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

Projet de Fin d'Etudes

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

CONTROLE MICROBIOLOGIQUE DES EPICES COMMERCIALISES DANS LA VILLE DE FES

Présenté par :
Abdelouahab EL-AZAAR

Encadré par :
-Pr. FIKRI BENBRAHIM Kawtar (FSTF)
-Mr. CHRIGUI Mohamed (LRDEHM)

Soutenu le : 11/06/2019

Devant le jury composé de :

- Pr. A.AZZOUZI
- Pr. A.ALAOUI BELRHITI
- Mr. M.CHRIGUI

A Laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu (LRDEHM)

Année universitaire
2018/2019

A ma mère, à mon père
Pour le soutien, la patience et
les sacrifices dont ils ont fait
toujours preuve.

A mes frères
A mes sœurs, et surtout Nora
A toute ma famille
A mes amies
A tous ceux qui me sont chers.

Je dédie ce travail

Abdelouahab

Remerciements

Je tiens à remercier madame **Kawtar FIKRI BENBRAHIM,** pour ses conseils, ses compréhensions et surtout pour son soutien.

Il m'est très agréable de remercier monsieur **Mohamed CHRIGUI**, pour l'honneur qu'il m'a fait de m'encadrer au cours de ce travail.

Je tiens également à remercier tous **mes maîtres et mes professeurs** qui ont participé à ma formation durant les années de mes études. Je tiens à remercier tous **les membres de jury** d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail, qu'ils trouvent ici l'expression de mon grand respect.

Enfin je n'oubliais pas de remercier tous **mes collègues** pour leur aide et encouragement.

Liste des figures & Tableaux

Les figures

Figure 1: Photos d'épices étudiées…… 8

Figure 2: Gélose PCA……11

Figure 3: Gélose Baird Parker……12

Figure 4: Test DNase ……12

Figure 5: Test Coagulase ……..13

Figure 6: Gélose VRBL ……14

Figure 7: Gélose Sabouraud ……..14

Figure 8: Gélose SPS…….. 15

Figure 9: Gélose Hecktoen……16

Figure 10: Gélose Hajna-Kligler …… …. ….17

Figure 11: Test Uréase …… …… ……. 18

Figure 12: Test Indole …… 18

Figure 13: % de non-conformité globale …….. 21

Figure 14: % de non-conformité par catégorie d'épices…….... 21

Figure 15: Distribution de la positivité des germes……22

Les tableaux

Tableau 1: Critères microbiologiques pour les épices……...7

Tableau 2: Résumé des méthodes d'analyse bactériologique utilisée……... .. 9

Tableau 3: Dénombrement des microorganismes dans les épices traditionnelles……. .. 19

Tableau 4: Dénombrement des microorganismes dans les épices d'industrie..... ..20

Liste d'abréviation

LRDEHM: Laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et l'hygiène de milieu

TIAC: Toxi-infections alimentaire collective

IA: Intoxications alimentaires

OMS: Organisation mondiale de la santé

AFSSA: Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ISO: Organisation internationale de normalisation

NM: Norme marocaine

FMAT: Flore mésophile aérobie totaux

CF: Coliformes fécaux

L+M: Levures et moisissures

ASR: Anaérobie sulfito-réducteurs

PCA: Plate Count Agar

EPT: Eau péptoné tamponné

VRBL : Gélose lactosée biliée au cristal violet et que rouge neutre

BP: Baird Parker

SPS: Sulfite Polymyxin Sulfadiazine Agar

RP: Bouillon Rappaport Vassiliadis

HK: Hecktoen

BHI: Brain Heart Infusion

DNase: Activité désoxyribonucléase

ONPTG: Ortho-nitro-phényl-1-thio-β-D-galactoside

ONSSA: Office National de Sécurité Sanitaire des Produits Alimentaires

DGCCRF: Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes

Sommaire

INTRODUCTION GÉNÉRALE …… 1

CHAPITRE I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE…… 4

I. Introduction …… . 4

1. Historique …… 4

2. Valeur nutritive des épices …… 4

3. Flaveur des épices…… 4

4. Normes de contrôle de la qualité des épices…… 5

5. Conservation des épices …… 5

II. Risques liés aux consommations des épices contaminés …….. 5

1. Risques……..... 5

2. Mesures à réduction de la charge microbienne…….. .6

III. Normes de validation des épices…… 7

CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES…… 8

I. Conditions du travail …… …… 8

1. Type et période d'étude …….. 8

2. Epices étudiées…… 8

3. Lieu de prélèvements…….. 8

4. Lieu d'étude…… 8

5. Prélèvements, acheminement, transport et réception des échantillons au laboratoire……..8

II. Analyse de la qualité microbiologique des épices…… 9

1. Préparation d'échantillon…… 9

2. Microorganismes dénombrés ou recherchés……10

2.1. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale ……..... 10

2.2. Dénombrement de *Staphylococcus aureus*…… *11*

2.3. Dénombrement des coliformes thermo-tolérants …… …13

2.4. Recherche des levures et des moisissures …….. 14

2.5. Dénombrement des ASR ……. …14

2.6. Recherche des salmonelles… ……...….15

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION…… ...… .19

I. Résultats…… … ...…19

I.1. Epices vendues de manière traditionnelle…… …… …… … .. . 19

I.2. Epices produites par des entreprises…… ……...20

II. Discussion …… …. .. 23

CONCLUSION & RECOMMANDATIONS …….. 24

RÉFÉRENCES …….. 25

ANNEXES……... 26

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Actuellement le marché des épices est en pleine évolution et laisse présager un avenir important à cette industrie. La commercialisation en l'état ou en poudre reste encore de nos jours, le principal débouché de ces produits qui doivent subir, pour une bonne conservation des traitements simples tels que : fermentation, blanchiment et déshydratation partielle qui voit progressivement la disparition du séchage au soleil au profil du séchage au fuel.

Cependant, quel que soit le soin apporté dans la préparation de ce type de produits, de nombreux inconvénients demeurent **(Richard, 1985)**.

Sur le marché local, les épices les plus fortement demandées sont le paprika, le poivre blanc et noir et le cumin qui représentent 80% de la consommation totale. Celle du poivre noir et blanc se monte à près de 4500 tonnes par an, dont 98% sont vendus en vrac. Le reste est emballé en petits sachets pour la vente dans les supermarchés et grandes surfaces **(L'Economiste, 01/06/1995)**.

Le Brésil demeure le principal fournisseur de poivre pour le Maroc (entre 79 et 80%). Selon les professionnels, le marché intérieur des épices au Maroc concerne essentiellement les ventes en vrac de produits non traités. Ceux-ci s'élèvent à environ 90%, commercialisés dans les souks ou sur des étalages chez l'épicier ou "le âatar".
Les professionnels déplorent l'absence de contrôle de qualité à tous les stades: production, traitement et mise en vente. Les semences ne sont pas toujours de bonne qualité, les produits sont le plus souvent à l'air libre, donc exposés à différentes contaminations d'insectes ou encore perdent de leur saveur par évaporation de l'huile des essences. De plus, certains commerçants vont jusqu'à utiliser des colorants artificiels pour renforcer la couleur rouge du paprika **(L'Economiste, 01/06/1995)**.

Les épices appartiennent au secteur des condiments et assaisonnements, secteur ayant en 10 ans progressé de plus de 35 % en volume et de près de 45 % en valeur. Les origines exotiques, les conditions de production (une faible partie de la plante est utilisée seulement), les aléas climatiques auxquels elles sont régulièrement soumises font leur rareté. De ce fait, elles sont l'objet de fortes tensions économiques, qui peuvent générer des hausses des prix, ou entraîner la commercialisation de produits dont la qualité fait défaut **(DGCCRF, 2011)**.

Aujourd'hui, seuls près de 10% des épices vendues au Maroc sont traitées selon les normes **(L'Economiste, 01/06/1995).**

Bien que, les épices sont parmi les produits qu'on utilise de façon importante et surtout dans les préparations culinaires et le domaine pharmaceutique, le contrôle de ces derniers reste obligatoire afin d'assurer l'assurance sanitaire et d'éviter les intoxications.

Dans ce contexte, une étude a été conduite pour évaluer la qualité hygiénique des épices commercialisés dans la ville de Fès.

Les objectifs de cette étude sont :

- Evaluer la qualité hygiénique ou microbiologique des épices,
- Déterminer les principaux germes en cause,
- Comparer entre la qualité hygiénique des épices vendues de manière traditionnelle et celle produites par des entreprises.

Ce travail comporte une revue bibliographique, suivie par matériel et méthodes, résultats et discussion et enfin une conclusion et recommandations.

Présentation du service d'accueil

Le Laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu (LRDEHM) de Fès est un laboratoire qui se trouve juste à côté d'Hôpital ELGHASSANI Dhar Mehraz, accrédité selon NM ISO/CEI 17025-2005. Il est ainsi certifié aux normes internationales de recherche, diagnostic et analyse. Relevant de la direction régionale de la santé de Fès-Boulemane, le laboratoire a montré durant son processus d'accréditation qu'il est capable de fournir et produire des analyses fiables et de haute qualité.
Par ce titre, le **LRDEHM** devient le premier laboratoire régional du ministère de la Santé à avoir obtenu une telle accréditation. Ce qui permettra la réalisation de l'ensemble des perspectives tracées dans les meilleurs conditions et délais.
Le **LRDEHM** de Fès est un laboratoire à visée préventive. Existant depuis les années 1980, et constitué d'une équipe de 12 personnes et d'un chef de service, le laboratoire surveille l'environnement humain et développe ses activités autour de quatre principaux pôles. A commencer par la **surveillance sanitaire des maladies à transports hydriques** (gastro-entérites, typhoïdes, hépatites, choléra...) à travers la réalisation d'analyses microbiologiques et physicochimiques de tous les types d'eaux, notamment les eaux de boisson, eaux de soins en milieu hospitalier, eaux de baignade, eaux de surfaces, eaux usées, eaux thermales, eaux minérales... Le laboratoire assure aussi **le contrôle sanitaire des maladies à transports alimentaires** (intoxication, toxi-infections alimentaires collectives -TIAC-) à travers la réalisation d'analyses microbiologiques de tous les types d'aliment, il y a aussi **l'unité des maladies parasitaires** via le diagnostic microscopique du paludisme, de la leishmaniose cutanée et de la bilharziose. Enfin, le laboratoire s'occupe aussi de **la surveillance des vecteurs de maladies à travers l'identification des moustiques larves et adultes et leurs testes de sensibilité OMS vis-à-vis des insecticides (l'Economiste, 16/03/2013).**

CHAPITRE I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Introduction

Les épices peuvent se définir de façon générale comme des produits d'origine végétale utilisés dans notre alimentation pour assaisonner les plats ; ils apportent une flaveur originale à la préparation culinaire, dans laquelle ils sont incorporés, et sont pour une bonne part responsable des plaisirs de la table. La distinction qui selon l'auteur a semblé la plus pertinente entre les épices et les herbes aromatiques est celle faite par leurs voisins anglo-saxons : ils utilisent deux termes *spices* pour épices et herbes pour aromates. Cette vision permet de restreindre la notion d'aromate à la partie herbacée (frais ou séché) des plantes, réservant au terme épices le soin de regrouper l'ensemble des produits aromatiques dépourvus de chlorophylle. Quand au condiment, ce vocabulaire est réservé à une préparation élaborée à partir d'un mélange d'épices, d'herbes aromatiques et autres ingrédients, dont l'objet est de relever la saveur des aliments **(Richard et Loo, 1992)**.

1. Historique

Historiquement, les mentions les plus anciennes de l'usage de ces produits remontent à 4000 ans avant J.-C. : un papyrus égyptien rapporte que les chinois connaissaient à cette époque la coriandre… A peu près en même temps, en Inde, ils utilisaient déjà le poivre, le curcuma pour agrémenter le riz omniprésent. Il apparaît que les Egyptiens employaient 3000 ans avant J.-C., à peu près les mêmes produits que les chinois. La Bible, et en particulier le Cantique des Cantiques, mentionne également un certain nombre d'épices. En Europe, c'est, semble-t-il, sous Charlemagne que l'usage s'en est répandu. Au Moyen Age, la plupart des fruits et légumes actuels étant inconnus, ils ont recouru aux épices pour introduire de la variété dans l'alimentation et leur usage s'est rapidement développé, comme en témoignent les premiers livres de cuisine et, par exemple, le fameux Ménagier de Paris paru en 1393. Les conséquences de cet engouement sur l'histoire du monde : encouragement à la découverte des pays exotiques, conquête de la route des épices, etc. **(Hariel, 1992)**.

2. Valeur nutritive des épices

Les épices sont des substances dont la valeur nutritive directe est négligeable ; ils interviennent seulement pour relever la saveur et modifient certains caractères sensoriels. Les doses excessives des épices peuvent avoir des effets nocifs, de même elles sont contre indiquées dans une série de maladies gastrites, néphropathies etc. **(Richard et Loo, 1992)**.

3. Flaveur des épices

La notion de flaveur des épices recouvre l'ensemble des perceptions olfacto-gustatives : odeur, arôme et saveur. Les constituants responsables de ces perceptions sont des composés volatils et sapides, qui appartiennent tous aux différentes classes de la chimie organique ; ils n'ont aucune valeur nutritive. Ces constituants sont susceptibles d'être dégradés par la chaleur et la lumière. Certains épices donnent parfois la sensation de

provoquer un changement de température dans la bouche. Les auteurs appellent cette sensation la « pseudo-chaleur ». Ce phénomène important et, bien connu est la sensation de froid et de fraîcheur communiquée par la menthe ou l'effet de feu occasionné par le piment enragé **(Richard et Loo, 1992)**.

4. Normes de contrôle de la qualité des épices

Les épices sont utilisés par les industries de l'alimentation, de la parfumerie et de la pharmacie. Dans tous les cas, ces produits sont considérés comme des matières premières et le contrôle de la qualité est une nécessité d'autant plus grande que leurs origines commerciales sont très souvent différentes et géographiquement très hétérogènes. Ces produits sont destinés à apporter une flaveur (odeur et saveur) à des aliments mais sans véhiculer des produits toxiques ou dangereux, en quantités nocives. Mais dans tous les cas, une constance dans la composition chimique se traduit par une constance du pouvoir aromatisant et une constance dans l'innocuité (absence de toxicité aux doses normales d'emploi). Le contrôle de la qualité des épices est obligatoire comme pour toutes les matières premières utilisées en milieu industriel. Ce contrôle a lieu lors des transactions commerciales (examen d'échantillon), soit lors de l'utilisation industrielle (contrôle de la qualité des matières premières lors de la réception). Ces contrôles de la qualité ont pour but d'assurer l'acheteur de la conformité de la matière première à ce qu'il désire.

5. Conservation des épices

La plupart des épices proviennent de pays à climat tropical ou subtropical, particulièrement favorable au développement microbien. De cet état de fait, renforcé dans son effet par une récolte et un stockage douteux à l'origine sur le plan de l'hygiène, résultera une épice fortement contaminée par des bactéries et des moisissures. Si tous les germes dégradent les aliments et réduisent, par conséquent leur durée de conservation, certaines espèces retrouvées dans les épices présentent de plus un caractère pathogène pour le consommateur.

Des cas, heureusement rares, de contamination par Salmonella sont relevés dans la littérature scientifique. Les streptocoques fécaux sont rencontrés dans 50% des échantillons contrôlés. Les coliformes sont aussi très souvent mis en évidence. Grâce à leur puissant système enzymatique, les moisissures jouent également un rôle prépondérant au niveau de l'altération des aliments qu'elles contaminent. Une diversité importante d'entre elles est signalée dans les épices et légumes déshydratés **(Lacroix, 1991)**.

II. Risques liés aux consommations des épices contaminés

1. Risques

- **Intoxications alimentaire**s

Les intoxications résultent de l'ingestion d'une toxine préformée dans l'aliment. Il s'agit essentiellement des intoxications botuliniques, staphylococciques et à *Bacillus cereus*.

Les microorganismes synthétisent ces toxines de nature protéique au cours de la phase exponentielle de croissance (*C. botulinum)* ou en fin de cette phase (*S. aureus)*.

Dans le cas de l'intoxication botulinique, le risque pour la santé du consommateur étant extrêmement grand, aucune norme ne peut permettre de contrôler l'innocuité du produit. Dans ce cas, il faut donc adopter des conditions de fabrication - conservation qui garantissent de façon absolue la qualité sanitaire du produit (**AMAT-ROSE J.M, 1997).**

- **Toxi-infections alimentaires collectives(TIAC)**

Sont fréquentes et parfois graves. Elles représentent un véritable problème de santé publique et sont de ce fait, incluses parmi les maladies transmissibles à déclaration obligatoire. Un foyer des TIAC est défini par l'apparition d'au moins deux cas d'une symptomatologie, en général digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire.

Trois agents pathogènes semblent ainsi être la plupart du temps mis en cause lors de T.I.A.C : *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et *Clostrodium perfringens*. Il convient de modérer leur importance respective, car de nombreux foyers ne sont pas déclarés, surtout ceux dont la pathologie reste bénigne. Les aliments qui apparaissent le plus à risque sont les œufs, les poissons, crustacés et les viandes en général. (**BELOMARIA *et al,* 2007**).

2. Mesures à réduction de la charge microbienne

1- Cuisson

La cuisson des aliments est un excellent moyen pour réduire leur charge microbienne. Cependant, une cuisson incomplète n'est pas suffisante pour éliminer d'éventuelles bactéries pathogènes,

notamment *E. coli* et les salmonelles qui pourraient s'y trouver. Les jeunes enfants et les personnes immunodéprimées sont plus susceptibles que les adultes de contracter une infection (**AFSSA, 2007**).

2-Réfrigération

La réfrigération réduisant de nombreuses espèces bactériennes, en arrêtant la croissance, est un bon moyen de conservation des aliments qui est d'autant plus efficace que la température est basse. Il est donc recommandé aux consommateurs de vérifier que la température est au maximum 4°C dans la zone la plus froide de leur réfrigérateur. Cette zone est obligatoirement indiquée par une signalétique dans les réfrigérateurs commercialisés depuis 2002 (**CARPENTIER *et al*, 2007**).

3- Désinfection

Plusieurs molécules (hypochlorite de sodium, ozone, acide peracétique par exemple) sont susceptibles d'être utilisées comme auxiliaire technologique pour la désinfection des végétaux (**FUKUYAMA *et al,* 2009**) et paraissent efficaces. Ces usages d'auxiliaires technologiques sont soumis à autorisation et certains d'entre eux ont fait l'objet d'avis de l'Afssa. Ainsi, pour l'hypochlorite de sodium (eau de javel), le chlore, à une concentration de 50 mg/l (pH = 6.5), permet d'obtenir 2,4 réductions décimales d'*E. Coli* 0157 :H7 durant une immersion de 60 ou 90 secondes (**FUKUYAMA *et al,* 2009**).

III. Normes de validation des épices

Les **normes** sont des spécifications microbiologiques adoptées par la législation qui s'adressent au produit fini et fixent les limites acceptables de présence de microorganismes donnés dans des produits bien définis.

Il existe actuellement de nombreux organismes nationaux ou internationaux (OMS, FAO, ISO...) qui se préoccupent de l'établissement de critères de qualité microbiologique de nos aliments.
Le Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu (LRDEHM) suit en générale les normes marocaines intégrés de la norme ISO (Tableau 1).

Tableau 1: **Critères microbiologiques pour les épices**

		M
Produits d'origine végétale : Epices et Herbes aromatiques	FMAT **NM 08.0.102**	3.10^6 UFC/g
	L+M **NM 08.0.123 (2006)**	Le taux de la charge : faible
	CF **NM 08.0.124(2004)**	10^2UFC/g
	S.aureus **NM 08.01.104, ISO 6888(2004)**	10^3UFC/g
	ASR **NM 08.0.125**	3.10^2UFC/g
	Salmonelle **NM 08.0.116(2004)**	Abs

M : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants.
Si la valeur est ≤ M: Conforme
Si la valeur est > M : Non conforme

CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. Conditions du travail

1. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude réalisée sur une durée d'un mois et demie allant du 15 avril au 31 Mai 2019. Elle a concerné l'étude de la qualité microbiologique des épices commercialisés dans la ville de Fès.

2. Epices étudiées

J'ai choisi parmi les épices, les plus utilisés dans les préparations culinaires ; à savoir :

Gingembre **Paprika fumé** **Poivre** **Piment d'Espelette** **Cardamone**

Fig. 1 : Photos d'épices étudiées

3. Lieu de prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés dans différents points du vente de la région de Fès.

Le nombre de prélèvements réalisés était de 25 échantillons de différentes épices traités.

4. Lieu d'étude

Les prélèvements réalisés ont été analysés au laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu de Fès (LRDEHM) au niveau de l'unité des analyses microbiologiques et d'hygiène alimentaire.

5. Prélèvements, acheminement, transport et réception des échantillons au laboratoire

Les prélèvements ont été effectués aseptiquement dans des sachets stériles par les techniciens d'hygiène du milieu dépendant du Ministère de la santé, selon la norme **(NM03.7.059).**

Les échantillons prélevés ont été acheminés immédiatement au LRDEHM, en respectant la bonne température de la conservation (4°C).

Un contrôle qualité des échantillons reçus est fait systématiquement au laboratoire avant d'être analysés, il englobait :

- La mesure de la T°,
- L''identification des échantillons,
- L'heure de prélèvement,
- Le délai de transport,
- La conformité du prélèvement, etc.,…

Un exemplaire d'une fiche technique est mentionné sur annexe 2.

Les échantillons ne répondant pas aux conditions et consignes de prélèvement et d'acheminement ne sont pas analysés. Toute non-conformité détectée est enregistrée puis mentionnée au responsable du prélèvement afin que des actions d'amélioration puissent avoir lieu.

II. Analyse de la qualité microbiologique des épices

1. Préparation d'échantillon

1. a. Solution mère

La préparation de la solution mère consiste à peser aseptiquement dans un sachet stérile 10 g de l'échantillon, le mélanger ensuite avec une quantité neuf fois égale d'eau peptonée tamponnée (90 mL) et enfin souder le sachet en flambant son bord légèrement à la chaleur.

N.B: Il est important de prélever au minimum à 4 ou 5 essais dans l'échantillon afin d'obtenir la représentativité.

1. b. Dilutions décimales

- **Principe**

La préparation de dilutions décimales a lieu si nécessaire, en vue de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume pour permettre, après incubation, d'observer leur éventuel développement (cas des tubes) ou effectuer le dénombrement des colonies (cas des boites de pétri).

- **Protocole**

Transvaser, à l'aide d'une pipette stérile1mL de la SM dans un tube de 9 mL de l'eau physiologique stérile. Mélanger le tout avec un agitateur mécanique (vortex).

Cette opération est répétée sur les dilutions décimales allant de 10^{-2} à 10^{-4}, en utilisant à chaque dilution une nouvelle pipette stérile.

1. c. Ensemencement

Les échantillons sont ensemencés en profondeur ou en surface selon les flores recherchées et ceci en respectant les normes préconisées pour chaque germe recherché.

Tableau 2 : **Résumé des méthodes d'analyse microbiologiques utilisées**

Paramètre microbiologique	**Volume d'inoculum**	**Milieu d'ensemencement**	**Méthode d'ensemencement**	**Condition d'incubation**
FMAT	1mL	PCA	En profondeur	30±1°C/ 24h
Levures et moisissures	1mL	Sabouraud	Par étalement	25±1°C/ 7jrs
CF	1mL	VRBL	En profondeur	44±0,5°C/24h
Staphylococcus aureus	0,1mL	Baird Parker	Par étalement	37±1°C/24h
ASR	1mL	SPS	Transfert dans un tube de 20mL	37±1°C/24h
Salmonella (*)	0,1mL de la culture de PE	Rappaport	Transfert dans un tube de 10mL	44±0,5°C/24h
	50µL	Hektoen	Epuisement du bouillon sélectif milieu HK	37±1°C/24h

N.B : (*) signifie qu'un 1èr enrichissement des *Salmonella* est réalisé en incubant la solution mère préalablement préparée 37±1°C/24h±3h.

2. Les microorganismes dénombrés ou recherchés

2. I. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale

1. Définition

La flore aérobie mésophile totale est l'ensemble des microorganismes capables de se multiplier en présence d'oxygène à une température située entre 25 et 40 °C.

Le dénombrement des germes totaux inclut toutes les cellules végétatives et les spores de bactéries, les levures et les moisissures qui peuvent pousser à une température donnée sur ou dans un milieu de culture donné.

Les FMAT sont des micro-organismes strictement mésophiles ayant une température optimale de 30-37°C. Leur dénombrement est déterminé sur un milieu Plate Count Agar (PCA), milieu nutritif sans inhibiteurs dans le but de favoriser le développement à 30°C/24h de tous les germes.

La recherche de la flore mésophile aérobie totale est d'un grand intérêt, son dénombrement permet notamment :

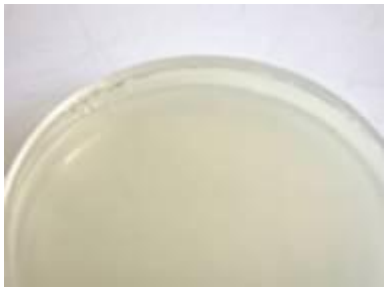
- D'estimer la charge microbienne initiale des matières crues avant transformation ;
- D'évaluer la qualité hygiénique et marchande du produit fini ;
- De contrôler la propreté de l'équipement et des manipulations ;
- De vérifier les déficiences au cours des opérations ;
- De prendre des mesures préventives pour améliorer l'hygiène de la fabrication (**SECKE, 2007).**

2. Mode opératoire

En conditions aseptiques, on transfert 1ml de SM (10 g d'échantillon + 90 mL d'eau peptonée tamponné) dans les boites de pétrie stériles à l'aide d'une pipette stérile, on répète l'opération avec d'autre dilutions. On coule dans chaque boite de pétri environ 15ml de PCA préalablement préparé, fondu et refroidi à l'étuve à une T° de 45±1°C, on mélange soigneusement l'inoculum, on laisse solidifier puis on incube à 30±1°C pendant 21h±3h.

3. Expression des résultats

Après l'incubation, on compte les colonies pour chaque boite, les résultats sont exprimés en UFC/g.



Gélose PCA avant incubation

Gélose PCA après l'incubation

Fig. 2 : Gélose PCA

2.2. Dénombrement de *Staphylococcus aureus*

1. Définition

Le staphylocoque doré (***Staphylococcus aureus)*** est l'espèce la plus pathogène du genre Staphylococcus. Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, d'infections potentiellement mortelles (patient immunodéprimé, prothèses cardiaques). *S. aureus* se présente comme une coque en amas (grappes de raisin), Gram positif et catalase positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom **(*Journal of Experimental Medecine, 2016*)**.

Microorganisme formant des colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques à la surface d'un milieu de culture sélectif (Chapman, Baird Parker) et donnant une réaction fortement positive à la coagulase.

Le principal habitat est la muqueuse nasale, la bouche, la gorge et la peau d'individus sains. Cette bactérie peut être disséminée facilement dans l'environnement et peut ainsi contaminer les aliments (**LE LOIR, 2010).**

Les *Staphylococcus aureus* coagulase positive souvent recherchés et ne sont pas forcément entérotoxinogènes, et seuls les *S. aureus* coagulase positive sont capables de produire une entérotoxine qui causent les intoxications alimentaires (**SIGNS *et al*, 2011).**

2. Mode opératoire

L'ensemencement se fait toujours en conditions aseptiques. Ainsi, on transfert à l'aide d'une pipette stérile 0,1 mL de la suspension mère (dilution 10^{-1}) à la surface de boîte de milieu sélectif gélosé (BP). On répète l'opération avec la dilution 10^{-2} et les dilutions suivantes si nécessaire.

On étale soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu gélosé (BP) puis on incube à 37±1°C durant 24 à 48 h±3h.

3. Expression des résultats

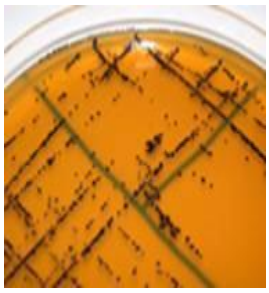
a-Lecture

Après incubation, les colonies caractéristiques sont noires, brillantes et convexes ; de 1 à 1,5 mm de diamètre après 24 h d'incubation et 1,5 à 2,5 mm de diamètre après 48 h d'incubation ; et entourées d'une zone claire qui peut être partiellement opaque. Après 24 h d'incubation, peut apparaître dans cette zone claire un anneau opalescent immédiatement au contact des colonies.

N.B : Les colonies non caractéristiques sont semblables en apparence, mais sont dépourvues de zone claire. Les colonies non caractéristiques sont souvent constituées de souches de *Staphylococcus aureus* contaminant les produits laitiers. Elles ne sont pas produites, fréquemment, par les souches de *Staphylococcus aureus* qui contaminent les autres produits.

Gélose sélective BP Avant incubation

Gélose sélective BP après incubation : Absence de *St. Aureus*



Gélose sélective BP après incubation Présence de *St. Aureus*

Fig. 3: Gélose Baird Parker

b- Confirmation

Pour le test de confirmation et d'après la norme on choisit 5 colonies caractéristiques.

La confirmation se fait à travers la recherche de la coagulase. Cependant, on peut passer d'abord par le test DNase, ensuite on réalise le test coagulase pour les colonies confirmées DNase positive.

b-1- Test DNase

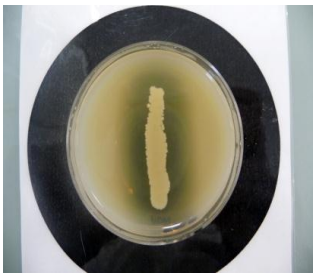
- **Technique**

A partir d'une culture purifiée identifiée *Staphylococcus*, on ensemence par épuisement le milieu Gélosé à l'acide désoxyribonucléique à l'aide d'une anse à fil droit, on incube à 37°C pendant 24 h.

- **Lecture**

Si après addition de l'acide chlorhydrique, la zone autour de la strie est claire, la souche est DNase.

Test DNase négatif



Test DNase positif

Fig. 4: Test DNase

b-2- Test coagulase

- **Technique**

Après une étape d'enrichissement sur milieu BHI de l'inoculum de *Staphylococcus* préalablement identifié et confirmé DNase+, on prélève 0,5 mL de ce dernier, et on l'ajoute à 0,5 mL du plasma de lapin et on incube à 37±1°C pendant 24 h.

- **Lecture**

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

coagulase (-)

coagulase (+)

Fig. 5 : Test coagulase

2.3. Dénombrement des coliformes thermo-tolérants

1. Définition

Parmi les coliformes totaux, il existe un sous-groupe de bactéries, les coliformes fécaux ou coliformes thermo tolérants qui sont définis comme étant des microorganismes fermentant le lactose avec production de gaz à la température de 44 °C. Ce sont des microorganismes en forme de bâtonnets, ne formant pas de spores, à Gram négatif, oxydase négative, aérobies ou anaérobies facultatifs, capables de croître en présence de sels biliaires, ou autres agents de surface ayant des propriétés inhibitrices de croissance analogues et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 48 heures à la température de 44 °C **(Joseph-Pierre GOUIRAND, 2003).**

Les Coliformes fécaux sont plus spécifiques de contaminations fécales (mauvais lavage des mains, viandes contaminées lors de l'abattage) ou de contaminations telluriques (végétaux terreux) **(Joseph-Pierre GOUIRAND, 2003).**

2. Mode opératoire

Il s'agit d'un ensemencement en profondeur du milieu sélectif solide gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL), coulé dans des boites de Pétri, avec une quantité d'un ml du suspension mère. Dans les mêmes conditions, on réalise l'ensemencement des dilutions décimales obtenues à partir de la suspension mère. Les boites sont incubées à 44,5°C pendant 24 h.

3. Expression des résultats

Il s'agit de colonies rouges roses de 0.5 mm de diamètres. L'expression des résultats est identique à celle de la flore aérobie mésophile totale.

VRBL avant incubation

VRBL après incubation (présence des CF)

Fig. 6 : Gélose VRBL

2.4. Recherche des levures et des moisissures

1. Principe : Les levures et moisissures sont des microorganismes qui, après ensemencement en surface sur le milieu Sabouraud inhibiteur pour les bactéries aérobies, forment des colonies après une incubation à 25° C pendant 7 jours.

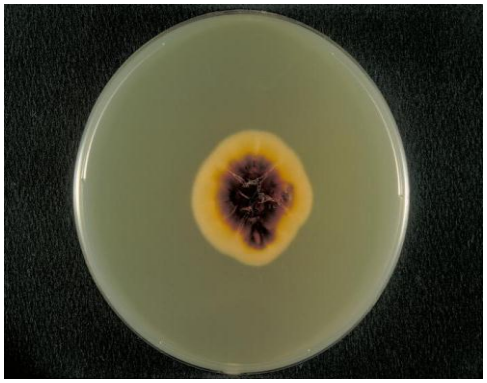
2. Mode opératoire

L'ensemencement se fait en surface d'un milieu de culture défini sabouraud, coulé dans des boîtes de Pétri, avec une quantité d'un mL de suspension mère. Dans les mêmes conditions, on réalise l'ensemencement des dilutions décimales obtenues à partir de la suspension mère. Les boîtes sont incubées à 25 °C pendant 5 à 7 jours.

3. Expression des résultats

Les résultats sont exprimés par la présence ou l'absence des levures et moisissures.

Sabouraud avant incubation



Sabouraud après incubation
Présence de levures ou moisissures

Fig. 7 : Gélose Sabouraud

2.5. Dénombrement des ASR

1. Définition

Les anaérobies sulfitoréducteurs représentent un groupe de germes dont *Clostridium perfringens* fait partie.

Germe pathogène, *Clostridium perfringens* est un bacille Gram positif, sporulé et anaérobie strict. C'est une bactérie très répandue dans le sol et la poussière, à partir desquels elle est disséminée dans l'environnement. Elle est rencontrée assez fréquemment dans le tube digestif des humains et de plusieurs animaux**(EFSA, 2004- 2009).**

2. Mode opératoire

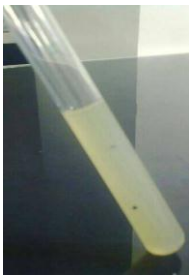
A partir de la SM, on transfert aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile 1mL dans un tube contenant 20mL de milieu SPS ramené à 47°C, puis on mélange doucement l'inoculum au milieu de culture**.** Après solidification du tube, on incube à 37±1°C/24h±3h.

La couleur noire des colonies et ayant des alentours indiquent les colonies caractéristiques. Ils sont dus à la formation de sulfure de fer.

3. Expression des résultats

Le comptage des colonies se fait pour les dilutions contenant moins de 30 colonies. On exprime les résultats en UFC/g.

Test négatif



Test positif

Fig. 8 : Gélose SPS

2.6. Recherche des salmonelles

1. Définition

Bacille Gram négatif, aéro-anaérobie, lactose-, ONPG-, appartenant à la famille *Entérobactériaceae.*

Les salmonelles sont des bactéries logées dans les intestins des animaux. Les aliments ou les milieux contaminés par des déchets animaux peuvent les abriter.

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 al,* 1996).**

L'absence de *Salmonella* doit être notée au sein de tous les aliments y compris les épices.

2. Mode opératoire

Elle comprend 4 étapes : le pré-enrichissement, l'enrichissement, l'isolement et l'identification.

1- Pré-enrichissement en milieu non-sélectif

Il consiste à prélever de façon aseptique, différentes parties d'épice, à l'ensemencer dans l'eau peptonée, puis l'incuber à 37±1°C pendant 24h±3h

N.B : La solution mère préalablement préparée pour le dénombrement de la flore totale, des coliformes, des *Staphylococcus* et des ASR sert pour le pré-enrichissement des *Salmonella*.

2- 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 à *Salmonella*. Pour cela, on transfert à l'aide d'une pipette stérile 0,1 mL de la culture de pré-enrichissement dans 10 mL de bouillon Rappaport et on incube à 44±0,5°C pendant 21h±3h

3- Culture sur gélose sélective

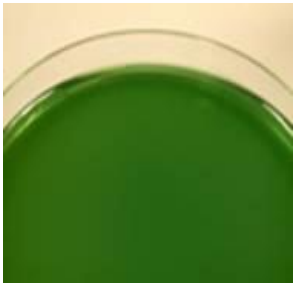
Les cultures d'enrichissement sélectif sont étalées par stries sur des géloses sélectives qui inhibent la croissance des bactéries concurrentes et permettent un examen visuel des colonies présumées *Salmonella*.

Après 21h±3h d'incubation du milieu d'enrichissement à 44±0,5°C, on ensemence par épuisement à l'aide d'une anse flambée du bouillon sélectif sur une gélose Hektoen de façon à obtenir les colonies bien isolées, on incube la gélose 37±1°C pendant 24h±3h.

- **Lecture**

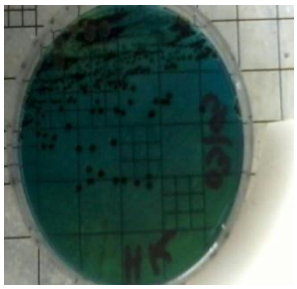
Sur gélose HK : Les colonies typiques de *Salmonella* ont une coloration bleu-vert avec ou sans centre noir. Celui-ci peut s'élargir et rendre la colonie complètement noire. Certaines souches atypiques produisent des colonies jaunes avec ou sans centre noir.

N.B : Après 21h±3h d'incubation s'il n'y a pas de colonies indiquant la présence de *Salmonella* sur la gélose Hektoen, on peut ré incuber les boîtes pendant 24h±3h de plus.



GéloseHeckteon
Avant incubation

GéloseHeckteon
Après incubation
Absence de *Salmonella*



GéloseHeckteon
Après incubation
Suspicion de *Salmonella*

Fig. 9 : Gélose Hecktoen

4- Identification

1- Identification par galerie classique

Préalablement à l'identification complète, la colonie suspecte peut être soumise à des tests d'orientation de diagnostic miniaturisés ou à quelques tests d'identification appartenant à la galerie classique d'identification afin de s'assurer son appartenance aux Entérobactéries. Dans cas, il peut s'avérer nécessaire d'ensemencer les milieux et réactifs suivants: Kligler-Hajna, urée indole, réactif pour la recherche de la β-galactosidase.

a- Milieu Kligler-Hajna

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

- **Principe**

Il s'agit d'un milieu différentiel de couleur rouge qui permet de confirmer la fermentation du glucose et du lactose, la production de gaz, et aussi la réduction des composés soufrés qui se traduit par la production de H_2S. Comme les milieux contiennent des sels de fer, la production de H_2S est révélée par la formation du sulfure métallique de couleur noire.

- **Technique**

Avec les colonies sélectionnées et après purification éventuelle sur gélose nutritive, on *e*nsemence la pente du milieu en stries serrées et parallèles et le culot par piqûre profonde, puis on incube à 37±1°C pendant 24h±3h.

- **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 l'H_2S, il se produit un noircissement de la zone joignant le culot à la pente.

Les cultures typiques de *Salmonella* correspondent à une pente alcaline (rouge) et un culot acide (jaune), avec formation de gaz, et avec (dans environ 90 % de cas) formation de sulfure d'hydrogène (noircissement de la gélose).

Milieu Kligler Avant incubation | **Milieu Kligler Après incubation (1)** | **Milieu Kligler Après incubation (2)**

(1) : Pente rouge et culot jaune ; (2) : Pente rouge , culot jaune et formation d'H_2S

Fig. 10 : Gélose Hajna-Kligler

b- Test Uréase

- **Principe**

Il se fait sur milieu urée tryptophane, appelé improprement milieu Urée Indole. Le milieu Urée Tryptophane est un milieu synthétique (milieu dont la composition est connue exactement tant qualitativement que quantitativement). C'est un milieu complexe qui permet de rechercher l'uréase et l'indole, utiles à l'identification de nombreuses bactéries notamment parmi les *Entérobactériaceae.*

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

- **Technique**

On ensemence le milieu urée avec l'isolat purifié sur milieu gélosé, puis on incube à 37±1°C pendant 18 à 24 h.

- **Lecture**

L'apparition d'une couleur rouge traduit une alcalinisation du milieu, suite à l'hydrolyse de l'urée et formation de carbonate d'ammonium, la bactérie est Uréase positive.

La persistance de la couleur orange montre qu'il n'y a pas eu d'alcalinisation, la bactérie est Uréase négative.

Test Uréase négatif | **Test Uréase positif**

Fig. 11 : Test Uréase

N.B : Si l'uréase est négative, on passe au test indole

c- Test Indole

- **Principe**

Après addition du réactif de Kovacs, le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole produit par l'activité de la tryptophanase, et produit un anneau rouge à la partie supérieure du milieu urée-indole préalablement ensemencé.

- **Technique**

Ajouter une goutte de Kovacs au milieu Urée-indole préalablement ensemencé

- **Lecture**

Si formation d'un anneau rouge : indole négatif
Si absence d'un anneau rouge : indole positif

Test indole négatif

Test indole positif

Fig. 12: Test Indole

2- Identification par API 20^{E}

Si les tests d'orientation sont ceux de Salmonella, on passe à l'identification par l'API 20^{E}.

Galerie API 20^{E}

C'est une galerie de 20 microtubes prêts à l'emploi permettant de réaliser 23 tests biochimiques afin d'identifier des bacilles Gram^{-} appartenant à la famille des *ENTEROBACTERIACEAE*.

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. RÉSULTATS

I.1. Epices vendues de manière traditionnelle (Catégorie 1) :

Les résultats d'analyse des épices vendues de manière traditionnelle sont résumés en Tableau 3.

Tableau 3 : Résultats de dénombrement des microorganismes dans les épices vendues de manière traditionnelle

Microorganismes UFC /g	Epices				
	Gingembre	*Paprika fumé*	*Poivre*	*Piment d'Espelette*	*Cardamome*
GT	3760 7120 4224	9840 4000 510	7680 3440 2800	3040 3440 0	4560 3200 1004
	M = 5034	M = 4783	M = 4640	M = 2160	M = 2921
L+M	+++++ ++++- +++--	++- - - ++- - - +++- -	+++ - - + - - - - +++ - -	- - - - - + - - - - ++ - - -	++++ - ++ - - - ++ - - -
	M = ++++-	M = ++- - -	M = +++- -	M = + - - - -	M = +++ - -
Staphylococcus aureus	0 1200 0	1720 0 3000	0 0 0	0 0 0	3300 0 0
	M = 400	M = 1573	M = 0	M = 0	M = 1100
ASR	70 60 55	10 20 30	20 0 5	0 30 15	0 0 0
	M = 61	M = 20	M = 8	M = 15	M = 0
CF	650 1200 3040	3200 600 0	720 1240 620	2400 0 0	0 1680 130
	M = 1630	M = 1266	M = 860	M = 800	M = 603
Salmonelles	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

I.2. Epices produites par des entreprises (Catégorie 2) :

Les résultats d'analyse des épices produites par des entreprises sont résumés en Tableau 4.

Tableau 4 : Résultats de dénombrement des microorganismes dans les épices produites par des entreprises

Microorganismes UFC /g	Epices				
	Gingembre	*Paprika fumé*	*Poivre*	*Piment d'Espelette*	*Cardamome*
GT	880 700	6320 4500	300 250	160 0	600 900
	M = 790	M = 5410	M = 275	M = 80	M = 750
L+M	+++++ + - - - -	++- - - ++- - -	+++ - - + - - - -	- - - - - - - - - -	++- - - ++ - - -
	M= ++++-	M= ++- - -	M= +++--	M = + - - - -	M = ++- - -
S. aureus	0 600	600 900	0 0	0 0	0 0
	M = 300	M = 750	M = 0	M = 0	M = 0
ASR	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	M = 0	M = 0	M = 0	M = 0	M = 0
CF	18 20	0 0	10 12	0 0	0 0
	M = 19	M = 0	M = 11	M = 0	M = 0
Salmonelles	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

La formule de calcul : N = nbre de C * Fd /Ve

N : nombre d'UFC/g ; C : nombre de colonies ; Fd : Facteur de dilutions = 1/d

Ve : Volume ensemencé

Signification des mots dans les tableaux :

M : Moyenne ; Abs : Absent ; UFC/g : Unité formant colonie par gramme

+++++ : Le taux de la charge microbienne est plus élevé

++++ - : Le taux de la charge microbienne est élevé

+++ - - : Le taux de la charge microbienne est moyenne

+ - - - - : Le taux de la charge microbienne est faible

- - - - - : Le taux de la charge microbienne est plus faible

NB. Les trois ou bien les deux valeurs sur les tableaux indiquent le nombre de prélèvement réalisés pour chaque type d'épice

I.3. Pourcentage de non-conformité globale

Sur 25 échantillons d'épices analysées, la non-conformité a été notée dans 11 cas, soit un pourcentage de non-conformité de l'ordre de 44%.

La figure suivante illustre le pourcentage de non-conformité globale.

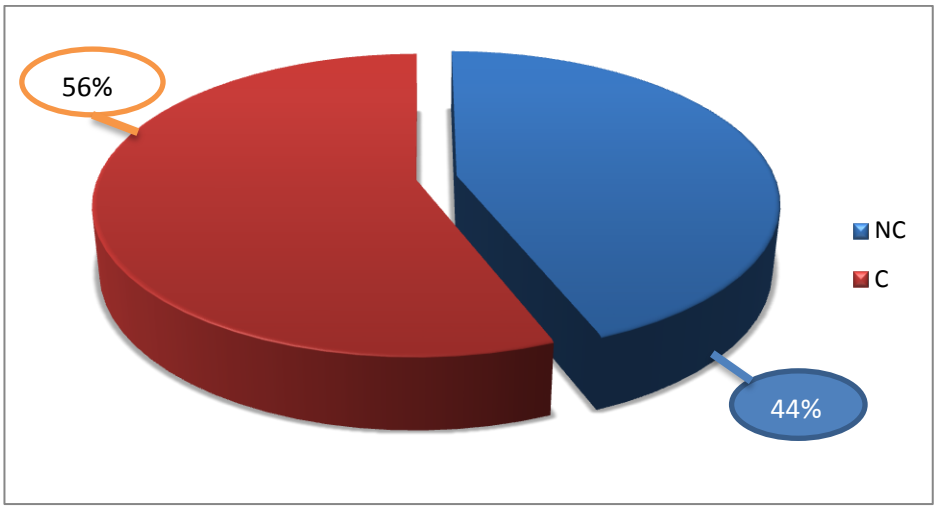


Figure 13: Pourcentage de non-conformité globale

I.4. Pourcentage de non-conformité par catégorie des épices

Comme indiqué en figure 2, nous avons noté une non-conformité plus élevée dans le cas des épices vendus de manière traditionnelle (% de N.C : 66,6%) que dans le cas des épices produites par l'industrie (% de N.C : 10%).

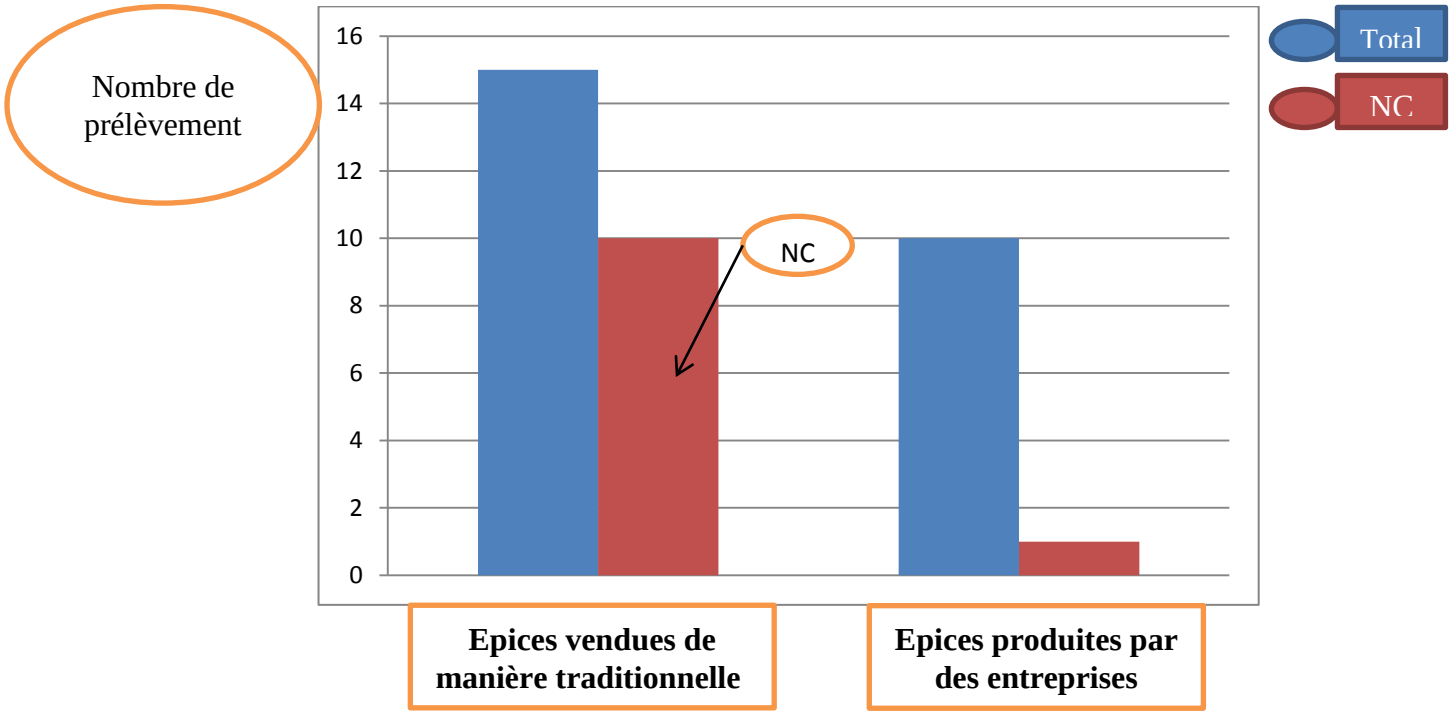


Figure 14 : Pourcentage de non-conformité par catégorie des épices

1. Catégorie 1:

Nombre d'échantillon traités est de 15

NC est de 10, pourcentages de 66,6 %

2. Catégorie 2:

Nombre d'échantillon traités est de 10

NC est de 1, pourcentages de 10%

I.5. Distribution de la positivité des germes

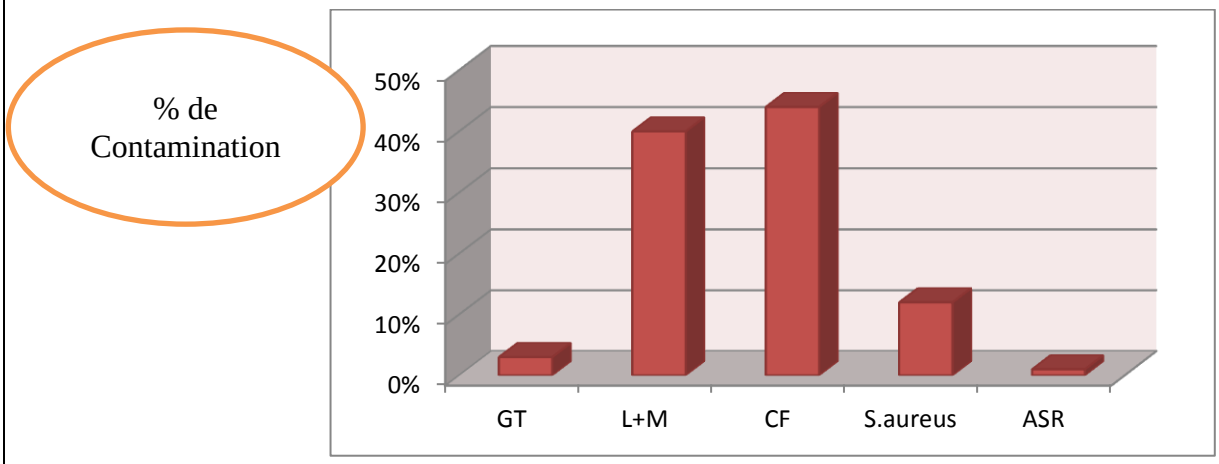


Figure 15 : Distribution de la positivité des germes

On note que la contamination par les germes fécaux est la plus dominante (44%) au niveau de la catégorie 1. Cependant, la contamination causée par les levures et moisissures est plus importante dans le cas de la catégorie 2 (40%).

En ce qui concerne la contamination par les germes pathogènes, on a remarqué seulement les épices vendues de manière traditionnelle qui étaient contaminées par les *Staphylococcus aureus* et que le % N.C est de 8%.

II. DISCUSSION

Cette étude est été réalisée au LRDEHM dans le but d'évaluer la qualité hygiénique des épices. Les échantillons étaient au nombre de 25 dont 15 vendues de manière traditionnelle et 10 produites par des entreprises.

L'évaluation de la qualité hygiénique des épices a révélé la présence de 4 types des germes: la flore mésophile aérobie totale, les levures et moisissures, les coliformes thermo tolérants, les staphylocoques. Nous avons noté l'absence de salmonelles.

Les anaérobies-sulfito-réducteurs dans la totalité des échantillons sont présentes mais ne dépassent pas le seuil.

La non-conformité globale a été constatée dans 25 échantillons, soit un pourcentage de 44%.

A la suite des contrôles effectués par l'**ONSSA (**Office National de Sécurité Sanitaire des Produits Alimentaires) sous thème la surveillance des produits d'origine végétale, il s'est avéré que la conformité globale des épices analysées est de 95% (**ONSSA 2014**).

Plans de surveillance des produits végétaux et d'origine végétale

Les plans ont concerné l'huile d'olive, les fruits rouges, les fruits secs, les épices et les fruits et légumes frais. 608 échantillons ont été prélevés, les résultats de 70% d'échantillons (le reste est en cours d'analyses) donnent 93 % de conformité.

Intitulé du plan	Période	Nombre de prélèvements d'échantillons réalisés en 2014	de réali- % sation	de confor- % mité
Résidus de pesticides dans les fruits et légumes frais et aromates	Nov. 2014- Juillet 2015 (230 PE)	113	90	En cours
Contaminants et salmonelles dansles épices	Oct. – Nov. 2014	141	94	95
Contaminants et sulfites dans les fruits secs	Oct. – Déc. 2014	178	86	95
Hépatite A et LMR dans les fruits rouges	Déc. 2014- Mars 2015	60	75	En cours
Contrôle de la qualité des Huiles d'olives	Déc. 2014 – Jan 2015	116	94	86
Total		**608**	**88,5**	**93**

Ces résultats ne concordent pas avec nos résultats.

La non-conformité globale de nos analyses est de 44%, bien que l'ONSSA ait noté seulement 5% de non- conformité.

La non-conformité élevée que nous avons notée, pourrait être liée à un défaut d'hygiène aussi bien corporelle, que vestimentaire, technique et locale **(EL OUALI LALAMI *et al,* 2013**).

CONCLUSION & RECOMMANDATIONS

Le contrôle microbiologique des épices reste parmi les contrôles obligatoires dans le domaine de la qualité des produits alimentaires. Pour cela 25 échantillon sont traité au cours de ce travail.
Les résultats obtenus révèlent que :

- La non-conformité globale est de 44%.
- La non-conformité dans le cas d'épices vendues de manière traditionnelle (Catégorie 1) est plus élevée (66,6%) à celle d'épices produites par des entreprises (catégorie 2) (10%).
- La contamination par les germes fécaux est la plus dominante (44%) au niveau de la catégorie 1.
- La contamination par les levures et moisissures (40%) sont la plus dominante au niveau de la catégorie 2.
- *Staphylococcus aureus* présumés pathogènes sont présents à un pourcentage de 8%.
- Les anaérobies sulfito-réducteurs sont présentes mais ne dépasse pas la norme.
- L'absence quasi-totale de germes pathogènes et la présence abondante de coliformes témoigne de défaut d'hygiène.

Ces résultats peuvent être due essentiellement à :

- Les méthodes de conservation.
- La contamination externe (l'atmosphère, l'air…).
- La contamination par le personnel.
- Mauvaise hygiène au cours de la chaine de production ainsi que de la vente.

Afin d'assurer l'assurance sanitaire et d'éviter les toxi-infections alimentaires pouvant résulter de la consommation d'épices ayant une mauvaise qualité hygiénique, il est recommandé de :

- Obliger les préparateurs et les vendeurs à réaliser un contrôle sanitaire,
- Sensibiliser le personnel sur le respect systématique de Bonnes Pratiques d'Hygiène (BPH),
- Séparer les épices à autre aliments pour limiter la contamination croisée,
- Nettoyer et désinfecter les locaux et les matériaux de préparation et de vente,
- Instaurer un système HACCP, en responsabilisant un employé sur le suivi et la traçabilité.

RÉFÉRENCES

- **AFSSA,Juillet 2003**,Evaluation nutritionnelle et sanitairedes aliments issus de l'agriculturebiologique.
- **AFSSA, 2009**.Fiches informatives sur les critères microbiologiques.
- **Mohamed BELOMARIA, Abderazak KHADMAOUI.** Etude du profil épidémiologique des toxi-infections alimentaires collectives dans la région du Gharb chrarda Bni-Hssen 2001 A 2012 : étude rétrospective. 2017. Ffhal-01564581f
- **CARPENTIER, B., LAGENDIJK, E, 2007**. Eléments de microbiologie et d'hygiène utiles au bon usage de son réfrigérateur. Revue Générale du Froid 1079, 35-40.
- **DGCCRF, 2011** La qualité des épices
- **EFSA-Q-2004-2009**, Avis du groupe scientifique sur les risques biologiques relatif à la présence de *Clostridium spp*. Dans les denrées alimentaires,
- **EL OUALI LALAMI *et al*, 2013,** Défaut d'hygiène en relation avec la contamination fécales.
- **FUKUYAMA S, WATANABE Y, KONDO N, NISHINOMIYA T, KAWAMOTO S, ISSHIKI K, MURATA M, 2009** .Efficiency of sodium hypochlorite and calcinated calcium in killing Escherichia coli O157:H7, Salmonella spp., and Staphylococcus aureus attached to freshly shredded cabbage.*Bioscience, Biotechnology and Biochemistry***73**, 9-14.
- **Joseph-Pierre GOUIRAND, 2003** Microbiologie Alimentaire
- **Hariel J. (1992)**. Utilisation des extraits d'épices et d'aromates dans les produits alimentaires, pharmaceutiques et les produits de parfumerie. In : Richard H., Epices et aromates 72-94. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.
- **Journal of Experimental Medecine, 2016** Identification and treatment of the *Staphylococcus aureus*
- **Lacroix J. P. (1991)**. Les ingrédients secs. In : Vasseur J.P., Ionisation des produits alimentaires, 255- 261. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.
- **Le LOIR, 2010**, Monographie de microbiologie, Editeur : **LAVOISIER /TEC ET DOC.**
- **L'Economiste, 01/06/1995** Consommation des épices
- **NM 08.0.116(2004).** Recherché de salmonella.
- **NM 08.0.102**.Dénombrement des colonies par comptage de colonies obtenues à 30°C.
- **NM 08.0.124(2004).**Dénombrements des coliformes termotholérants par comptage des colonies obtenus à 44°C.
- **NM 08.01.104, ISO 6888(2004).** Directives générales pour le dénombrement de *Staphylococcus aureus*.
- **NM 08.0.125.** dénombrements en anaérobies des bactéries sulfitoréducteur.
- **NM 08.0.115**. Dénombrements des coliformes totaux par comptage des colonies à 30°C.
- **ONSSA, 2014** Chiffres sur la qualité des produits d'origine végétale
- **OMS, 2000**, Salubrité des aliments et maladies d'origine alimentaire. Aide-Mémoire n° 237.
- **Richard H. et Loo A. (1992).**Composition des extraites d'épices et herbes aromatiques. In : **Richard H., Epices et aromates 214-218.**Technique et Documentation, Lavoisier, Paris. • **Richard H. et Loo A. (1992)**. Nature, origine et propriété des épices et aromates bruts. In : **Richard H., Epices et aromates 22-48.**Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.
- **SECKE, 2007** FMAT : flore mésophile aérobie totale, Définition & recherche, Université Cheikh Anta Diop-Doctorat en médecine vétérinaire, 2007
- **SIGNS RJ, DARCEY VL, CARNEY TA, EVANS AA, QUINLAN JJ, 2011**. Retail food safety risks for populations of different races, ethnicities, and income levels. Journal of Food Protection.
- **VARNAM L.R. EVANS M.G, 1996**. Food had borne Pathogens, Manson Publishing Ltd, London.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Milieux de culture

Plate Count Agar (PCA) pour le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale

- Tryptone:6,0 g
- extrait de levure:2,5 g
- glucose:1,0 g
- agar:15,0 g
- pH = 7

EPT (Eau peptone tamponné)

- peptone exempte d'indole 10,0 grammes
- chlorure de sodium 5,0 grammes
- pH = 7,2

Milieu sélectif solide : gélose lactosée biliée au cristal violet et que rouge neutre (VRBL) pour le dénombrement des coliformes

- peptone 7 g
- extrait de levure 3 g
- lactose 10 g
- chlorure de sodium 5 g
- mélange sel biliaire 1,5 g
- cristal violet 0,002 g
- rouge neutre 0,03 g
- agar-agar 15 g
- eau distillée 1 000 ml

Sabouraudpour le dénombrement des levures et moisissures

- Peptone..... 10 g
- Glucose massé..... 20 g
- Agar-agar..... 15 g
- Eau distillée (qsp)..... 1 000 ml
- vitamines et facteurs de croissance
- pH = 6,0

BP (Baird Parker) pour dénombrement des *S.aureus*

- Peptone :.....10,0 g
- Extrait de viande de bœuf :.....4,0 g
- Extrait de levure :.....2,0 g
- Pyruvate de sodium : .....10,0 g
- Glycocolle.....12,0 g
- Chlorure de lithium :.....5,0 g
- Agar-agar :.....20,0 g

A ajouter en conditions stériles juste avant l'ensemencement (sinon détruit par l'autoclavage) :

- Émulsion de jaune d'œuf *(stérile)* : .....50,0 ml
- Tellurite de potassium *(stérile)*:.....0,1 g

pH du milieu = 7,2

SPS (Sulfite Polymyxin Sulfadiazine Agar) pour le dénombrement des ASR

- Tryptone 15g/L,
- Yeast extract 10g/L,
- Ferric Citrate 0.5g/L,
- Sodium Sulfite 0.5g/L,
- Sodium Thioglycollate 0.1g/L,
- Polysorbate 80 0.05g/L,
- Sulfadiazine 0.12g/L,
- Polymyxin B Sulfate 0.01g/L,
- Agar 15g/L

RP (Bouillon RappaportVassiliadis) milieu d'enrichissement de salmonelle

- Tryptone
- NaCl
- Phosphate mono potassique
- Chlorure de magnésium anhydre 13,40g
- Vert Malachite

HK (Hektoen) milieu de recherche de salmonelle

Peptone.....12
Extrait de levure.....3
NaCl..... 5
Sels biliaires.....9
Thiosulfate de sodium.....5
Citrate de fer ammoniacal.....1,5
Lactose.....12
Salicine.....2
Saccharose.....12
BBT.....0,002
Fuchsine acide.....0,1
Agar…….....14
pH final = 7,5

BrainHeart Infusion (BHI) Agar pour l'enrichissement de *S.aureus*

- Infusion cœur-cervelle (matières solides) 8,0 g
- Digestion peptique de tissu animal 5,0
- Digestion pancréatique de caséine 16,0
- Chlorure de sodium 5,0
- Glucose 2,0
- Phosphate d'hydrogène disodique 2,5
- Gélose 13,5
- pH 7,4 ± 0,2

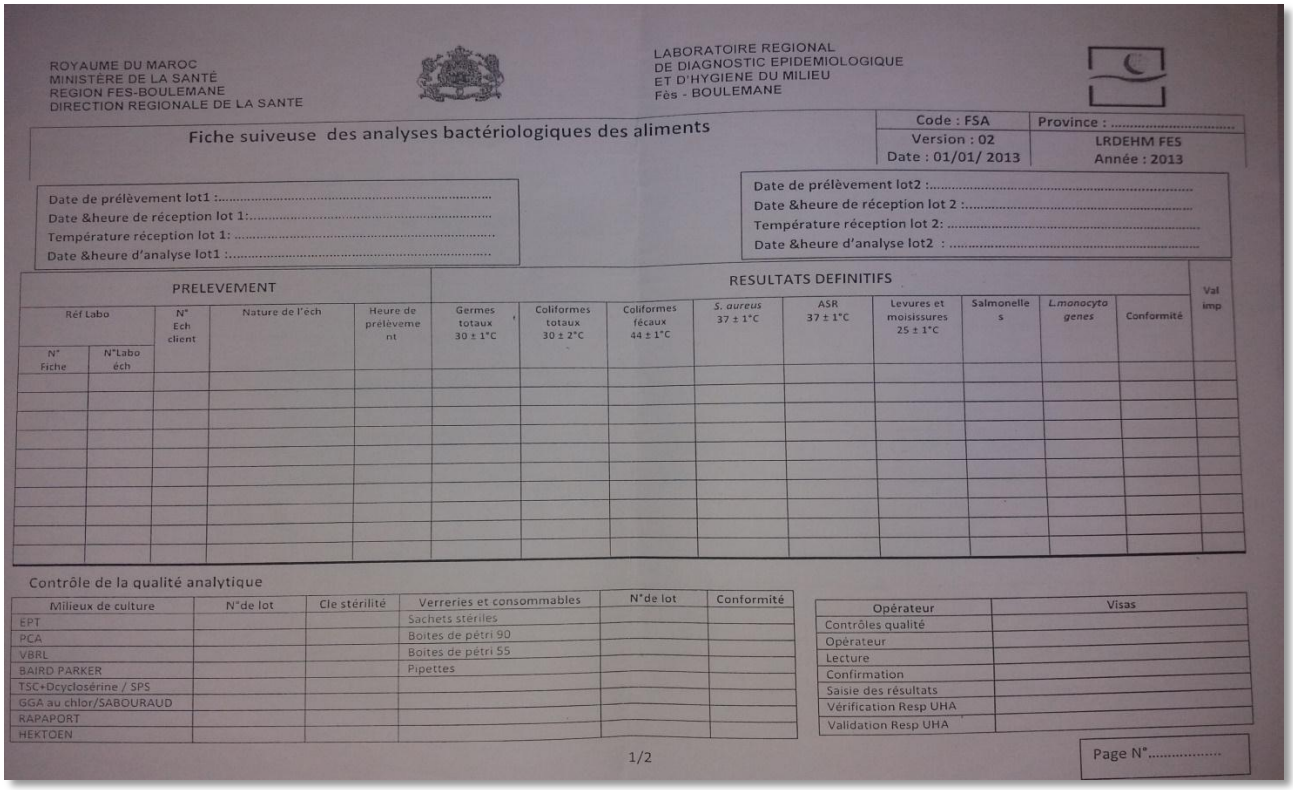
DNase(l'activité désoxyribonucléase) test de confirmation de *S.aureus*

- Tryptose : 20,0
- Acide désoxyribonucléique : 2,0
- Sodium chlorure : 5,0
- Agar : 15,0
- pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,3 ± 0,2

KLIGLER-HAJNA (test de confirmation pour salmonelle)

- Extrait de viande de boeuf.....3
- Extrait de levure.....3
- Peptone.....20
- NaCl.....5
- Citrate ferrique**.....0,3**
- Thiosulfate de sodium**.....0,3**
- Lactose**.....**10
- Glucose**.....**1
- Rouge de phénol**.....0,05 Agar……..12 pH = 7,4**

ANNEXE 2 : Exemplaire d'une fiche technique (Fiche suiveuse des analyses microbiologiques des aliments).



ROYAUME DU MAROC
MINISTÈRE DE LA SANTÉ
REGION FES-BOULEMANE
DIRECTION REGIONALE DE LA SANTE

LABORATOIRE REGIONAL
DE DIAGNOSTIC EPIDEMIOLOGIQUE
ET D'HYGIENE DU MILIEU
Fès - BOULEMANE

Fiche suiveuse des analyses bactériologiques des aliments

Code : FSA	Province : .....
Version : 02 Date : 01/01/ 2013	LRDEHM FES Année : 2013

Date de prélèvement lot1 :.....
Date &heure de réception lot 1:.....
Température réception lot 1: .....
Date &heure d'analyse lot1 :.....

Date de prélèvement lot2 :.....
Date &heure de réception lot 2 :.....
Température réception lot 2: .....
Date &heure d'analyse lot2 : .....

PRELEVEMENT					RESULTATS DEFINITIFS									Val imp
Réf Labo		N° Ech client	Nature de l'éch	Heure de prélèvement	Germes totaux 30 ± 1°C	Coliformes totaux 30 ± 2°C	Coliformes fécaux 44 ± 1°C	*S. aureus* 37 ± 1°C	ASR 37 ± 1°C	Levures et moisissures 25 ± 1°C	Salmonelles	*L.monocytogenes*	Conformité	
N° Fiche	N°Labo éch													

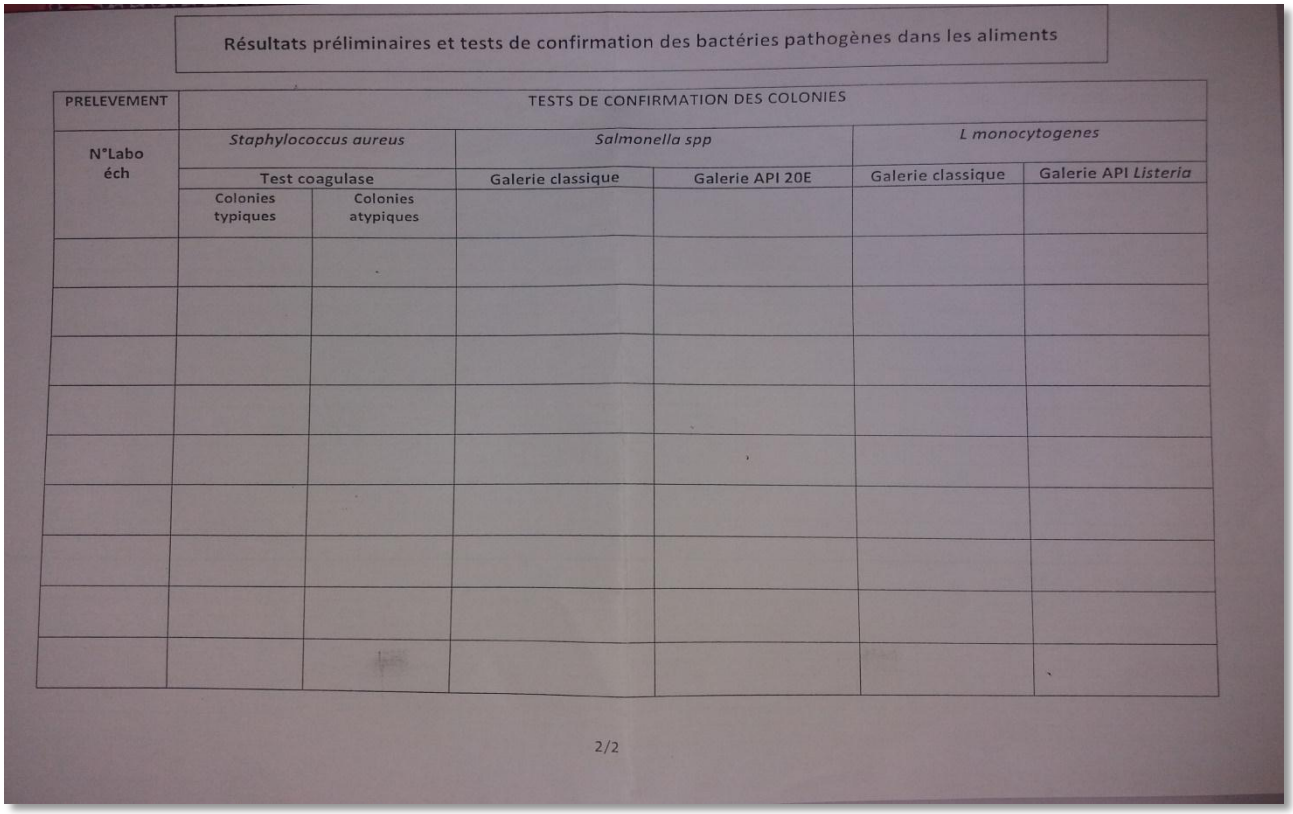
Contrôle de la qualité analytique

Milieux de culture	N°de lot	Cle stérilité	Verreries et consommables	N°de lot	Conformité
EPT			Sachets stériles		
PCA			Boites de pétri 90		
VBRL			Boites de pétri 55		
BAIRD PARKER			Pipettes		
TSC+Dcyclosérine / SPS					
GGA au chlor/SABOURAUD					
RAPAPORT					
HEKTOEN					

Opérateur	Visas
Contrôles qualité	
Opérateur	
Lecture	
Confirmation	
Saisie des résultats	
Vérification Resp UHA	
Validation Resp UHA	

1/2

Page N°.....



Résultats préliminaires et tests de confirmation des bactéries pathogènes dans les aliments

PRELEVEMENT	TESTS DE CONFIRMATION DES COLONIES					
N°Labo éch	*Staphylococcus aureus*		*Salmonella spp*		*L monocytogenes*	
	Test coagulase		Galerie classique	Galerie API 20E	Galerie classique	Galerie API *Listeria*
	Colonies typiques	Colonies atypiques				

2/2