulase (Plasma de lapin)	Positive	Négative

Staphylococcus à coagulase négatif a été la plus dominante (65%), par rapport aux *Staphylococcus aureus* qui a été représenté par 35%, le résultat est présenté dans la figure 3 :



Dans notre étude *Staphylococcus* à coagulase négative était la plus dominante, ce genre de bactéries est actuellement reconnu comme de véritables pathogènes peuvent contenir des gènes d'entérotoxine et de nombreux cas d'intoxication alimentaire de SCN par ingestion des denrées contaminés sont rapportés, mais malgré ça *Staphylococcus aureus* possède le pouvoir pathogène le plus élevé, en effet *Staphylococcus aureus* est un pathogène opportuniste qui peut causer diverses maladies chez les humains. Cette bactérie est une des principales causes de toxi-infections alimentaires, résultant de la consommation d'aliments contaminés par des entérotoxines, D'autres affections cutanées peuvent être causées par ces toxines exfoliatives : phlyctènes, perte cutanée, papules, furoncles, impétigo, folliculite, abcès, piètre contrôle thermique, perte de liquide et infection secondaire. *S. aureus* peut également causer une fasciste nécrosante chez les sujets immunodéprimés, mais c'est très rare. La fasciste nécrosante est une maladie potentiellement mortelle qui s'accompagne d'une importante morbidité.

4- Identification des bactéries à Gram négatif

Un total de 31 isolats a été identifié. Les tests biochimiques et la Galerie Api 20E ont permis l'obtention de 4 profils comme décrit sur le tableau 3

Tableau 4 : Profil biochimique des entérobactéries identifiées

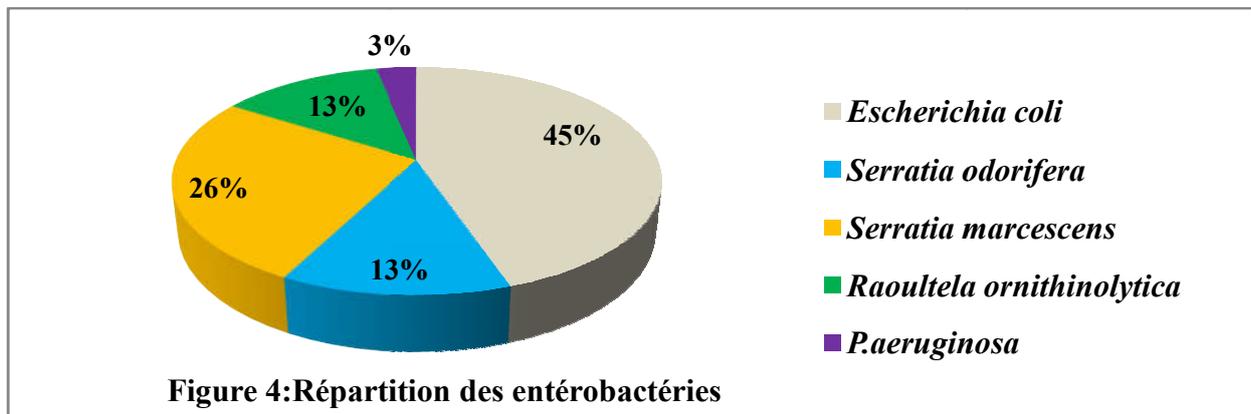
Profil Biochimique	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX
Souches																					

identifiées																					
<i>Serratia marcescens</i>	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
<i>Serratia odorifera</i>	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-

ONPG : Orthonitrophényl-β-galactoside; ADH : Arginine dihydrolase; LDC: lysine décarboxylase; CIT: Citrate; URE: Uréase; TDA: Tryptophane désaminase; IND: Indole; VP: Voges-Proskauer ; GEL: Gélatine; GLU : Glucose; MAN: Mannose; INO: Inositol ; SOR: Sorbitol; RHA: Rhamnose ;SAC: Saccarose; MEL: Mélasse; AMY: Amygdaline; ARA: Arabinose; OX: Oxydase.

Cette identification a montré une prédominance d'*Escherichia coli* (45 %), suivie par *Serratia marcescens* (26 %), *Serratia odorifera* et *Raoultella ornithinolytica* (13%). Cependant, la caractérisation biochimique des bacilles gram négatif non fermentaires a permis l'identification des *Pseudomonas aeruginosa* avec une fréquence de 3 %.

La figure 4 représente les résultats obtenus :



Cependant *Escherichia coli* possède un pouvoir pathogène élevés par rapport aux autres entérobactéries identifiés, sont pouvoir pathogène s'exprime dans certaines circonstances (pathogène opportuniste) :

- **Par pénétration par voie urétrale ascendante** (contigüité) dans l'arbre urinaire, à l'origine de cystite (infection limitée à la vessie, sans fièvre) et de pyélonéphrite (infection du rein avec fièvre et bactériémie).
- **Par essaimage à point de départ digestif** : cholécystite suppurée, péritonite, septicémie.

Les autres entérobactéries possèdent aussi un pouvoir pathogène :

- *Serratia* est considéré comme un pathogène surtout nosocomial, les espèces de *Serratia* sont des agents pathogènes opportunistes ; elles sont à l'origine d'une multitude d'infections, dont la bactériémie, la pneumonie, les infections liées aux cathéters intraveineux, l'ostéomyélite, l'endocardite et, rarement, l'endophtalmie endogène et exogène.

- *Raoultella ornithinolytica* est responsable de plusieurs infections notamment les infections urinaires, les infections gastro-intestinales et les infections des plaies et la bactériémie.

P.aeruginosa peuvent être aussi pathogène pour l'homme :

- *P. aeruginosa* est une espèce classée dans les pathogènes opportunistes. Les infections pourront avoir une origine endogène ou exogène. C'est un agent pathogène essentiellement responsable d'infections nosocomiales. Dans les infections communautaires, elle est responsable principalement de broncho-pneumopathies évoluant sur un mode chronique dans la mucoviscidose et les affections respiratoires dues à la dilatation des bronches ; d'otites externes, d'endophtalmies après traumatisme, d'infections cutanées dans les ulcères.

5- Répartition des germes selon les points de prélèvements :

Tableau 5 : Distribution des germes selon les points de prélèvement

Les germes	Les points contaminés	Fréquence des germes
<i>S.aureus</i>	Planche à découper	42,85%
	Couteau	14,28%
	Evier	14,28%
	Appareil de broyage	14,28%
	Mixeur	14,28%
SCN	Planche à découper	40%
	Appareil de broyage	20%
	Balance	20%
	Evier	20%
<i>E. coli</i>	Planche à découper	8,33%
	Evier	16,66%
	Balance	8,33%
<i>Serratia odorifera</i>	Planche à découper	8,33%
	Appareil de broyage	8,33%
<i>Serratia marcescens</i>	Planche à découper	8,33%

	Balance	8,33%
	Spatule	8,33%
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	Planche à découper	8,33%
	Couteau	8,33%
<i>P.aeruginosa</i>	Planche à découper	8,33%

D'après les résultats obtenus dans le tableau 2, on note que les différents points de surfaces présentent des contaminations. Toutefois, la surface planche à découper représente le degré de contamination le plus élevé puisqu'elle renferme tous les germes étudiés.

Dans notre étude les planches à découper sont faites en plastique, il a mis en évidence que les planches à découper en plastique gardaient les bactéries dans les petites cavités faites par les entailles des couteaux notamment. Malgré le lavage, les bactéries ne sont pas éliminées et se reproduisent.

II- Discussion

La plupart des maladies d'origine alimentaire (TIAC) sont dues à la mauvaise qualité de la matière première ainsi qu'au processus de fabrication dans les établissements de production alimentaire, mais une proportion importante peut également résulter d'une mauvaise manipulation [16]. Un niveau élevé d'hygiène dans le milieu de travail, en particulier sur les surfaces, les équipements et les installations de contact avec les aliments, est une condition fondamentale pour la prévention de la contamination microbienne des aliments [17].

Sur 20 prélèvements de surface réalisés, nous avons noté la présence des germes dans 16 cas, ce qui correspond à un pourcentage de contamination de 80%. Cette contamination élevée pourrait tirer la sonnette d'alarme sur le mode d'entretien appliqué.

Ce pourcentage varie d'une surface à l'autre. En effet **Garayoa et al.**, avaient trouvé un résultat différent, ils ont noté un pourcentage de contamination de 40% [18]. Il serait nécessaire qu'un plan de nettoyage et de désinfection précis et adéquat soit établi.

L'identification des germes isolés des prélèvements de surface a montré la prédominance des bactéries à gram négatif par rapport aux bactéries à gram positif, ces résultats concordent avec les résultats trouvés par **Yildirim et al.**, qui avaient noté aussi la prédominance des bactéries à gram négatif [19].

L'identification biochimique des bactéries à gram positif a montré la prédominance des staphylocoques à coagulase négatif par rapport aux *Staphylococcus aureus*, ces résultats ne concorde pas avec les résultats trouvés par **Yildirim et al.**, qui ont noté la prédominance des *Staphylococcus aureus* par rapport aux staphylocoques à coagulase négatif [19]. Durant notre étude le pourcentage des SCN était important, ce genre de bactéries est actuellement reconnu comme de véritables pathogènes [20]. Les SCN peuvent également contenir des gènes d'entérotoxine et de nombreux cas d'intoxication alimentaire de SCN par ingestion des denrées contaminés sont rapportés [21]. *Staphylococcus aureus* est très fréquent à l'état commensal et pathogène, il peut devenir pathogène et être responsable d'infections cutanées : furoncles, panaris, abcès, impétigo... et de certaines infections ORL (oto-rhino-laryngologie) : angines, otites, sinusites... il est impliqué aussi dans les infections nosocomiales [21].

L'identification biochimique des bactéries à gram négatif a montré une prédominance d'*Escherichia coli* suivi par *Serratia marcescens*, puis *Serratia odorifera* et *Raoultella ornithiaolytica*, les *Pseudomonas sp* ont été aussi isolés mais avec un très faible pourcentage,

ces résultats concorde avec les résultats trouvés par **Perez-Rodriguez et al.**, qui ont noté la prédominance d'*E. coli* [22]. Cependant *Escherichia coli* peut aussi devenir un agent pathogène responsable de différents types d'infections : infections urinaires, diarrhées, cholécystites. Il peut aussi être impliqué dans des infections nosocomiales. La présence des entérobactéries, qui sont associées à la contamination fécale, souligne les faiblesses potentielles résultant d'une mauvaise hygiène et une défaillance dans les procédures de nettoyage et de désinfection [23].

Le pourcentage de contamination des surfaces varie d'un point à l'autre. Dans notre étude les planches à découper présentent le degré de contamination le plus élevé. Ce résultat concorde avec celui trouvé par **Oliveira et al.**, qui avait noté que la surface planche à découpé représente le degré de contamination la plus élevés [24], mais ne concorde pas avec les résultats trouvées par **Garayoa et al.**, qui ont noté que les surfaces les plus contaminés parmi les surfaces de contact alimentaire analysées correspondaient aux assiettes [20]. Les planches à découper ont des surfaces irrégulières et leur matière de base varie. Leurs nettoyage est plus difficile, si un protocole de désinfection approprié n'est pas suivi, ce qui favorise la survie des microorganismes [25].

Conclusions, recommandations et perspectives :

Au terme de ce travail, les résultats des analyses microbiologiques ont révélé la présence des bactéries notamment les entérobactéries, les staphylocoques et *Pseudomonas aeruginosa*. Cette contamination est due essentiellement à un dysfonctionnement dans la procédure d'entretien des surfaces. Cette étude a permis de mettre en évidence l'importance du contrôle microbiologique en restauration. Compte tenu du rôle central de l'hygiène des surfaces en restauration collective, des améliorations peuvent être apportées et des protocoles et des procédures doivent être rédigés, validés et régulièrement évalués, comme par exemple :

- Application d'un plan de nettoyage et désinfection.
- Réalisation des opérations de nettoyage et désinfection en absence des denrées alimentaires (ou alors les protéger pour éviter les contaminations)
- Le choix des produits de nettoyage et désinfection en fonction de leur efficacité, de leur compatibilité avec les matériaux.
- Surveillance des opérations de nettoyage et désinfection
- Vérification de l'efficacité du nettoyage et désinfection.

Références bibliographiques :

- [1] Tomasevic, I et al., (2016). The effects of mandatory HACCP implementation on microbiological indicators of process hygiene in meat processing and retail establishments in Serbia. *Meat science*, Vol. (114), 54–57
- [2] Losito, P et al., (2017). Evaluation of hygienic conditions of food contact surfaces in retail outlets: Six years of monitoring, Vol. (77), 67-71
- [5] Walker, E et al., (2003). Hazard analysis critical control point and prerequisite programme implementation in small and medium size food business *Food control*, Vol. (14), 169-174
- [6] McSwane, D et al., (2003). *Essentials of food safety and sanitation (3rd ed.)*- New Jersey. Pearson Education, Vol. (4), 69_196
- [8] Gassama, D (2002). Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale dans les filets de sole : étude comparative des méthodes d'analyse et des résultats de deux laboratoires, Université cheikh anta diop de dakar, 46pages
- [9] Elmund, GK et al., (1999). Comparison of *Escherichia coli*, total coliform and fecal coliform populations as indicators of wastewater treatment efficiency. *Water Environ. Res*, Vol. (71), 332-339.
- [11] Licitra, G. (2013). Etymologia : *staphylococcus*. *Emerg Infect Dis* [Internet] Vol. (19), 82-105
- [12] Wertheim, HF et al., (2005). The role of nasal carriage in *staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect*, Vol. (5), 751-62
- [13] Bes, M., and Brun, Y. (2002). *Staphylococcus* : actualités taxonomiques et identification. *Rev Fr Lab*, Vol. (17) 23-30.
- [14] Philip, et al., (2009). Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms, Vol. (22), 45-94
- [15] EL Meskini, K (2011). Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Université Mohammed V- Soussi faculté de médecine et de pharmacie – rabat, 117 pages

[16] Ismail, R et al., (2013). Methods for recovering microorganisms from solid surfaces used in the food industry: A review of the literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, Vol. (34), 16- 25

[17] Osimani, A et al., (2014). Bioluminescence ATP monitoring for the routine assessment of food contact surface cleanliness in a university canteen. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, Vol. (11), 9-17

[18] Garayoa, et al., (2017). Essential tools for food safety surveillance in catering services: On-site inspections and control of high-risk cross-contamination surfaces. *Food science*, Vol. (75), 48-54

[19] Yildirim, Y et al., (2017). Microbiological quality of pastrami and associated surfaces at the point of sale in Kayseri, Turkey. *Public health*, Vol. (32), 17-56

[20] Garayoa, R et al., (2014). Catering services and HACCP: Temperature assessment and surface hygiene control before and after audits and a specific training session. *Food control*, Vol. (43), 193-198

[21] Abouda, Y et al., Evaluation de La Qualité Bactériologique Des Aliments Servis à L'hôpital de Sousse (Tunisie) Entre 2005 et 2010', *Nutrition Clinique et Métabolismes*, 28.3 (2014), 164–70

[22] **Perez-Rodriguez et al., (2010).** Extracting additional risk managers information from a risk assessment of **Listeria monocytogenes** in deli meats. **Food Prot**, 2007(70), 1137-52.

[23] Lues, J. F. R. and Van Tonder, I. (2007). The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group. *Food Control*, 18(4), 326–332.

[24] Oliveira, A et al., (2014). Hygiene and good practices in school meal services: Organic matter on surfaces, microorganisms and health risks. *Food control*, Vol. (40), 120-126

[25] Campdepadros, M et al., (2012). Effectiveness of two sanitation procedures for decreasing the microbial contamination levels (including *Listeria monocytogenes*) on food contact and non-food contact surfaces in a dessert-processing factory. *Food Control*, 23(1), 26-31

Webographie :

[3] Portail régional de la restauration collective. www.restocoaquitaine.com/restauration-collective/definition-et-fonctionnement-des-services-de-restauration-collective (page consultée le 1/05/2017)

[4] Centre de Gestion de l'Oise de la Fonction Publique Territoriale http://www.cdg60.com/guide_bonnes_pratiques_fiche_pratique_cdg60-hygiene_alimentaire, 1999 (Page consultée le 1/05/2017).

[7] Guide de bonnes pratiques d'hygiène de la restauration collective de plein air des accueils collectifs de mineurs, Edition 2010 (Page Consultée le 09 /05/2017)

[10] Organisation mondiale de santé (OMS). www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/fr/ (Page consultée le 28 /04 /2017).

[26] <http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieus.html> (page consultée le 20/05/2017)